

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

POLIANA APARECIDA LOPES MACHADO

**CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM E APLICAÇÃO DE
NOVOS SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS MICELARES NO
ESTUDO DE PARTIÇÃO DE FLAVONOIDES**

Alfenas/MG

2020

POLIANA APARECIDA LOPES MACHADO

**CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM E APLICAÇÃO DE
NOVOS SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS MICELARES NO
ESTUDO DE PARTIÇÃO DE FLAVONOIDES**

Tese apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Alfenas como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química
Área de concentração: Físico-Química.
Orientador: Prof Dr Luciano Sindra Virtuoso
Coorientadora: Prof^a Dr^a Aparecida Barbosa
Mageste (UFOP)

Alfenas/MG

2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Machado, Poliana Aparecida Lopes.
M149c Caracterização, modelagem e aplicação de novos sistemas aquosos
bifásicos micelares no estudo de partição de flavonoides / Poliana
Aparecida Lopes Machado -- Alfenas/MG, 2020.
143 f. : il. --

Orientador: Luciano Sindra Virtuoso
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, 2020.
Bibliografia.

1. Tensoativos. 2. Fluxo de Trabalho. 3. Flavonoides. 4. Extração
Líquido-Líquido. I. Virtuoso, Luciano Sindra. II. Título.

CDD-541

**CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM E APLICAÇÃO DE NOVOS SISTEMAS AQUOSOS
BIFÁSICOS MICELARES NO ESTUDO DE PARTIÇÃO DE FLAVONOIDES**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química pela Universidade Federal de Alfnas. Área de concentração: Físico-Química.

Aprovada em: 23 de julho de 2020

Prof. Dr. Luciano Sindra Virtuoso
Instituição: Universidade Federal de Alfnas

Prof. Dr. Prof. Dr. Guilherme Dias Rodrigues
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Rodrigo Correa Basso
Instituição: Universidade Federal de Alfnas

Profa. Dra. Daniela Battaglia Hirata
Instituição: Universidade Federal de Alfnas

Prof. Dr. Guilherme Max Dias Ferreira
Instituição: Universidade Federal de Lavras



Documento assinado eletronicamente por **Luciano Sindra Virtuoso, Professor do Magistério Superior**, em 23/07/2020, às 18:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Corrêa Basso, Vice-Coordenador(a) de Graduação do Curso de Engenharia Química**, em 23/07/2020, às 18:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniela Battaglia Hirata, Professor do Magistério Superior**, em 23/07/2020, às 18:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Max Dias Ferreira, Usuário Externo**, em 27/07/2020, às 10:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, §

1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Dias Rodrigues, Usuário Externo**, em 27/07/2020, às 17:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0336159** e o código CRC **7D3869D0**.

Aos meus pais, Eva e Dedé, que muito contribuíram para o meu sucesso. Ao meu grande amor, Raphael, que caminhou comigo e me apoiou incondicionalmente nesta jornada.

“De tudo, sobraram três coisas...
A certeza de que estamos sempre começando
A certeza de que é preciso continuar
A certeza de que sempre seremos
interrompidos antes de terminar
Portanto devemos fazer
Da interrupção, um caminho novo
Da queda, um passo de dança
Do medo, uma escada
Do sonho, uma ponte
Da procura, um encontro.”

Fernando Sabino

“Temos de recordar que o que observamos
não é a natureza em si mesma, mas a natureza
exposta pelo nosso método de questionar.”

Werner Heisenberg

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer quando me senti fraca e me encorajar a prosseguir na busca pelos meus sonhos;

À Universidade Federal de Alfenas, instituição no qual tenho profundo carinho e respeito. Me sinto muito feliz em ter construído a base da minha vida profissional nesta universidade;

Ao Programa de Pós-graduação em Química, por me proporcionar a realização deste trabalho;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela bolsa de estudos e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro aos projetos;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001;

Ao meu orientador, Luciano Virtuoso, que acreditou no meu potencial, me deu forças, palavras de incentivo, e conselhos que foram cruciais para minhas decisões. E que não me mostrou impossibilidades, mas a possibilidade de aprender, mesmo diante às adversidades.

A professora Aparecida por me acolher com tanto carinho em Ouro Preto e por ter aberto as portas do Laboratório de Química Ambiental e Físico-Química para que eu realizasse parte do projeto de doutorado;

Ao Professor Nelson Lemes por todas as contribuições que fez ao trabalho;

Ao meu namorado Raphael, por acompanhar bem de pertinho cada passo meu ao longo destes 4 anos. Sua paciência, parceria, amor foram fundamentais para que eu chegasse até aqui com entusiasmo! Te amo!

Aos meus pais, que em suas orações jamais se esqueceram de mim, pelo amor incondicional, pela confiança, pelo apoio e principalmente, paciência. Amo vocês!

Aos meus irmãos Gustavo e João Pedro, por torcerem por mim e por me inspirarem sempre.

Aos demais familiares, em especial minha avó materna, “dona Zezé” que mesmo semi-analfabeta sempre me incentivou com palavras de sabedoria e a tia Pat que é aquela tia especial que sempre aparece nos momentos de aflição trazendo palavras de conforto e sabedoria! Destaco aqui também meus primos Tomás e Ana Cláudia, que além de compartilharmos o sangue também dividimos ao longo de toda a vida momentos muito especiais!

Aos colegas do grupo Química de Colóides por terem tornado os momentos de experimentos mais leves com suas conversas e contribuições, em especial aos que convivi no tempo em que

pertenci ao grupo: Cíntia, Marcello, Lucas, Pedro, Cris, Wagner, Sérgio, Ellen. Em especial ao Éderson e Ana Paula por suas contribuições em passagens do trabalho;

Aos colegas do grupo de pesquisa de Ouro Preto: Tayrine, Sílvia, Jussara, Herivelto, Beatriz, Tomás, Poliana Lima, Jéssica, Isabela, Alana, Wellington, Vitorino, Heyder e agregados Roseane, Maíra e Stefane, por terem tornado minha adaptação em Ouro Preto mais leve e meu conhecimento mais denso.

Às técnicas de laboratório e amigas Bernadette Meira e Carolina Nasser por permitir com presteza meu acesso aos laboratórios, equipamentos e reagentes facilitando meus experimentos.

Ao técnico de laboratório Gabriel por possibilitar o acesso ao equipamento de Ressonância Magnética Nuclear;

Ao Prof. Marcus por me auxiliar tanto nesta reta final na interpretação dos dados de interação; Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho se tornasse possível e prazeroso. Gratidão!

RESUMO

Os sistemas aquosos bifásicos micelares (SABMs) foram alvos de investigação neste trabalho evidenciando seu potencial em particionar moléculas com caráter altamente hidrofóbico. Desta forma foram levantados novos SABM formados por Triton X-100 + PEO (10000 ou 35000) nas temperaturas de 10,0, 25,0 e 40,0 °C. Observou-se que a fase superior é enriquecida em polímero enquanto a fase inferior é rica em surfactante. Avaliou-se o efeito da composição, massa molar do PEO e da temperatura sob a composição dos componentes de cada fase. A partir dos diagramas levantados observou-se um incremento da região bifásica com o aumento da temperatura, indicando que o processo de separação de fases é endotérmico. Além disso, houve incremento da região bifásica com o aumento da massa molar do PEO. Posteriormente, os dados de equilíbrio e as curvas binodais foram ajustadas as expressões lineares Othmer-Tobias, Bancroft, Hand e Setschenow e aplicados ao modelo de Flory-Huggins. Todos os modelos apresentaram uma correlação significativa entre os dados ao nível de significância de 5 % com coeficientes de correlação superiores a 0,90. O aspecto microscópico da interação polímero-surfactante foi estudado com as técnicas de Ponto Nuvem, DLS, e RMN de ¹H. A técnicas permitiram inferir como o polímero afeta a formação dos agregados em solução e por conseguinte foi proposto um modelo de interação PEO/Triton. Os resultados mostraram que os segmentos de PEO aumentam significativamente o tamanho dos agregados e afetam tanto as partes hidrofílicas quanto as partes hidrofóbicas das micelas. Na sequência os diagramas levantados, foram aplicados na partição dos flavonoides naringina, rutina e quercetina. No estudo de partição, avaliou-se o efeito do CLA, da massa molar do PEO e do surfactante sobre o processo de transferência dos flavonoides entre as fases do SABM. Todos os estudos indicaram coeficientes de partição inferiores a 1, evidenciando a migração dos flavonoides em direção a fase inferior rica em surfactante. Observou-se que para todos os valores de CLA que a eficiência de extração dos flavonoides foi superior a 84%, chegando em alguns casos a 99%. O aumento da massa molar do polímero favoreceu a migração dos três flavonoides para a fase inferior, sendo K_f (PEO 35000 > PEO 20000 > PEO 10000 > PEO 4000). Comparando os surfactantes Triton X-100 e Tween 80, o primeiro mostrou um maior potencial em particionar os flavonoides estudados com um aumento na porcentagem de extração que variaram de 10 a 15% com relação ao Tween 80 para composições de equilíbrio semelhantes.

Palavras-chave: Diagramas de fase. Sistemas aquosos bifásicos micelares. Equilíbrio líquido-líquido. Flavonoides. Partição. Interação. Polímero-surfactante

ABSTRACT

Aqueous two-phase micellar systems (ABMSs) were targets of investigation in this work, evidencing their potential in partitioning molecules with a highly hydrophobic character. In this sense, new ABMSs formed by Triton X-100 + PEO (10,000 or 35,000) were evaluated at temperatures of 10, 25 and 40 °C. It was observed that the top phase is enriched in polymer while the bottom phase is rich in surfactant. The effect of composition, molar mass of PEO and temperature on the composition of the components of each phase were evaluated. From the diagrams data, an increase in the biphasic region was observed with increasing temperature, indicating that the phase separation process is endothermic. In addition, there was an increase in the biphasic region with the increase in the molar mass of PEO. Subsequently, the balance data and the binodal curves were adjusted to the linear expressions Othmer-Tobias, Bancroft, Hand and Setschenow and applied to the Flory-Huggins model. All models showed a significant correlation between data at a 5% significance level with correlation coefficients greater than 0.90. The microscopic aspect of the polymer-surfactant interaction was studied with the Cloud Point, DLS, and ¹H NMR techniques. The techniques allowed to infer how the polymer affects the formation of aggregates in solution and therefore a PEO/Triton interaction model was proposed. The results showed that the PEO segments significantly increase the size of the aggregates and affect both the hydrophilic and hydrophobic parts of the micelles. The raised diagrams were applied to the partition of the naringin, rutin and quercetin flavonoids. In the partition study, the effect of ILA, molar mass of PEO and surfactant on the transfer process of flavonoids between the phases of ABMS was evaluated. All studies indicated partition coefficients below 1, showing the migration of flavonoids towards the surfactant-rich phase. It was observed that for all ILA values, the extraction efficiency of the flavonoids was higher than 84%, reaching in some cases 99%. The increase in the molar mass of the polymer favored the migration of the three flavonoids to the lower phase, being K_f (PEO 35,000 > PEO 20,000 > PEO 10,000 > PEO 4,000). Comparing the surfactants Triton X-100 and Tween 80, the first showed a greater potential in partitioning the studied flavonoids with an increased percentage of extraction that varied from 10 to 15% for similar equilibrium compositions.

Keywords: Phase diagrams. Aqueous two-phase micellar systems. Liquid-liquid equilibrium. Flavonoids. Partition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática bidimensional da rede de ligações de hidrogênio da água na fase líquida.....	27
Figura 2 -	Representação de classes de surfactante de acordo com a carga da parte hidrofílica (azul): (a) não-iônico, (b) aniônico, (c) catiônico, (d) zwitteriônico.....	29
Figura 3 -	Esquema representativo da forma como os monômeros se organizam à medida que a concentração do surfactante aumenta evidenciando o a formação de micelas acima da cmc.....	30
Figura 4 -	Representação geral de como as propriedades físicas de um surfactante são alteradas a partir da cmc.....	32
Figura 5 -	Fatores de empacotamento de estruturas mais comuns de micelas.....	33
Figura 6 -	Representação da distribuição das micelas do surfactante em SABMs.....	34
Figura 7 -	Representação geral da estrutura molecular do polietileno glicol.....	37
Figura 8 -	Modelo do retículo para uma mistura binária com componentes de baixa massa molar.....	38
Figura 9 -	Representação de uma rede, segundo o modelo de Flory, onde cada sítio está ocupado ou por uma molécula do solvente (círculo vazio) ou por um segmento da molécula do polímero (círculo cheio) de tamanho idêntico a molécula do solvente.....	39
Figura 10 -	Variação entrópica provocada pela adição de duas moléculas de um dado polímero com x segmentos consecutivos à uma rede contendo N sítios segundo o modelo de Flory-Huggins.....	40
Figura 11 -	Modelo de rede de Flory para a formação de uma solução binária a partir dos respectivos componentes líquidos puros.....	43
Figura 12 -	Representação esquemática do modelo configuracional de rede de Flory-Huggins estendido para misturas ternárias envolvendo surfactante (1) + polímero (2) + solvente (3).....	45
Figura 13 -	Representação de um diagrama de fases em coordenadas (a) triangular e (b) retangular.....	47
Figura 14 -	Representação bidimensional da estrutura dos agregados PEO-SDS proposta por Cabane.....	60

Figura 15 - Modelo de complexo surfactante/polímero proposto por Patel (PATEL et al., 2015).....	61
Figura 16 - Representação da estrutura geral dos flavonoides.....	62
Figura 17 - Representação das classes de flavonoides.....	63
Figura 18 - Representação da estrutura molecular dos flavonoides.....	64
Figura 19 - Sequências de estruturas químicas de espécies quinonas para a quercetina de acordo com o meio e pH.....	65
Figura 20 - Curvas binodais (círculos vazios) e dados de equilíbrio (círculos cheios) para misturas de Triton X-100 + água com: (a) PEO 10000 g.mol ⁻¹ e (b) PEO 35000 g.mol ⁻¹ nas temperaturas de (○) 10, (◐) 25 e (◑) 40 °C, respectivamente.....	91
Figura 21 - Efeito da massa molar do PEO nos diagramas formados por SABMs formados por PEO + Triton X-100 + água. (a) PEO 10000 ou 35000 g.mol ⁻¹ (●) 10 °C, (●) 25 °C e (●) 40 °C (trabalho atual) (b) PEOs com diferentes massas molares a 25 °C: 4.000 (■) (LIU et al., 2016), PEO 8000 (□) (LIU et al., 2016) PEO 10000 (●) (trabalho atual), PEO 20000 (▲) (LIU et al., 2016), PEO 35000 (○)(trabalho atual).....	93
Figura 22 - Dados experimentais (---) e calculados pelo modelo de Flory-Huggins para SABM formados por: (a) PEO 10000 g.mol ⁻¹ , (b) PEO 20000 g mol ⁻¹ e (c) PEO 35000 g mol ⁻¹ ; em diferentes temperaturas. Símbolos circulares ocios, símbolos circulares sólidos e símbolos de triângulo vermelho indicam, respectivamente, as linhas de amarração experimentais, calculadas como moléculas únicas de Triton X-100 e linhas de amarração calculadas como micelas de Triton X-100.....	99
Figura 23 - Temperatura de ponto nuvem do Triton X-100 para (a) Diferentes concentrações de PEO 35000 g mol ⁻¹ , onde (●)Triton X-100 (●)Triton X-100 + PEO 1 % (●)Triton X-100 + PEO 3%, (●)Triton X-100 + PEO 5%, (b) diferentes massas molares de PEO.....	100
Figura 24 - Raio hidrodinâmico para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 (barra vermelha) ou 35000 g mol ⁻¹ (barra azul).....	102
Figura 25 - Raios hidrodinâmicos para misturas formadas pela mistura de PEO 10000 e 35000 g mol ⁻¹ e Triton X-100, sendo (●) PEO 10000 e (●) PEO 35000 g mol ⁻¹	103

Figura 26 -	Espectros de ^1H RMN de soluções aquosas de Triton X-100 em diferentes concentrações adquiridos a 24 °C. As concentrações de Triton X-100 são mostradas e as magnificações de cada espectro em parêntesis.	105
Figura 27 -	Espectros de ^1H RMN ampliados de soluções aquosas de Triton X-100 em diferentes concentrações adquiridos a 24 °C. As concentrações de Triton X-100 são mostradas e as magnificações de cada espectro em parêntesis.....	107
Figura 28 -	Deslocamentos químicos em função da concentração de Triton X-100 para os prótons 1 , 2 e 3	108
Figura 29 -	Dependência dos deslocamentos químicos em função da concentração de Triton X-100 para os prótons 4 e 5	110
Figura 30 -	Espectros ^1H RMN para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 + água.....	111
Figura 31 -	Espectros ^1H RMN para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 + água.....	112
Figura 32 -	Espectros ^1H RMN para misturas formadas por Triton + PEO 35000 + água.....	113
Figura 33 -	Variação dos deslocamentos químicos de prótons de moléculas de Triton X-100 e PEO 10000 ou 35000 em diferentes concentrações.....	115
Figura 34 -	Modelo de interação PEO/Triton X-100 a partir dos dados obtidos no presente trabalho.....	117
Figura 35 -	Espectros de absorção dos flavonoides nas fases inferior e superior do SABM em estudo.....	118
Figura 36 -	Efeito do CLA na partição de flavonoides em SABM formados por: (a) PEO 4000 g mol ⁻¹ + Triton X-100 + H ₂ O, (b) PEO 10000 g mol ⁻¹ + Triton X-100 + H ₂ O, (c) PEO 20000 g mol ⁻¹ + Triton X-100 + H ₂ O, (d) PEO 35000 g mol ⁻¹ + Triton X-100 + H ₂ O.....	120
Figura 37 -	$\Delta_{tr} G^0$ em função do CLA para as três temperaturas estudadas em diferentes massas molares de PEO.....	121
Figura 38 -	Efeito da massa molar no comportamento de partição, a 25° C, nos flavonoides (a) Rutina, (b) Quercetina e (c) Naringina.....	123
Figura 39 -	Efeito do surfactante no comportamento de partição dos flavonoides naringina e quercetina à 25 °C.....	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Propriedades físicas do polietilenoglicol em função da massa molar.....	37
Tabela 2 -	Representação dos termos entálpicos e entrópicos previstos em uma mistura segundo o modelo de Flory-Huggins.....	46
Tabela 3 -	Combinações de classes de substâncias químicas que levam à formação de SAB.....	54
Tabela 4 -	Reagentes utilizados neste trabalho e suas características.....	74
Tabela 5 -	Propriedades físicas dos componentes.....	81
Tabela 6 -	Concentrações de Triton X-100 e PEO nas misturas aquosas avaliadas por DLS.....	82
Tabela 7 -	Dados de equilíbrio líquido-líquido utilizados no estudo de partição dos flavonoides (em porcentagem de fração mássica) para o sistema Triton X-100 (w1) + PEO (w2) + água (w3) na temperatura de 25,0 °C.....	83
Tabela 8 -	Dados de equilíbrio para o Sistema formado por PEO 10000 g.mol ⁻¹ (1) + Triton X-100(2) + Água (3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).....	86
Tabela 9 -	Dados de equilíbrio para o sistema formado por PEO 35000 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-100 (2) + Água (3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).....	87
Tabela 10 -	Dados de titulação turbidimétrica para o sistema formado por PEO 10000 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-100 (2) + Água (3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).....	88
Tabela 11 -	Dados de titulação turbidimétrica para o sistema formado por PEO 35000 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-100 (2) + Água (3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).....	89
Tabela 12 -	Valores dos parâmetros das Equações 49a-e.....	95
Tabela 13 -	Valores dos parâmetros obtidos pelas equações Othmer-Tobias (51a), Bancroft (51b), Hand (51c) e Setschenow (51d) para os SABMs formados por PEO 10000 g mol ⁻¹ e 35000 g.mol ⁻¹	96
Tabela 14 -	Parâmetros de Flory-Huggins para os sistemas formados por PEO	

	10000 ou 20000 (LIU; WU; ZHAO, 2015) ou 35000 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-100 (2) (monômero ou micela) + água (3).....	97
Tabela 15 -	Raios hidrodinâmicos para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 ou 35000 g mol ⁻¹ + água.....	102
Tabela 16 -	Variações dos valores de ¹ H para as soluções aquosas de Triton X-100 na ausência de PEO.....	108
Tabela 17 -	Deslocamentos químicos de prótons de moléculas de Triton X-100 e PEO 10.000 ou 35.000 em diferentes concentrações.....	114

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)
CLA	Comprimento da linha de amarração
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
Cac	Concentração de agregação micelar
Cmc	Concentração micelar crítica
C ₂	Concentração de saturação
CTAB	<i>Cetiltrimethylammonium Bromide</i> (Brometo de Cetil Trimetil Amônio)
DLS	Dynamic Light Scattering (Espalhamento Dinâmico de Luz)
EO	Oxietileno
ILA	Inclinação da linha de amarração
LA	Linha de amarração
LAS	Alquilbenzeno Linear Sulfonado
FI	Fase inferior
FS	Fase superior
Hz	Hertz
N	Índice de refração
NRTL	Non-random two-liquid model
μ	Potencial Químico
OH	Hidroxila
PEO	Polioxietilenoglicol
PES	Polietersulfona
pH	Potencial Hidrogeniônico

PN	Ponto nuvem
Ppm	Partes por milhão
K_f	Coefficiente de distribuição de flavonoides
SABs	Sistemas Aquosos Bifásicos
SABMs	Sistemas Aquosos Bifásicos Micelares
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate (Dodecil sulfato de sódio)
$\Delta_{mis}G$	Varição da Energia livre de Gibbs de mistura
G_{sol}	Energia livre de Gibbs da solução
G_{PEG}^*	Energia livre de Gibbs do PEG
G_{Triton}^*	Energia livre de Gibbs do Triton X-100
$\Delta_{mis}H$	Varição da Entalpia de mistura
$\Delta_{mis}S$	Varição da Entropia de mistura
TMS	Tetrametilsilano
w_i^α	Fração mássica do componente i (i = Triton X-100, PEG ou água) na fase α onde $\alpha = I$ (inferior) ou S (superior)
$100w_i^\alpha$	Fração mássica percentual do componente i (i = Triton X-100, PEG ou água) na fase α onde $\alpha = I$ (inferior) ou S (superior)
R_h	Raio hidrodinâmico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TMS	Tetrametilsilano
UNIFAC	Universal Functional Activity Coefficient
UNIQUAC	Universal Quase Chemical
UV-VIS	Ultravioleta e visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E ESTADO DA ARTE.....	25
2.1	ÁGUA COMO UM SOLVENTE ALTAMENTE ESTRUTURADO.....	25
2.2	SURFACTANTES.....	28
2.3	POLIETILENOGLICOL.....	36
2.4	DIAGRAMAS DE EQUILÍBRIO DE FASES.....	46
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	53
3.1	SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS (SABs).....	53
3.2	SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS MICELARES (SABMs).....	57
3.3	FLAVONOIDES.....	62
3.4	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE FLAVONOIDES.....	67
4	OBJETIVOS.....	72
4.1	OBJETIVO GERAL.....	72
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	72
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	74
5.1	PRIMEIRA PARTE - LEVANTAMENTO DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO- LÍQUIDO E MODELAGEM.....	74
5.1.1	Materiais.....	74
5.1.2	Obtenção da curva binodal.....	74
5.1.3	Estudo do equilíbrio líquido-líquido.....	75
5.1.4	Construção dos diagramas de fase.....	76
5.1.5	Tratamento Teórico Dos Dados.....	77
5.1.5.1	<i>Correlação das curvas binodais.....</i>	77
5.1.5.2	<i>Correlação de dados das linhas de amarração (LAs).....</i>	77
5.1.5.3	<i>Modelagem.....</i>	78
5.2	SEGUNDA PARTE - ESTUDO DA INTERAÇÃO TRITON X-100/ POLIETILENOGLICOL.....	81
5.2.1	Determinação da temperatura de ponto nuvem.....	81
5.2.2	Espalhamento dinâmico de Luz DLS).....	81
5.2.3	Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	82
5.3	TERCEIRA PARTE - ESTUDO DE PARTIÇÃO DE FLAVONOIDES EM	83

	SABM.....	
5.3.1	Preparo dos SABM estoque para a partição de flavonoides.....	82
5.3.2	Estudo de partição.....	83
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
6.1	PRIMEIRA PARTE - LEVANTAMENTO DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO E MODELAGEM.....	85
6.1.1	Dados de Composição do equilíbrio líquido-líquido.....	85
6.1.2	Efeito da temperatura e da composição.....	90
6.1.3	Efeito da massa molar do polímero.....	92
6.1.4	Correlação das curvas binodais.....	94
6.1.5	Correlação das linhas de amarração.....	95
6.1.6	Modelo Flory-Huggins.....	96
6.2	SEGUNDA PARTE - ESTUDO DE INTERAÇÃO PEO/TRITON.....	100
6.2.1	Efeito da adição de PEO na temperatura de ponto nuvem do Triton X-100.....	100
6.2.2	Espalhamento dinâmico de luz (DLS).....	101
6.2.3	Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	104
<i>6.2.3.1</i>	<i>Efeito da agregação de Triton X-100 sobre os ambientes químicos e magnéticos dos prótons.....</i>	<i>104</i>
<i>6.2.3.2</i>	<i>Efeito da presença de PEO sobre os agregados micelares de Triton X-100...</i>	<i>109</i>
6.3	TERCEIRA PARTE – ESTUDO DE PARTIÇÃO DE FLAVONOIDES EM SABMs.....	116
6.3.1	Influência da concentração do flavonoide no coeficiente de partição.....	116
6.3.2	Efeito da composição das fases no comportamento de partição.....	117
6.3.3	Efeito da massa molar do polímero.....	120
6.3.4	Influência do surfactante no coeficiente de partição dos flavonoides.....	123
7	CONCLUSÃO.....	125
	REFERÊNCIAS.....	127
	APÊNDICE.....	141

1 INTRODUÇÃO

Atualmente é recorrente o uso de processos de extração, purificação e pré-concentração de materiais em fase líquida tanto em escala laboratorial quanto industrial para os mais diversos fins. Embora processos de separação sejam amplamente explorados há algumas décadas ainda existe a necessidade de implementação de tecnologias de separação mais limpas, com minimização da poluição química. Essa conscientização científica tem crescido desde o surgimento do ramo da Química chamado Química Verde, introduzida nos Estados Unidos na década de 1980, que estabelece um conjunto de princípios que reduzem ou eliminam o uso ou a geração de substâncias perigosas de um processo além de ressaltar a importância em prezar por tecnologias mais sustentáveis (LI; TROST, 2008).

Na perspectiva de minimizar problemas relacionados ao uso de solventes tóxicos e inflamáveis em processos de separação, pesquisadores têm se dedicado ao estudo de solventes alternativos que possam substituir os solventes orgânicos convencionais, visto que inúmeros acidentes ambientais e à saúde humana já foram relatados devido à toxicidade e periculosidade desses solventes (ZHANG et al., 2018). Uma alternativa que tem sido amplamente referenciada como um processo de separação que atende a perspectiva da Química Verde são os Sistemas Aquosos Bifásicos (SABs), os quais são empregados com êxito na extração, purificação e pré-concentração de uma grande variedade de analitos. SABs são misturas ternárias em que um dos componentes obrigatoriamente é a água e sob determinadas condições de controle, como temperatura, pressão e composição, ocorre separação de fases (HOSTETTMANN, 1987).

Embora seja relativamente simples preparar um SAB por envolver poucas operações unitárias, as condições de controle do processo de separação englobam muitas variáveis correlacionadas e por isso é imprescindível o conhecimento sobre o comportamento de equilíbrio de fases para que se possa planejar sua utilização. Além disso, a explicação sobre o porquê estes sistemas se formam ainda não está completamente esclarecida e por isso a modelagem dos diagramas de fase é a estratégia que permite a extrapolação dos dados para outras regiões não investigadas experimentalmente. Outro aspecto que dificulta a compreensão dos fatores que governam a formação e aplicação dos SAB é a necessidade de uma melhor compreensão dos processos envolvidos em sua formação e utilização em termos de uma abordagem termodinâmica (macroscópica) e ainda, sob o ponto de vista molecular, buscando entender as interações moleculares envolvidas. No processo de separação de fases há um complexo equilíbrio líquido-líquido que envolve aspectos relacionados aos efeitos entrópicos e

entálpicos de hidratação dos diferentes componentes formadores do sistema sob determinadas condições de controle.

Particularmente os SABs contendo surfactantes como um dos seus componentes formadores, denominados sistemas aquosos bifásicos micelares (SABMs), são o alvo do presente trabalho. O primeiro SABM foi relatado em por Bordier (1981) que usou o agente tensoativo Triton X-114 para separar uma mistura de proteínas, e desde então pesquisadores tem centrado esforços para compreender o comportamento dessas misturas. Surfactantes em geral apresentam reduzida toxicidade no sentido de provocar reações alérgicas, o que os torna mais seguros para serem utilizados em cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos, não inflamáveis, bastante estáveis sobre larga faixa de temperatura, capazes de solubilizar diferentes compostos (orgânicos e inorgânicos; pequenas moléculas e macromoléculas), podem ser facilmente reciclados. Vale ressaltar que não são todos os surfactantes que se enquadram na categoria de baixa toxicidade. Existem relatos na literatura que se referem a estes compostos como poluentes ambientais (HAIGH, 1996). Surfactantes apresentam a característica de formar micelas em solução, possibilitando a formação de ambientes hidrofóbicos e hidrofílicos, fator que abre espaço para a extração de compostos pouco explorados por SAB tradicionais: compostos hidrofóbicos (GONZÁLEZ DE LA VARA; ALFARO, 2009).

Neste contexto, na perspectiva de utilizar SABM para estudar a partição de compostos com elevado interesse comercial, sendo importante insumo para o desenvolvimento de diversos produtos farmacêuticos, cosméticos e com grande potencial de movimentação do mercado mundial, torna-se atraente o uso destes sistemas para estudar a partição de flavonoides, moléculas pequenas com auto caráter hidrofóbico. Os flavonoides são compostos fenólicos de baixo peso molecular extensivamente encontrados em diversas espécies vegetais. Estão presentes em uma variedade altamente diversificada de plantas, desde as raízes até as flores e frutos, localizados especificamente nos vacúolos das células. Esta importante classe de compostos apresenta um largo espectro de atividades bioquímicas, biotecnológicas e farmacológicas, caracterizando-os como bioativos. Destaca-se seus efeitos antioxidantes, vasodilatadores, anti-inflamatórios, anti-alérgicos, antivirais, estimulantes do sistema imunológico, antitumorais, dentre outros (SOUZA et al., 2018). Tais propriedades têm sido exploradas em diversas pesquisas envolvendo principalmente as áreas farmacêuticas, alimentícias e cosméticas (LIU et al., 2018; MILANI et al., 2018; MOON et al., 2018). Em pesquisa realizada no site spacenet, plataforma que armazena patentes de mais de 90 países, utilizando o termo “flavonoid” no dia 19/05/20, encontrou-se 6.479 patentes depositadas

relacionadas a essa classe de substâncias, fator que ressalta a relevância do tema no campo de invenções e criações com aplicação industrial.

O grande potencial de aplicação desses compostos e sua grande procura no setor industrial gera o desafio de descobrir e otimizar novos métodos de extração, purificação e pré-concentração de flavonoides a partir de suas fontes naturais. Os métodos mais utilizados na literatura para este fim são os tradicionais sistemas de extração líquido-líquido formados por solventes orgânicos (como etanol e metanol), e os métodos não convencionais, como a extração em fluido supercrítico, extração com líquido pressurizado, extração por microondas, microextração em fase sólida, extração por ultrassom e, como forma de purificação da biomolécula, a utilização de técnicas cromatográficas.

Apesar de haver na literatura muitos trabalhos de SABM aplicados em estudos de partição, ainda são limitados os modelos que descrevem o comportamento de fase destes sistemas e como se dá a interação entre os componentes das fases e o composto particionado. Ainda há lacunas no entendimento dos aspectos interacionais de micelas em meio aquoso, fator que dita o equilíbrio líquido-líquido em SABM e, conseqüentemente, o comportamento de fases. Muitos são os fatores que dificultam esta questão, tais como, a complexidade das propriedades anômalas que a água, principal constituinte em SABs, pode apresentar, e também a complexidade que as misturas contendo micelas podem apresentar. Nesse sentido, algumas perguntas que se encontram em aberto neste campo de pesquisa são: “Como micelas afetam a estrutura do solvente?” “Como a ação local na estrutura do solvente pode levar ao fenômeno de separação de fase?” “Como o comportamento macroscópico observado experimentalmente correlaciona-se com os arranjos nos microestados desses sistemas?” “Como as micelas afetam o processo de partição?” “Como ocorre a interação entre micelas, polímero e flavonoides no equilíbrio de fases?”

Esta tese abrange os estudos de SABMs em três vertentes: estudo macroscópico (estudo do equilíbrio de fases envolvidos nos SABM formados por Triton X-100 + PEO 10000 ou 35000 g mol⁻¹ + água em diferentes condições de controle de temperatura e composição sob pressão fixa e modelagem), estudo microscópico (estudo da interação PEO-Triton X-100) e aplicação (estudo de partição de flavonoides). Este texto está dividido em seções que se inicia pela presente introdução, seguida de uma seção onde é abordada a fundamentação teórica, que introduz conceitos fundamentais dos solventes utilizados no presente trabalho considerando os aspectos moleculares e macroscópicos (termodinâmico) que os envolvem. Na sequência será apresentada uma ampla revisão bibliográfica sobre Sistemas Aquosos Bifásicos com destaque

para os SABMs e sua aplicação no estudo de partição de biomoléculas com alto caráter hidrofóbico. O destaque será para os flavonoides, moléculas pequenas e hidrofóbicas com alto potencial de extração em SABMs. A partir do estudo do macro (estudo do equilíbrio líquido-líquido e de partição nos SABMs estudados) e microestado (estudos interacionais) realizado no presente trabalho busca-se responder as questões levantadas sobre a formação dos sistemas estudados neste trabalho no âmbito macroscópico e microscópico. Na sequência serão apresentados os objetivos e metodologias relacionados ao trabalho experimental desenvolvido até o momento são apresentados. Finalmente os resultados e discussões são detalhadamente explorados.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E ESTADO DA ARTE

Nesta seção importantes aspectos fundamentais sobre os componentes formadores dos SABM investigados no presente trabalho são abordadas numa perspectiva de ressaltar suas características e complexidades enquanto componentes puros e, na sequência, do comportamento que apresentam em misturas. O enfoque central desta fundamentação teórica está voltado para as propriedades e fenômenos envolvidos na fase aquosa líquida. Serão abordados aspectos sobre solvatação de polímeros e surfactantes em meio aquoso sobre o ponto de vista molecular (microscópico) e termodinâmico (macroscópico). Todos os conceitos apresentados aqui já estão bem estabelecidos na literatura e são intrínsecos à melhor compreensão e interpretação do trabalho aqui exposto.

2.1 ÁGUA COMO UM SOLVENTE ALTAMENTE ESTRUTURADO

A água está, seguramente, dentre as substâncias mais importantes do planeta sendo determinante na garantia de incontáveis processos vitais tanto nas plantas como em animais, desde o nível microscópico até o macroscópico. Por exemplo, nas biomoléculas a água tem um papel fundamental para execução de suas funções biológicas, condicionando os aspectos de estrutura e funcionamento das células às propriedades físicas e químicas da água. Apesar do seu protagonismo nos mais variados processos, a investigação científica sobre o papel da água ainda é pouco explorada. Essa compreensão se faz necessária uma vez que poderá propiciar melhor controle sobre processos conduzidos em meio aquoso e o desenvolvimento de modelos cada vez mais reprodutíveis que permitam o entendimento de fenômenos em micro e macro escala envolvendo a água. Ela também importa no escopo do presente trabalho, pois, o principal componente dos chamados sistemas aquosos bifásicos (SABs) é a água.

Nos estados líquido e gasoso a água apresenta apenas uma fase, de acordo com a representação atual, porém existem evidências teóricas e experimentais de que o estado líquido da água possa comportar mais de uma fase (SANZ et al., 2004). A descrição teórica do estado líquido é deficiente de modelos de referência, diferente do estado gasoso que tem como referência o gás ideal e do estado sólido que tem como referência o sólido perfeito. Contudo a compreensão do comportamento físico-químico da água é fundamental no embasamento teórico do presente trabalho, neste sentido se faz necessário compreender que suas

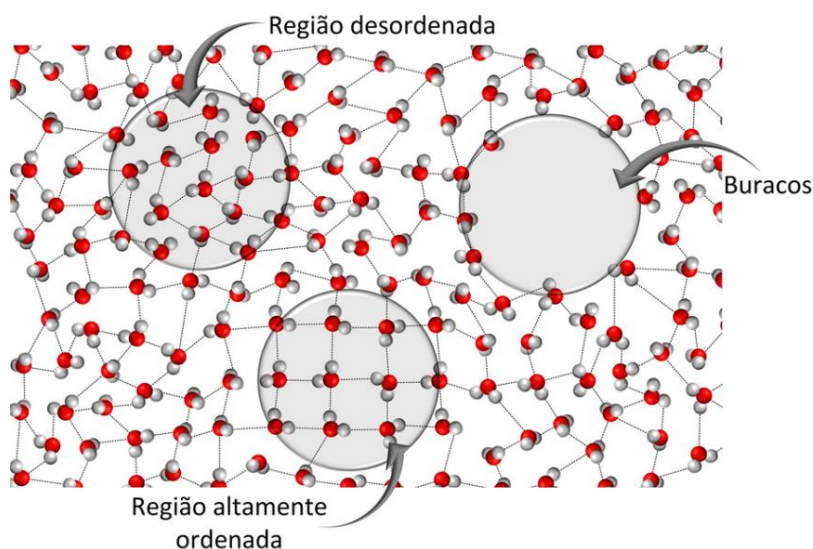
características vão além das propriedades moleculares individuais, sendo necessária a compreensão das interações que essas moléculas de água fazem entre si propagadas ao longo de toda a extensão do seu volume.

Entre moléculas de água ocorrem interações dipolo-dipolo de natureza eletrostática denominadas ligações de hidrogênio (ARCHERS; WANG, 1990). Segundo a IUPAC a ligação de hidrogênio é definida como uma interação atrativa entre um átomo de hidrogênio de uma molécula ou um fragmento molecular X-H no qual X é mais eletronegativo que H e um átomo ou um grupo de átomos na mesma molécula ou em uma molécula diferente, na qual existe evidência de formação da ligação (ARUNAN et al., 2011). O conjunto dessas interações forma uma extensa rede que determina o comportamento macroscópico da água. Uma importante característica que merece destaque entre as ligações de hidrogênio na água líquida é que elas tendem a ser cooperativas e cada molécula de água pode ligar, em geral, com até outras quatro moléculas próximas, levando a um acoplamento intermolecular extenso e um movimento cooperativo de mais longo alcance quando comparado a outros líquidos (VIJAYA PANDIYAN; KOLANDAIVEL; DEEPA, 2014).

A literatura descreve vários trabalhos empíricos sobre restrições geométricas entre as moléculas de água no estado líquido nos quais sugerem que este comportamento ocorre devido a aproximação de uma quinta molécula de água na primeira camada de coordenação no qual um hidrogênio pode ser disputado por dois átomos de oxigênio em moléculas diferentes (ERRINGTON; DEBENEDETTI, 2001; SCIORTINO; GEIGER; STANLEY, 1991). Esses autores concluem que estas restrições estão associadas a defeitos na distribuição das moléculas de água e desempenham um papel central na mobilidade molecular do estado líquido, diminuindo a barreira de energia de Gibbs à difusão por fornecerem caminhos de menor energia entre diferentes arranjos locais tetraédricos. Tais autores sugerem que a mobilidade anômala da água sob compressão e a diminuição da mobilidade em camadas de hidratação hidrofóbicas podem ser interpretadas seguindo o mesmo raciocínio. Sciortino, Geiger e Stanley (1991), por exemplo, realizaram simulações de dinâmica molecular para explorar melhor esta mobilidade molecular da água líquida na rede altamente conectada de ligações de hidrogênio desta substância, fator que ocasiona uma conectividade bem acima do limiar de percolação ao sistema.

A Figura 1 é uma representação bidimensional sobre a visão atual da estrutura da água com destaque para alguns possíveis defeitos na estrutura que afetam as propriedades dinâmicas das moléculas na rede, por exemplo, a difusividade.

Figura 1 - Representação esquemática bidimensional da rede de ligações de hidrogênio da água na fase líquida.



Fonte: Do autor.

Diante do que foi exposto acima prevalece uma questão: com tantas técnicas que permitem desvendar estruturas do mais variados compostos porque ainda se tem dificuldade em conhecer com precisão a estrutura da água, uma substância tão comum a muitos tipos de processos? De fato a água em seu estado líquido ainda carece de um modelo que permita avaliar com coerência sua estrutura local. Esta dificuldade reside no fato de que o tempo de correlação difusional, isto é, o tempo entre as alterações na posição da molécula de água, é de cerca de 10^{-5} s no gelo e de aproximadamente 10^{-11} s na água líquida pura (LIBARDI, 1995). Assim, conclui-se que é mais fácil avaliar a estrutura do gelo pelos métodos de exploração de estruturas, como as técnicas de espalhamento de raios X e de nêutrons, do que avaliar a estrutura da água líquida. As técnicas experimentais usadas para estudar água líquida assim como soluções aquosas medem as propriedades médias de todas as moléculas de um determinado tipo no sistema. Assim, a interpretação dos resultados geralmente depende do modelo conceitual específico da água estruturada usada pelo experimentador, ressaltando que muitos modelos diferentes são usados na literatura para interpretar as observações experimentais em sistemas aquosos (BERNAL et al., 2015; SRIVASTAVA; MALIK; DEBNATH, 2019; SUJA-THAUVIN et al., 2020).

Particularmente, a água é capaz de solubilizar um número enorme de substâncias e os processos de solvatação estão intimamente relacionados à forma como diferentes substâncias afetam a estrutura da água, em outras palavras, devido a fortes interações que as moléculas de

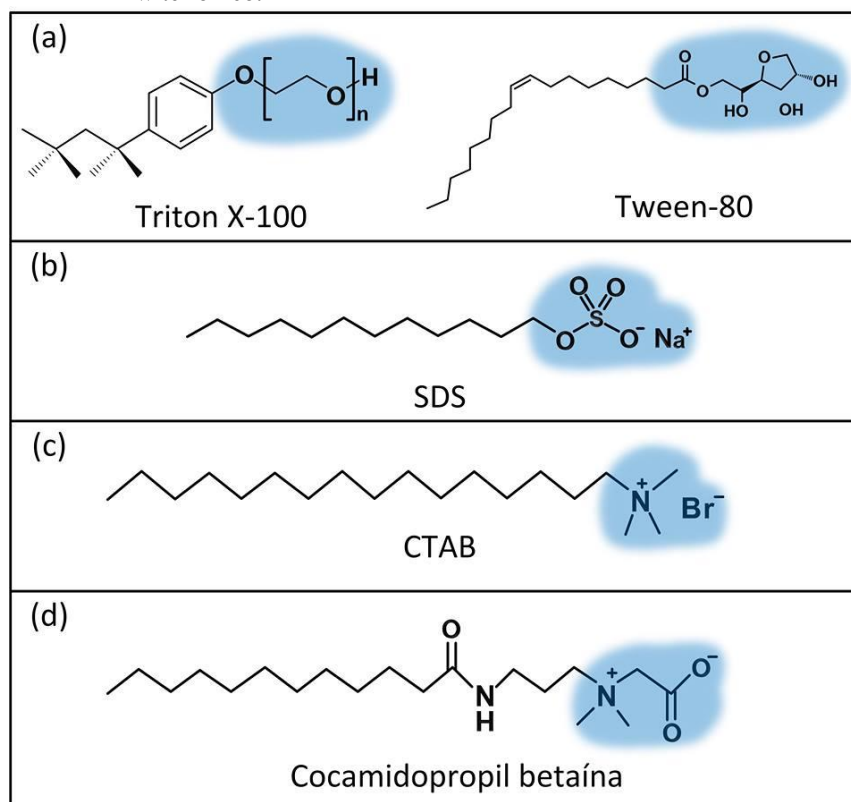
água fazem com substâncias consideradas hidrofílicas. Devido a esta característica a água é amplamente referenciada como solvente universal. O balanço hidrofílico/hidrofóbico nesses processos tem inúmeras implicações científicas e tecnológicas que por séculos tem atraído a atenção de pesquisadores. Sobre o ponto de vista termodinâmico é ainda um enorme desafio compreender como agem as forças motrizes no microestado desses sistemas, no processo de solvatação, influenciando as interações e arranjos moleculares e ainda, como esses efeitos se propagam ao longo de todo o macroestado e se revelam através do comportamento de fase dessas misturas.

Notoriamente, as propriedades da água fazem dela um solvente ideal para o meio biológico. Por exemplo, sua capacidade de ionizar permite a troca de prótons com diferentes moléculas biológicas e ditam uma série importante de formas de interação e mecanismos de processos. As propriedades únicas de hidratação da água no ambiente celular determinam o estado de mínima energia para as estruturas tridimensionais de importantes macromoléculas biológicas. Isto justifica também o enorme interesse em estudar e desenvolver metodologias de separação baseadas em SABs para extração, purificação e/ou pré-concentração de biomateriais susceptíveis à sofrerem perda de atividade em decorrência de uma drástica mudança de meio. A elevada presença de água nas fases dos SABs mimetiza o ambiente celular no qual diversas estruturas biológicas são estáveis.

2.2 SURFACTANTES

Os compostos com ação de superfície, também denominados surfactantes ou tensoativos, são assim chamados por apresentarem forte influência na tensão superficial de solventes estruturados, como a água (BEHRING et al., 2004). Esses compostos apresentam moléculas com duas regiões distintas, uma com muita afinidade pelo solvente, denominada liofílica e outra com baixa afinidade pelo solvente, denominada liofóbica (AKBAŞ; BOZ; BATIGÖÇ, 2010; WANG et al., 2008). A maior parte dos trabalhos relatados na literatura estudam o comportamento de surfactantes em sistemas aquosos, onde é comum o uso dos termos hidrofóbico e hidrofílico. A porção hidrofóbica, também denominada de cauda, é constituída por cadeias carbônicas, ou fluorocarbônicas, ou siloxânicas. Enquanto a porção hidrofílica, ou cabeça, pode apresentar grupos iônicos (cátions ou ânions), não iônicos ou anfóteros, conforme a classificação representada na Figura 2 (DALVIN, 2011).

Figura 2 - Representação de classes de surfactante de acordo com a carga da parte hidrofílica (azul): (a) não-iônico, (b) aniônico, (c) catiônico, (d) zwitteriônico.



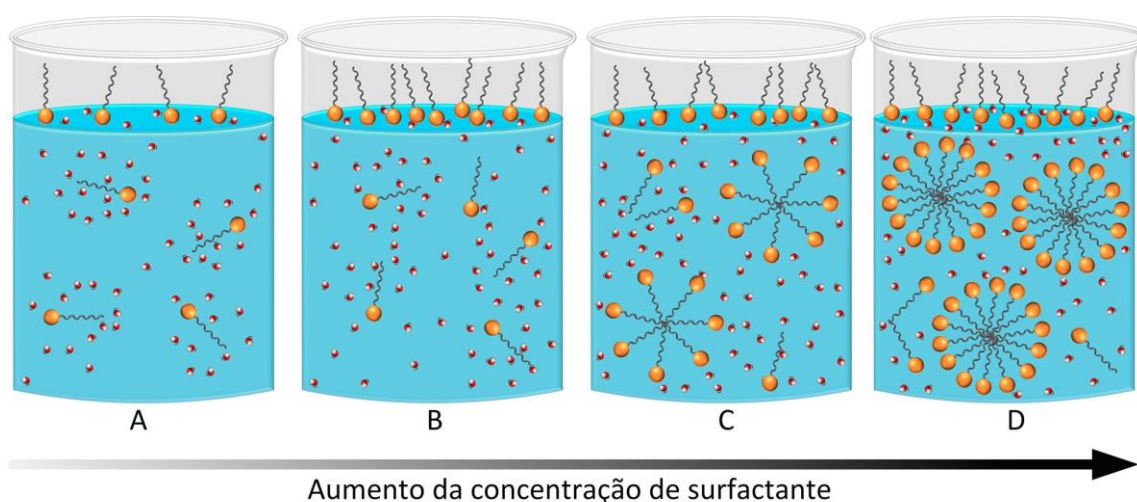
Fonte: do autor.

O fato de os surfactantes possuírem duas regiões distintas faz com que estas se comportem de maneiras diferentes em contato um solvente em termos de afinidade. Em meio aquoso a cabeça hidrofílica tende a maximizar o contato com o solvente, enquanto a cauda hidrofóbica se configura no sentido de minimizar este contato.

Em soluções com concentrações muito baixas de surfactante há predominância de monômeros, como são denominadas cada uma das espécies formadas por uma região hidrofóbica e uma região hidrofílica, no qual transferem-se espontaneamente para a interface líquido-ar enquanto outra fração permanece em solução. Na interface (solução-ar) os monômeros se orientam de forma que sua região hidrofóbica fique voltada para a fase gasosa (ar) enquanto sua região hidrofílica permanece imersa na fase aquosa. Ao elevar a concentração de surfactante até um valor específico, denominado concentração micelar crítica (cmc), ocorre a saturação energética da interface líquido-gás, tornando-se favorável a associação dos monômeros em solução para formar agregados, mais conhecidos como micelas. Acima da cmc o aumento na concentração de surfactante promove a incorporação de novos monômeros às micelas já formadas (TADROS, 2006). Esse processo é representado na Figura 3, no qual

permite de uma forma visual diferenciar a estruturação dos monômeros em regiões abaixo, Figura 3 (a-b), e acima da cmc, Figura 3 (c-d). É importante ressaltar que em sistemas micelares há um equilíbrio dinâmico entre o agregado e moléculas livres de surfactante em solução, indicando que a micela não é uma estrutura estática. A saída de um monômero que compõe uma micela ocorre na escala de tempo de milionésimo de segundos e sua recaptura ocorre a velocidades similares àquelas provindas de processos controlados por difusão (MUNDAY, 2000).

Figura 3 - Esquema representativo da forma como os monômeros se organizam à medida que a concentração do surfactante aumenta evidenciando o a formação de micelas acima da cmc.



Fonte: Do autor.

Nos estudos iniciais sobre este fenômeno, acreditava-se que a formação de micelas em sistemas de surfactantes ocorria devido à forte atração entre as caudas dos monômeros. Atualmente sabe-se que moléculas de baixa polaridade, como as caudas dos surfactantes, são incapazes de competir com a forte interação das moléculas de água com elas mesmas, as quais interagem entre si por meio de ligações de hidrogênio (WANG et al., 2008).

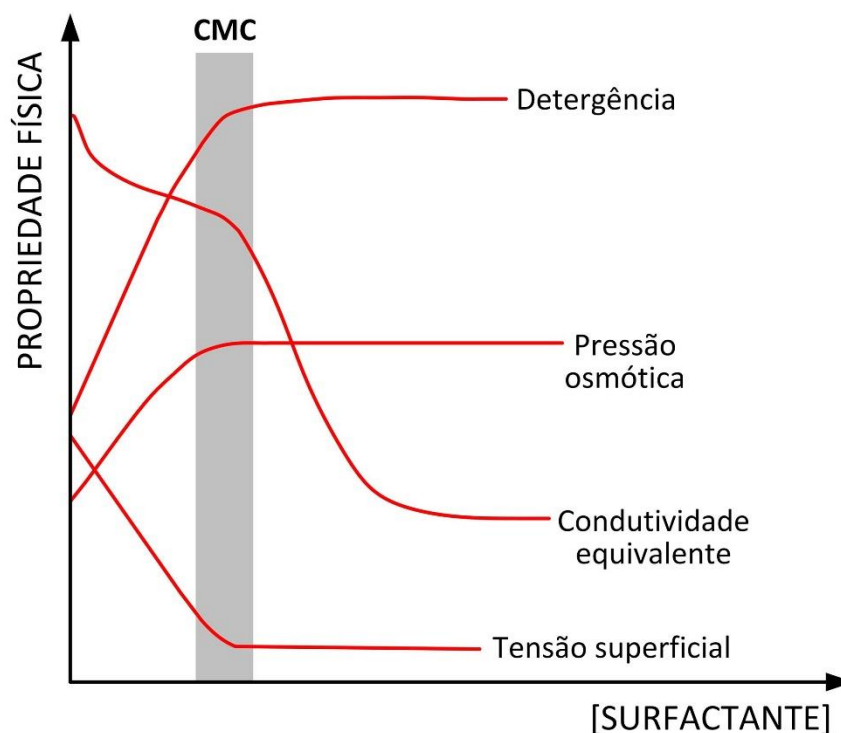
Termodinamicamente, quando moléculas de água realizam ligações de hidrogênio com moléculas de água vizinhas, suas contribuições para a entropia do sistema diminuem devido à perda de graus de liberdade. Portanto, a entropia por mol de moléculas de água envolvidas em uma rede de ligações de hidrogênio no sistema em estudo é menor que a entropia por mol de moléculas de água que poderiam estar livres sem realizar ligações de hidrogênio com outras moléculas. Em contrapartida, a entropia molar parcial das moléculas de água solvatando as caudas de um surfactante (de baixa polaridade) é menor que a entropia por mol de moléculas

de água envolvidas na rede de ligações de hidrogênio no sistema. Neste caso o termo energético que comanda este rearranjo entre as moléculas é o termo entálpico, visto que ao interagir com uma cadeia hidrocarbônica, moléculas de água devem deixar de interagir por meio de ligações de hidrogênio com outras moléculas de água para interagir com o hidrocarboneto por meio de interações do tipo dipolo-dipolo induzido, as quais são de energia entálpica mais baixa. A perda entálpica associada ao processo de solvatação das cadeias hidrocarbônicas é minimizada quando as moléculas de água na camada de solvatação da cadeia hidrocarbônica se orientam mais efetivamente, perdendo entropia configuracional, para maximizar as ligações de hidrogênio com as moléculas de água vizinhas.

Ao aumentar a concentração de surfactante em solução, a perda entrópica associada com as moléculas de água solvatando as cadeias hidrocarbônicas se sobressai ao ganho de entropia advindo de outros processos que ocorrem durante a mistura dos dois componentes, como o aumento de entropia configuracional. Na busca por um rearranjo mais estável, o sistema agrega as moléculas de hidrocarboneto, liberando moléculas de água de sua camada de solvatação, aumentando a entropia do sistema.

A cmc depende de fatores intrínsecos à molécula de surfactante, como tamanho, grupo iônico/não iônico na cabeça, e de fatores extrínsecos, como temperatura e adição de eletrólito ao meio (EVANS; WENNERSTRÖM, 1999). A partir da cmc ocorre uma drástica mudança nas propriedades físicas de uma solução de surfactante, tais como, pressão, detergência, condutividade e tensão superficial (REISS-HUSSON; LUZZATI, 1964). A Figura 4 indica uma representação geral para este fenômeno.

Figura 4 - Representação geral de como as propriedades físicas de um surfactante são alteradas a partir da cmc.




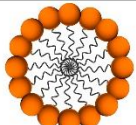

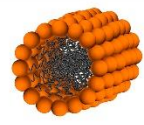

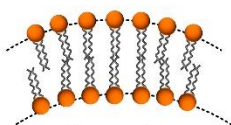

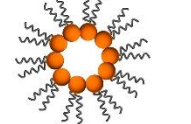
Fonte: Adaptado de TADROS, 2006.

Em regimes concentrados, as micelas esféricas são apenas uma das diversas possibilidades de formação de agregados nos quais os surfactantes podem existir em solução. As possibilidades de arranjos das moléculas surfactantes variam com a natureza do surfactante e de variáveis como temperatura, pH, presença de co-solutos, entre outras) (ROSEN; KUNJAPPU, 2012). A partir do fator de empacotamento, p , é possível prever qual será a geometria do surfactante (ISRAELECHVILI, 2011):

$$p = \frac{V_T}{A_H l_T} \quad (1)$$

Onde V_T é o volume da parte hidrofóbica, A_H é a área da cabeça polar e l_T é o comprimento da cauda. A Figura 5 representa os fatores de empacotamento de algumas estruturas.

Figura 5 - Fatores de empacotamento de estruturas mais comuns de micelas.

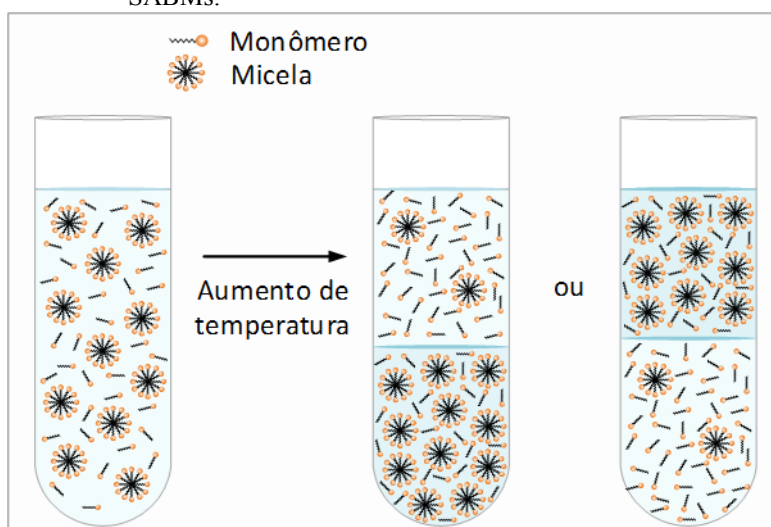
Parâmetro de empacotamento	Geometria da molécula anfifílica	Estruturas
$p < \frac{1}{3}$	 Núcleo	 Micelas esféricas
$\frac{1}{3} < p < \frac{1}{2}$	 Núcleo truncado	 Micelas cilíndricas
$\frac{1}{2} < p < 1$	 Núcleo truncado	 Bicamadas
$p > 1$	 Núcleo truncado invertido	 Micelas reversas

Fonte: Adaptado de EHWORTHY, 1968.

Os surfactantes estão entre os compostos mais versáteis da indústria química. Suas propriedades os tornam adequados para muitas aplicações industriais envolvendo umectância, detergência, emulsificação, lubrificação, emoliência, solubilização e dispersão de fases, estabilidade, entre outros. São utilizados em praticamente todas as classes de atividades industriais, desde processos primários, como recuperação e purificação de matérias-primas em mineração e química do petróleo, até como aditivos para melhorar o desempenho em produtos finais como tintas, cosméticos, produtos farmacêuticos e alimentos (MUNDAY, 2000).

Uma peculiaridade em soluções de surfactantes não iônicos é a formação do ponto nuvem, uma transição entre um comportamento isotrópico da fase (abaixo e acima da cmc enquanto a solução se apresentar límpida) e anisotrópico (formação do ponto nuvem) com subsequente separação completa das fases, Figura 6. Esse processo ao qual nos referimos como ponto nuvem é conhecido como coervação. Essa é uma outra maneira de se referir ao fenômeno de separação de fases que tipicamente ocorrem em soluções de surfactantes e/ou macromoléculas. Geralmente a fase mais densa, com maior concentração do surfactante é, neste caso, chamada de coacervato (PAN et al., 2010).

Figura 6 - Representação da distribuição das micelas do surfactante em SABMs.



Fonte: Do autor

Há várias teorias que explicam a separação de fases representada na Figura 6. Por exemplo, no surfactante Triton X-100 este fenômeno pode ser explicada em termos da desidratação dos grupamentos oxietileno que constituem a região de maior polaridade das cadeias do surfactantes, resultando na separação de fases devido à redução de solubilidade da molécula devido ao aumento da temperatura. Macroscopicamente o ponto nuvem é atingido quando ocorre a turvação da solução em função da maior agregação dos monômeros de surfactante. Além do aumento da temperatura, a adição de eletrólitos também pode conduzir a separação de fases (HINZE; PRAMAURO, 1993).

Dada a relevância dos surfactantes nos diversos processos supracitados, é fundamental a compreensão de como se formam os agregados em solução e de forma os aspectos microscópicos se correlacionam com aspectos macroscópicos. A micelização é um fenômeno dinâmico no qual n monômeros de surfactantes se associam para formar uma micela S_n . (BURCHFIELD; WOOLLEY, 1984):



O processo de micelização tem sido demonstrado por meio de modelos termodinâmicos, dentre os quais destaca-se o modelo de separação de fases e o modelo de ação de massas, que estão entre os mais utilizados para descrever estes fenômenos (BURCHFIELD; WOOLLEY, 1984; CORKILL et al., 1966; HE; ALEXANDRIDIS, 2017; SARMIENTO et al., 1995). O modelo de separação de fases trata a formação da micela como um fenômeno de separação de

fase. A cmc é considerada como a concentração de saturação do surfactante em seu estado monomérico em solução, e a micela constitui-se em uma pseudo-fase a parte. Acima da cmc existe um equilíbrio de fases entre moléculas de surfactantes em solução e a fase micelar. Segundo Tadros (2006) uma definição de cmc pode ser formulada assumindo que o potencial químico do surfactante no estado micelar é constante e pode ser adotado como o potencial químico padrão, μ_m^0 , no qual:

$$\mu_m^0 = \mu_1^0 + RT \ln a_1 \quad (3)$$

Onde μ_1^0 é o potencial químico do monômero e a_1 é a atividade do surfactante na solução, que é igual a $\gamma_1 x_1$, em que γ_1 é o coeficiente de atividade e x_1 é a fração molar.

Para soluções diluídas assume-se que γ_1 se aproxima da unidade, dessa forma temos que a energia livre padrão de micelização por mol de monômeros de tensoativo, ΔG_{mic}^0 , equivale a diferença dos potenciais químicos (TADROS, 2006):

$$\Delta G_{mic}^0 = \mu_m^0 - \mu_1^0 = RT \ln a_1 \approx RT \ln x_1 \quad (4)$$

Esta equação pode ser reescrita em termos da cmc, assumindo-se que $x_1 = \frac{cmc}{[H_2O]}$, em que $[H_2O]$ é a concentração molar de água em um litro de solução:

$$\Delta G_{mic}^0 = RT \ln \frac{cmc}{[H_2O]} \quad (5)$$

O modelo de ação de massas considera que há um equilíbrio de associação/dissociação entre monômeros $[S]$ e micelas $[S]_n$ em solução:

$$K_c = \frac{[S]_n}{[S]^n} \quad (6)$$

ΔG_{mic}^0 é dado por:

$$-\Delta G_{mic}^0 = -\frac{\Delta G}{n} = \frac{RT}{n} \ln K_c = \frac{RT}{n} \ln [S]_n - RT \ln [S] \quad (7)$$

Quando o número de agregação é maior que 50, o primeiro termo da equação é desprezível, logo ΔG_{mic}^0 é dado por:

$$\Delta G_{mic}^0 = RT \ln [S] = RT \ln [cmc] \quad (8)$$

O modelo de separação de fases apesar de ser muito referenciado e utilizado na obtenção de propriedades termodinâmicas apresenta limitações. Primeiramente não considera a descontinuidade nas propriedades físicas de uma solução de surfactante, como tensão superficial, turbidez. Em segundo lugar, se duas fases realmente existirem na cmc, então,

equiparar o potencial químico da molécula surfactante nas duas fases implicaria que a atividade do surfactante na fase aquosa seria constante acima da cmc. Neste caso, a tensão superficial de uma solução de surfactante permaneceria constante acima da cmc. No entanto, medições experimentais mostram que a tensão superficial de uma solução de surfactante diminui lentamente acima da cmc (TADROS, 2006).

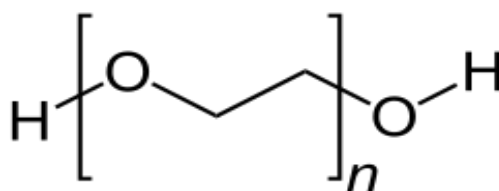
O modelo de ação das massas pressupõe um equilíbrio de dissociação-associação entre monômeros e micelas, portanto, uma constante de equilíbrio pode ser calculada. Embora este modelo apresente uma abordagem teórica diferente do modelo anterior, o tratamento termodinâmico chega a mesma equação encontrada pelo modelo de separação de fases para surfactantes do tipo não iônicos, (Equação 8). Embora a abordagem de ação em massa explique vários resultados experimentais, como a pequena alteração nas propriedades em torno da cmc, ela não foi isenta de críticas. Por exemplo, a suposição de um único número de agregação para micelas em solução é uma simplificação excessiva, pois sabe-se que há uma distribuição de tamanho micelar com agregados em uma ampla gama de números de agregação. Para surfactantes com micelas predominantemente esféricas, a polidispersividade é baixa e existe um tamanho micelar particularmente preferido (TADROS, 2006).

2.3 POLIETILENOGLICOL

O polietilenoglicol, $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$, é um polímero sintético hidrofílico, não iônico, com massa molar variável, sua estrutura geral é representada pela Figura 7. Este composto é utilizado mundialmente para diversos fins, destacando-se em indústrias de plástico, adesivos, tintas, vernizes, cimentos, produtos cosméticos e farmacêuticos, e processos biotecnológicos (DAVIDSON, 1980). O PEO é o único da série homóloga dos poliésteres que é bastante solúvel em água a temperatura e pressão ambientes.

Os polietilenoglicóis são obtidos a partir da reação de polimerização do óxido de etileno. Os produtos obtidos desta reação vão desde líquidos viscosos até materiais sólidos com fórmula molecular $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$, Figura 7, onde n representa o número médio de mols de óxido de etileno (ZHOU, 2009).

Figura 7 - Representação geral da estrutura molecular do polietileno glicol.



Fonte: Do autor.

O polietilenoglicol é altamente solúvel em água, e que seu poder de hidratação é fortemente dependente da temperatura. Além disso as propriedades físicas variam de acordo com a massa molar conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Propriedades físicas do polietilenoglicol em função da massa molar em g mol^{-1}

	PEO 200	PEO 300	PEO 400	PEO 600	PEO 1000	PEO 4000	PEO 10000	PEO 35000
Densidade a 20 °C/ g/ cm^3	1,12	1,13	1,13	1,13	1,2	1,2	1,2	1,2
Ponto de Fusão °C	- 50	-15 -10	4-8	17-22	35-40	53-58	55-60	>60
Pressão de vapor a 20 °C	< 0,1	< 0,1	< 0,01	< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Solubilidade em água g/100g a 25 °C	∞	∞	∞	∞	75	55	53	50

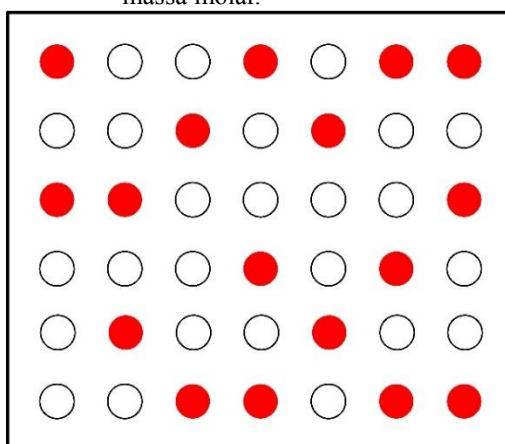
Fonte: Adaptado de WILEY-VCH 1998.

Este polímero possui várias vantagens que o torna um alvo, principalmente na indústrias biotecnológica e biomédica, por exemplo, são atóxicos, biodegradáveis, forma complexos com cátions metálicos, funcionam como agentes precipitantes de proteínas em condições específicas (RILEY, S. L, 2001). O PEO tem sido amplamente utilizado em cosméticos e medicamentos, pois foi aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) como não antigênico (BOOTH; ATTWOOD, 2000). Além disso esse polímero é amplamente empregado como um dos componentes formadores dos SABs devido a sua facilidade para formar estes sistemas. Os SAB mais tradicionais descritos na literatura são os formados por misturas de PEO e sal ou PEO e outro polímero, estes são amplamente e estudados (ALVES et al., 2000; BASKARAN et al., 2018; CHEN; LEE, 1995).

Dada a grande relevância do uso e aplicação de soluções poliméricas surge o desafio em conhecer as interações que governam processos de mistura que envolvem polímeros. O comportamento físico-químico do PEO em sistemas orgânicos e, principalmente, aquosos tem

vido extensivamente estudados segundo uma série de teorias, dentre as quais a teoria de Flory (1953) e Huggins (1941) foi pioneira. Este estudo se fundamenta na teoria de soluções regulares, criado por Hildebrand e Scatchard, baseados nas observações de van Laar, o primeiro cientista a utilizar o modelo de retículo para estudar soluções (Figura 8). Utiliza-se o modelo do retículo, em uma solução regular, assumindo que as moléculas de soluto e solvente apresentam o mesmo tamanho e que, soluto e solvente são apolares, de forma que o volume total da solução é a soma dos volumes do soluto e solvente.

Figura 8 - Modelo do retículo para uma mistura binária com componentes de baixa massa molar.



Fonte: Do autor.

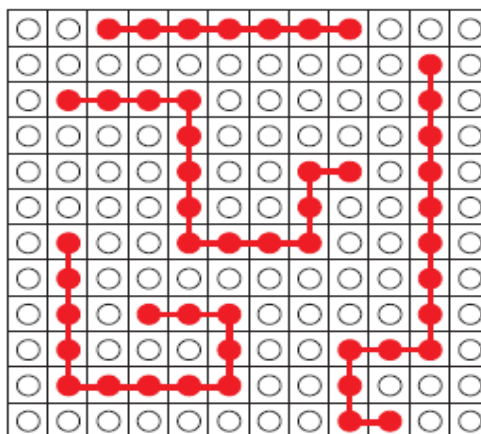
Esta teoria foi adaptada para soluções poliméricas. Como moléculas poliméricas são muito maiores do que as moléculas do solvente, não é possível modelar o comportamento destas misturas tratando-as como soluções ideais, no qual se considera a mistura de dois líquidos puros com moléculas que ocupam de maneira completamente aleatória um retículo. Dessa forma Flory propôs um modelo molecular, que considera a molécula de polímero composta por x segmentos consecutivos, cada um deles com volume igual àquele ocupado por uma molécula do solvente como representado a seguir:

$$x = \frac{\bar{V}_2}{\bar{V}_1} \quad (9)$$

No qual os subscritos 1 e 2 referem-se ao solvente e ao polímero, respectivamente. A mistura solvente/polímero é representada por uma rede contendo N_0 sítios ocupados ou por uma molécula do solvente ou por um segmento do polímero, como mostrado na Figura 9.

$$N_0 = N_1 + xN_2 \quad (10)$$

Figura 9 - Representação de uma rede, segundo o modelo de Flory, onde cada sítio está ocupado ou por uma molécula do solvente (círculo vazio) ou por um segmento da molécula do polímero (círculo cheio) de tamanho idêntico a molécula do solvente.

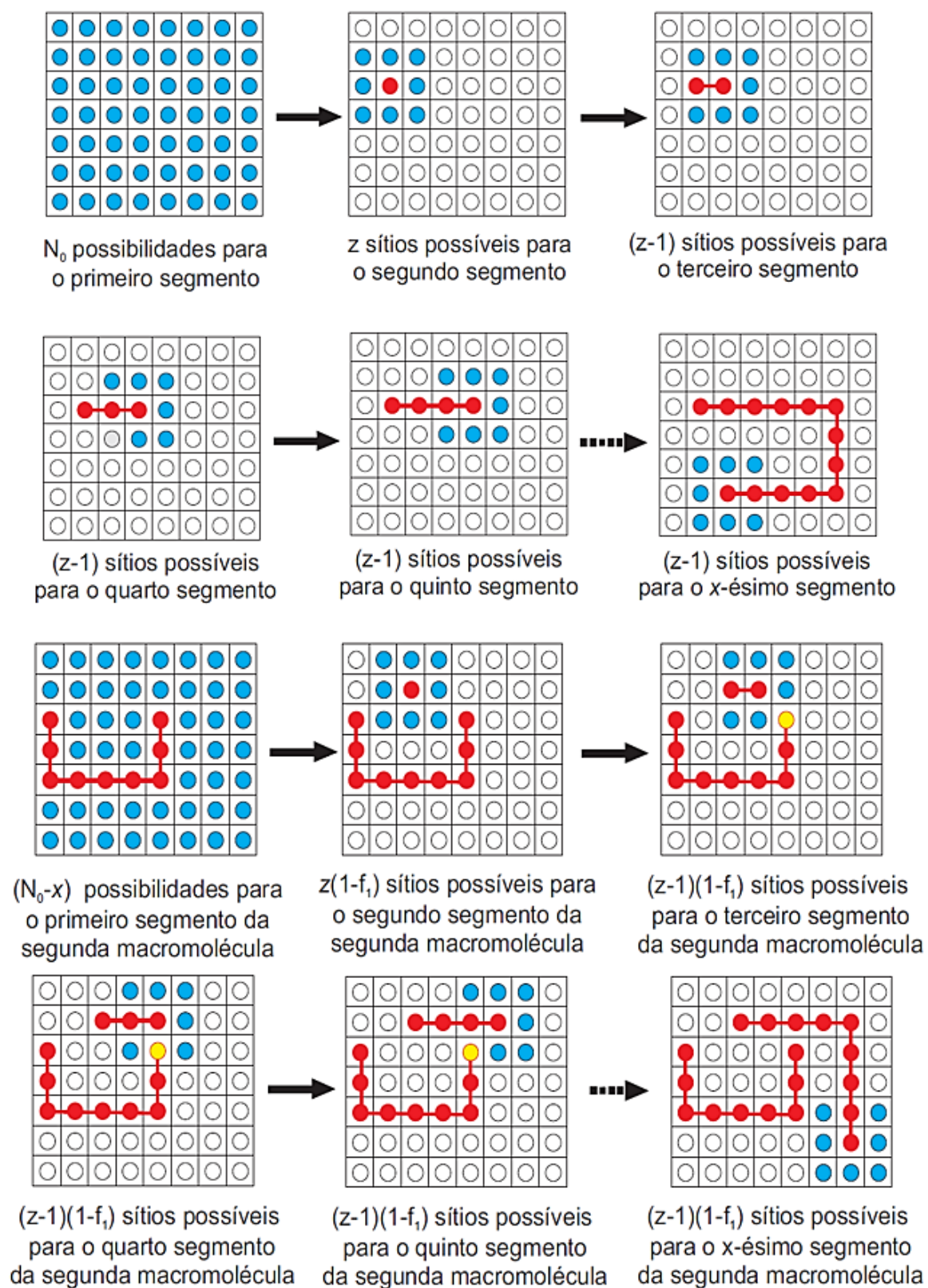


Fonte: VIRTUOSO, 2005.

Ao considerar uma rede com N_0 sítios ocupados por moléculas de solvente e polímero no processo de mistura, o polímero é dividido em x segmentos consecutivamente conectados, sendo cada segmento do mesmo tamanho da molécula do solvente. Ou seja, o polímero é portanto x vezes maior que a molécula do solvente. Isto porque é necessário encontrar x celas consecutivas na rede para se adicionar uma molécula do polímero, ou seja, uma vez adicionado o primeiro segmento, o grau de liberdade de todos os outros fica restrito as celas adjacentes àquelas ocupadas pelo segmento anterior (SPITZER; LOH, 2001). O passo-a-passo do processo de adição dos x segmentos de polímeros a rede com N_0 sítios é representado pela Figura 10.

De acordo com a Figura 10 quando o primeiro segmento é adicionado, o segundo fica restrito as z celas adjacentes à cela em que o primeiro segmento foi colocado. Define-se z como o número de coordenação da rede, e este depende do grau de empacotamento do sistema (solução), mas, em geral, varia de 6 a 12. Para o terceiro segmento tem-se $(z - 1)$ possibilidades, pois uma das z celas adjacentes ao segundo segmento estão ocupadas pelo primeiro segmento.

Figura 10 - Variação entrópica provocada pela adição de duas moléculas de um dado polímero com x segmentos consecutivos à uma rede contendo N sítios segundo o modelo de Flory-Huggins.



Fonte: VIRTUOSO, 2005.

O mesmo número $(z - 1)$ de modos possíveis para se adicionar segmentos são encontrados para o quarto, quinto, sexto,... e x -ésimo segmentos do polímero. Assim, o número de formas diferentes, v_i , de se adicionar uma molécula do polímero contendo x segmentos numa rede com N_0 sítios é dada por:

$$v_1 = N_0 z (z - 1) (z - 1) \dots (z - 1) = N_0 z (z - 1)^{x-2} \quad (11)$$

Para encontrar v_2 que corresponde ao número de formas diferentes de se colocar uma segunda molécula do polímero quando já está presente outra macromolécula. Considerando que as duas macromoléculas possuírem o mesmo número x de segmentos, o número de maneiras diferentes para se adicionar o primeiro segmento da segunda macromolécula é $(N_0 - x)$ (Figura 10). O segundo segmento deve ser adicionado em um dos z sítios adjacentes ao primeiro segmento, desocupado. Sendo f_i a probabilidade de encontrar um segmento da primeira molécula numa cela adjacente a uma cela previamente vazia, define-se $(1 - f_i)$ a probabilidade de encontrar celas adjacentes a uma cela vazia. Para o segundo é $z(1 - f_i)$, terceiro, quarto, quinto,... e x -ésimo segmentos temos $(z - 1)(1 - f_i)$, assim v_2 ,

$$\begin{aligned} v_2 &= (N_0 - x) z (1 - f_i) (z - 1) (1 - f_i) (z - 1) (1 - f_i) \dots (z - 1) (1 - f_i) \\ &= (N_0 x) z (1 - f_i)^{x-1} (z - 1)^{x-2} \end{aligned} \quad (12)$$

Seguindo a mesma linha de raciocínio a adição de sucessivas moléculas de polímero na rede é possível encontrar uma expressão geral para v_i , que não pertence ao escopo do presente trabalho, que se refere ao número de diferentes arranjos para se adicionar o i -ésimo polímero numa rede estando presentes nela $i - 1$ polímeros.

$$v_i = \frac{(N_0 - xi + x)!}{(N_0 - xi)!} \left[\frac{(z - 1)}{N_0} \right]^{x-1} \quad (13)$$

Assim é possível contabilizar todas as possíveis configurações obtidas pela permutação de moléculas no sistema inclusive entre as moléculas de solvente que, ao permutarem, não contribuem com configurações distintas, de modo a obter o número total de configurações, Ω_{sol} , que representam diferentes estados da solução temos,

$$\Omega_{sol} = \frac{1}{N_2!} \prod_{i=1}^{n_2} v_i \quad (14)$$

No qual o termo $\frac{1}{N_2!}$ inclui todas as possibilidades possíveis de permutar espaços dentro da rede que causam modificações. O produtório refere-se às diferentes formas de arranjar n_2 mols de moléculas do polímero na solução.

De acordo com a expressão de entropia de Boltzmann dada por:

$$S = k \ln \Omega \quad (15)$$

onde k é a constante de Boltzmann e Ω refere-se ao número de configurações possíveis para o sistema, e ainda, assumindo que os estados de referência dos componentes puros (água e polímero) são aqueles em que tem-se apenas uma única forma de arranjar as moléculas na rede, ou seja, $\Omega_1 = 1$ e $\Omega_2 = 1$. Pode-se considerar que a expressão para o $\Delta_{mis}S$ é dado por

$$\Delta_{mis}S = k \ln \Omega_{sol} \quad (16)$$

Substituindo na Equação (16) as expressões obtidas anteriormente para φ_i e para Ω_{sol} (Equações 10 e 14, respectivamente), e após algum esforço matemático é possível obter a expressão do modelo de Flory Huggins para o termo entrópico da mistura dada por:

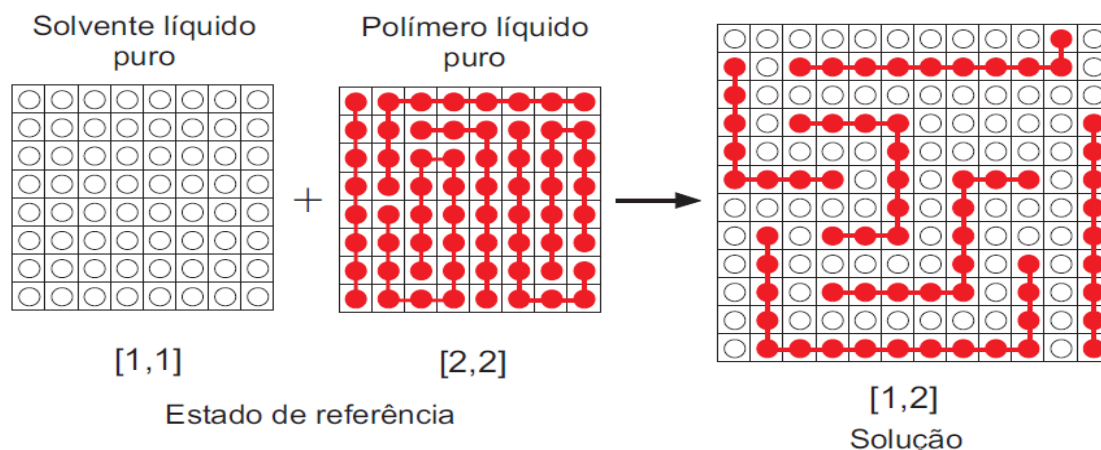
$$\Delta_{mis}S = k [N_1 \ln \varphi_1 + N_2 \ln \varphi_2] \quad (17)$$

onde φ_1 e φ_2 correspondem as frações volumétricas do solvente e do polímero em solução, respectivamente.

Flory propôs a inclusão de um novo termo que considera as atrações intermoleculares entre as moléculas, ou seja, considera a contribuição da energia de atração ou energia potencial. Essa modificação é diretamente associada à variação da entalpia do sistema (LI; FU', 1992).

Tomando como estado de referência, os componentes como líquidos puros e, como modelo a nível molecular, uma solução formada como resultado final de duas etapas distintas: na primeira as moléculas dos componentes líquidos puros devem ser separadas por uma distância infinita, e na segunda etapa, as moléculas dissimilares são aproximadas. Os estados de referência são representados por [1,1] (moléculas do solvente), [2,2] (moléculas do polímero) e os pares dissimilares formados na solução representados por [1,2] (Figura 11).

Figura 11 - Modelo de rede de Flory para a formação de uma solução binária a partir dos respectivos componentes líquidos puros.



Fonte: VIRTUOSO, 2005.

Dessa forma, o termo entálpico proposto pelo modelo de Flory Huggins, $\Delta_{mis}H$, considera a diferença entre a energia total de interação da solução e a dos componentes líquidos puros. A diferença se estabelece entre os pares dissimilares formados [1,2] representados na Figura 11. Uma limitação deste modelo é considerar somente as interações entre as moléculas vizinhas, sabendo-se que a força de interação diminui rapidamente com a distância. Para cada par de interação formado em solução, tem-se que destruir $\frac{1}{2}$ interação do tipo [1,1], [2,2]. Aqui deve ser destacado que a magnitude do $\Delta_{mis}H$ depende da proporção em que os componentes líquidos puros são misturados. Considerando a mistura do solvente com o polímero e que a molécula do solvente é constituída por x_1 segmentos, tem-se:

$$\Delta_{mis}H = z\Delta w_{12}x_1n_1\varphi_2 \quad (18)$$

Onde z é parâmetro de coordenação da rede, Δw_{12} corresponde à variação da energia relacionada à formação de um par [1,2] na solução a partir da quebra dos pares [1,1] e [2,2] nos componentes puros, n_1 é a quantidade de matéria do solvente presente na rede e φ_2 a fração volumétrica do polímero. Na sequência, o chamado parâmetro interacional da teoria de Flory que, é uma quantidade adimensional que caracteriza a variação da energia de interação por molécula do solvente dividido por kT (energia térmica do sistema), é introduzido de acordo com a Equação (19).

$$\lambda_1 = \frac{(z\Delta w_{12}x_1)}{kT} \quad (19)$$

O parâmetro λ_1 para a mistura binária solvente-polímero de Flory Huggins representa a diferença de energia existente entre uma molécula de solvente imersa no polímero puro ($\varphi_2 \cong 1$) e aquela em que se encontra imersa no solvente puro ($\varphi_1 = 1$). Sendo assim, a Equação (20) pode ser reescrita como:

$$\Delta_{mis}H = kT\lambda_1n_1\varphi_2 \quad (20)$$

Utilizando as Equações (17) e (20) e substituindo na Equação (21):

$$\Delta_{mis}G = \Delta_{mis}H - T\Delta_{mis}S \quad (21)$$

Obtém-se a expressão para a variação da energia livre de Gibbs para uma solução polimérica a partir dos componentes puros, segundo o modelo de rede de Flory:

$$\Delta_{mis}G = kT\lambda_1n_1\varphi_2 + kT(N_1\ln\varphi_1 + N_2\ln\varphi_2) \quad (22)$$

De forma geral observa-se que o termo dominante para energia total, ou seja, a maior contribuição para a energia livre de Gibbs é a entrópica em soluções de polímeros, enquanto para soluções de moléculas pequenas, é o termo entálpico que domina.

Embora o modelo de Flory Huggins tenha contribuído significativamente para o entendimento do comportamento de macromoléculas em solução, apresenta várias limitações. Destaca-se a inexistência de sítios vazios no modelo, ou seja, todos os sítios da rede estão ocupados com moléculas do solvente ou segmentos da molécula do polímero. Isso restringe a aplicação do modelo em que há variação de volume de mistura a partir da mistura dos componentes puros para formar uma solução. Portanto quanto maior for a diferença de interação entre as moléculas do solvente e os segmentos dos polímeros, maiores serão os desvios para do modelo proposto por Flory e Huggins, visto que o volume é sensível a natureza dessas interações (VIRTUOSO, 2005).

O modelo de Flory e Huggins tem sido aplicado por alguns autores em misturas ternárias formadas por polímero, água e um terceiro constituintes (FOROUTAN; ZARRABI, 2008; PESSÔA FILHO; MOHAMED, 2004; YAN; CAO, 2014). O presente trabalho usou este modelo para o sistema ternário formado por polímero, água e surfactante, o qual pode ser representado pelo modelo de rede apresentado na Figura 12.

De acordo com a rede representada na Figura 12, cada sítio do modelo de Flory e Huggins estendido para misturas ternárias é ocupado por uma molécula do surfactante (1) ou

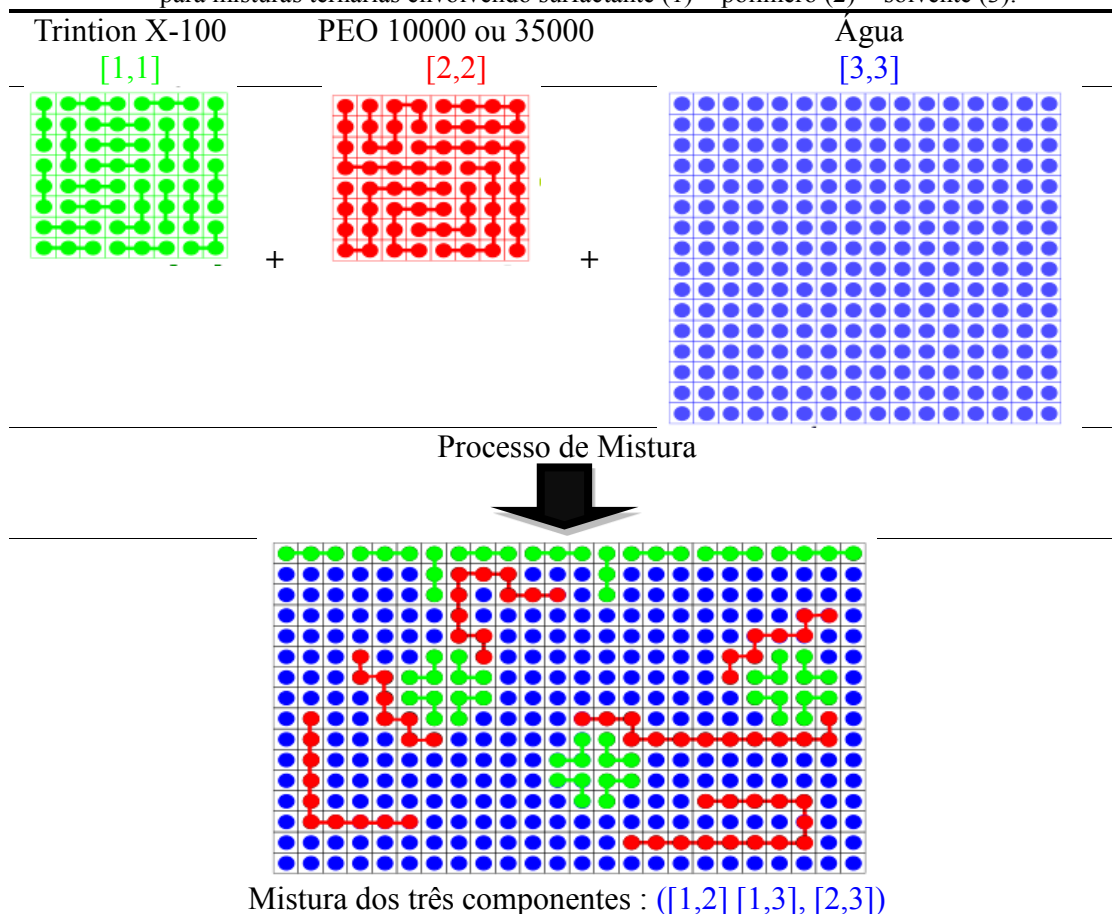
por uma molécula do polímero (2) ou por uma molécula de solvente (3). Todos os segmentos apresentam significativas restrições no seu grau de liberdade por terem sido inseridos de forma consecutiva, afetando a termodinâmica de mistura. Os segmentos teriam elevado grau de liberdade se tivessem sido inseridos de forma aleatória nesta mesma rede. Abaixo estão representados os pares de interação rompidos entre os componentes puros e criados na nova condição de mistura.

$$\begin{aligned} \frac{1}{2} [1,1] + \frac{1}{2} [2,2] &\rightarrow [1,2] \\ \frac{1}{2} [1,1] + \frac{1}{2} [3,3] &\rightarrow [1,3] \\ \frac{1}{2} [2,2] + \frac{1}{2} [3,3] &\rightarrow [2,3] \end{aligned} \quad (23)$$

A equação abaixo é uma generalização da soma das interações em uma rede:

$$\Delta w_{ij} = w_{ij} - \frac{1}{2} (w_{ii} + w_{jj}) \quad (24)$$

Figura 12 - Representação esquemática do modelo configuracional de rede de Flory-Huggins estendido para misturas ternárias envolvendo surfactante (1) + polímero (2) + solvente (3).



Fonte: Adaptado de JUNQUEIRA, 2019.

Em termos interacionais, uma consequência é que qualquer interação desfavorável entre um segmento, seja do surfactante ou do polímero, com o solvente, será ampliada pelo fato dos segmentos serem incorporados de forma consecutiva na rede. Como características moleculares muito distintas entre soluto e solvente acarretam em uma variação de entalpia positiva de mistura, moléculas grandes tendem a dissolver em solventes que possuem características de polaridade semelhantes à dos seus segmentos. A Tabela 2 resume os efeitos de restrição entálpica (interacional) e entrópica (configuracional) previstas pelo modelo de Flory-Huggins para misturas ternárias.

Tabela 2- Representação dos termos entálpicos e entrópicos previstos em uma mistura segundo o modelo de Flory-Huggins.

Termo Entálpico	Termo Entrópico
$\Delta_{mis}H = KT \sum_i N_i \sum_i \sum_{j>i} \chi_{ij} \varphi_i \varphi_j$	$\Delta_{mis}S = -K[N_1 \ln \varphi_1 + N_2 \ln \varphi_2 + N_3 \ln \varphi_3]$
<p>onde $\chi_{ij} = \frac{z\Delta w_{ij}x_i}{KT}$</p>	



Termo de energia total expressa como Energia de Gibbs

$$\frac{\Delta_{mis}G}{KT} = \left(\sum_i \ln \varphi_i + \sum_i \sum_{j>i} \chi_{ij} \varphi_i \varphi_j \right) \sum_i N_i$$

Fonte: Do autor

2.4 DIAGRAMAS DE EQUILIBRIO DE FASES

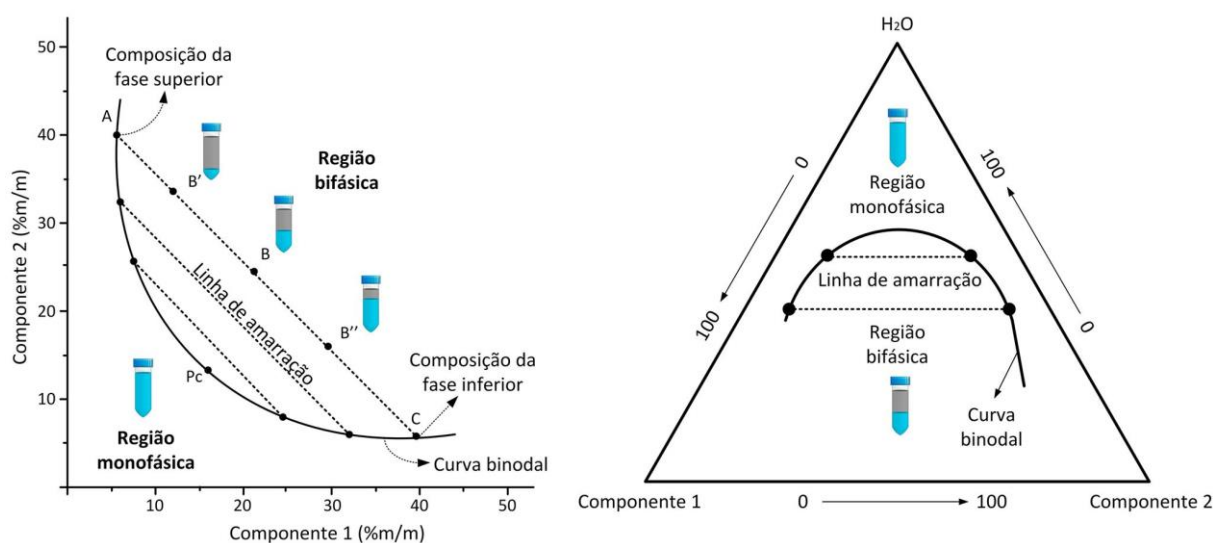
Uma etapa crucial para a utilização dos SABs, tema central do presente trabalho, é o conhecimento do comportamento desses sistemas, representado pelos diagramas de fases. Esses expressam através de figuras geométricas, (Figura 13), como as diferentes composições de mistura se comportam frente a determinadas situações de controle de temperatura, pressão e/ou composição.

Neste diagrama, é possível identificar as composições globais em que o sistema é monofásico ou bifásico, sendo estas duas regiões demarcadas pela curva binodal. As retas que ligam pontos, que representam as composições em fases superior e inferior em equilíbrio são chamadas linhas de amarração. Qualquer conjunto de pontos que estejam sob uma mesma linha de amarração terão fases superiores e inferiores com as mesmas propriedades termodinâmicas

intensivas, como densidade e volume molar, porém as variáveis termodinâmicas extensivas são distintas, como massa e volume. Tais características tornam diagramas de fase uma ferramenta indispensável na interpretação de um SAB.

Diagramas de fase são extensivamente representados na literatura tanto em formato retangular como na forma triangular, como demonstrado na Figura 13, sendo a concentração dos componentes da mistura representados nos eixos.

Figura 13 - Representação de um diagrama de fases em coordenadas (a) triangular e (b) retangular.



Fonte: Do autor

Em estudos envolvendo diagramas de equilíbrio de fases o uso da chamada regra das fases de Gibbs é fundamental. Esta regra informa sobre o número mínimo de variáveis intensivas independentes necessárias para especificar o comportamento de fases de um dado sistema em termos do número total de componentes, do número de fases presentes além da pressão e da temperatura. Este parâmetro é conhecido como grau de liberdade ou variância. Os graus de liberdade de um sistema podem ser encontrados por uma equação matemática muito simples e genérica dada pela Equação 25:

$$F = C - P + 2 \quad (25)$$

Onde F , refere-se ao grau de liberdade, C ao número de componentes (que são os constituintes quimicamente independentes presentes no sistema) e P é o número de fases. O número 2 que aparece na equação diz respeito às variáveis intensivas temperatura e pressão que também são imprescindíveis para a descrição do comportamento de fases. A regra das fases permite estabelecer as variáveis que devem ser correlacionadas para construção do diagrama de fases.

No caso dos SABs é estabelecido que a determinação da composição de mistura ocorre em condições de pressão e temperatura controlada. Em outras palavras, para sistemas contendo 3 componentes e 2 fases em equilíbrio o grau de liberdade é de 3, indicando que para caracterizar completamente o diagrama e o comportamento termodinâmico de uma fase com três componentes são necessárias 3 variáveis intensivas, que em SABs são a temperatura, pressão e 1 variável de composição.

A partir do diagrama de fases é possível obter parâmetros que caracterizam o equilíbrio de determinada mistura. Por exemplo, a partir das linhas que ligam as composições das fases superior e inferior partindo de um único ponto global, pode-se obter o comprimento da linha de amarração (CLA). Quanto maior for o valor do CLA mais distintas serão as diferenças entre as propriedades termodinâmicas intensivas da fase superior em relação às mesmas propriedades para a fase inferior, fator que afeta diretamente o comportamento de partição de analitos em SAB. Portanto a avaliação e modulação do CLA em SABs é crucial para otimizar processos de partição. Este parâmetro é calculado pelo teorema de Pitágoras de acordo com a Equação 26.

$$CLA = [(w_1^S - w_1^I)^2 + (w_2^S - w_2^I)^2]^{1/2} \quad (26)$$

Onde w_i^S e w_i^I representam a composição expressa em fração mássica dos componentes 1 e 2 nas fases superiores e inferiores, respectivamente.

A partir da Figura 13, pode-se perceber que a medida que o CLA diminui as propriedades intensivas das fases vão se aproximando até o chamado ponto crítico. Nesse ponto as propriedades físico-químicas das duas fases são teoricamente iguais, como composição e volume. Quanto mais a composição do sistema se aproxima do ponto crítico, menor é a diferença entre as fases. Nas proximidades do ponto crítico e/ou da curva binodal, pequenas alterações na composição dos sistemas provocam drásticas mudanças, levando o sistema de uma para duas fases ou vice-versa (ALBERTSSON, 1970).

Outro parâmetro relevante a se avaliar em diagramas de equilíbrio de fases é a inclinação da linha de amarração (ILA), representada pela Equação 27, que indica como a composição das fases pode variar com a alteração de uma propriedade termodinâmica (temperatura, natureza do componente, entalpia molar, etc). Este parâmetro pode indicar a transferência de moléculas de água de uma fase para outra no SAB, o que por sua vez pode ser induzido por mudanças nas propriedades do sistema.

$$ILA = \frac{w_1^S - w_1^I}{w_2^S - w_2^I} \quad (27)$$

Um terceiro parâmetro muito utilizado em estudos de partição/extração de compostos é a razão de distribuição K_p , (MONTEIRO FILHO, 2010) expresso por:

$$K_p = \frac{a_S}{a_I} \approx \frac{w_S}{w_I} \quad (28)$$

Onde a_S , a_I , w_S e w_I são as atividades e as concentrações dos componentes do sistema nas fases superiores e inferiores, em regime de diluição, respectivamente.

Além dos tipos de componente, outras variáveis podem afetar o equilíbrio de fases em um SAB, como temperatura, pH, variação da massa molar. A temperatura é um importante parâmetro a ser avaliado em SABs, pois ela pode afetar diretamente a distribuição dos constituintes entre as fases em equilíbrio do sistema. Por exemplo, em SAB compostos por dois polímeros, a concentração necessária dos mesmos para ocorrer a separação das fases é, geralmente, maior quanto mais elevada for a temperatura. Assim, para uma mesma composição global, um aumento da temperatura gera um deslocamento da curva binodal na direção de concentrações mais elevadas, diminuindo o tamanho do comprimento da linha de amarração e da região bifásica (LOPES et al., 2018). Por outro lado, em SAB compostos por um polímero e um sal o efeito é contrário, isto é, o aumento da temperatura na maioria dos casos conduz a uma diminuição das concentrações de polímeros e sal necessárias ao aparecimento de duas fases (OLIVEIRA et al., 2018).

Outro parâmetro amplamente avaliado em SAB é o efeito da massa molar do PEO (ALBERTSSON, 1970). A importância em estudar esse efeito se deve ao fato do aumento da massa molar deste polímero, geralmente, promover grandes variações na região bifásica (DAS DORES AGUIAR et al., 2017; MURARI et al., 2015). De uma forma geral, quanto maior for a massa molar do polímero no SAB, para uma determinada composição de fases, menor será a concentração necessária, desse mesmo polímero, para que ocorra separação de fases (ASENJO; CHAUDHURI, 1996). Este efeito pode ser justificado pelo aumento do caráter hidrofóbico do PEO com o aumento de sua massa molar. O incremento da hidrofobicidade acarreta na incompatibilidade entre os componentes do sistema, provocando seu rearranjo entre as fases na busca pelo estado de maior estabilidade do sistema (PADILHA et al., 2011).

A compreensão do universo termodinâmico que envolve o processo de mistura de um SAB está relacionado às chamadas grandezas parciais molares. O valor da propriedade molar de uma substância pura geralmente é alterado quando essa substância é adicionada a uma mistura. Uma grandeza parcial molar é a contribuição (por mol) que uma substância faz à propriedade total da mistura levando em consideração a forma como essa substância interage

na mistura. Uma grandeza parcial molar muito explorada em processos de mistura é o volume parcial molar de uma substância. Ele representa a contribuição que determinada substância faz no conjunto de interações com outras substâncias. Ressalta-se que, apesar de 1 mol de uma substância, quando pura, ter um volume característico, 1 mol da mesma substância pode contribuir diferentemente para o volume total de uma mistura, pois as moléculas interagem de forma diferente nas substâncias puras e nas misturas.

Entretanto, a grandeza parcial molar mais importante do ponto de vista termodinâmico é a energia de Gibbs parcial molar de uma substância, que é a contribuição (por mol) desta para a energia de Gibbs da mistura, também chamada de potencial químico. Em qualquer mistura em equilíbrio a distribuição do componente i em duas fases, α e β , considera a relação entre os potenciais químicos de i em cada uma das fases (PRAUSNITZ; LICHTENTHALER; AZEVEDO, 1986):

$$\mu_i^\alpha = \mu_i^\beta \quad (29)$$

Porém, o potencial químico não possui nenhum equivalente físico, sendo necessário expressá-lo em termos de alguma função auxiliar que pode ser correlacionada com propriedades mensuráveis. Tomando como referência um gás ideal puro, Lewis (LEWIS et al., 1961) encontrou a seguinte relação:

$$\left(\frac{\partial \mu_i}{\partial P}\right)_T = v_i \quad (30)$$

Pela equação dos gases ideais:

$$v_i = \frac{RT}{P} \quad (31)$$

integrando à temperatura constante tem-se:

$$\mu_i - \mu_i^0 = RT \ln \frac{P}{P^0} \quad (32)$$

A Equação 32 indica que, para um gás ideal, a mudança no potencial químico, sob temperatura constante, variando-se a pressão de P^0 a P , é igual ao produto de RT multiplicado pelo logaritmo natural da razão entre as pressões P/P^0 . Ou seja, à temperatura constante, a mudança no conceito abstrato μ é uma função logarítmica da variável real pressão. Contudo, a Equação 32 é válida apenas para gases ideais e puros. Porém Lewis propôs sua modificação incluindo uma função chamada de fugacidade para generalizar a aplicação da equação acima para a mudança isotérmica de qualquer tipo de componente, seja ele sólido, líquido, gás, puro ou em solução, ideal ou não.

$$\mu_i - \mu_i^0 = RT \ln \frac{f_i}{f_i^0} \quad (33)$$

De modo geral, fugacidade é uma “pressão corrigida” a qual difere da pressão original devido a não idealidades que podem ser interpretadas por considerações a nível molecular das partículas. Apesar de μ_i^0 e f_i^0 serem parâmetros arbitrários, a definição de um deles faz com que o outro seja automaticamente fixado. Lewis chamou a fração f_i/f_i^0 de atividade, definida pelo símbolo a , a qual indica o desvio da idealidade que uma substância possui tomando como referência seu estado padrão. Assim, para o equilíbrio das fases α e β temos:

$$\mu_i^\alpha - \mu_i^{0\alpha} = RT \ln \frac{f_i^\alpha}{f_i^{0\alpha}} \quad (34)$$

$$\mu_i^\beta - \mu_i^{0\beta} = RT \ln \frac{f_i^\beta}{f_i^{0\beta}} \quad (35)$$

Combinando-se as equações 34 e 35 na Equação 29, tem-se que:

$$\mu_i^{0\alpha} + RT \ln \frac{f_i^\alpha}{f_i^{0\alpha}} = \mu_i^{0\beta} + RT \ln \frac{f_i^\beta}{f_i^{0\beta}} \quad (36)$$

Pode-se considerar dois casos a partir da Equação 36. Explorando o primeiro deles: Supondo-se que os estados padrões para as duas fases são os mesmos:

$$\mu_i^{0\alpha} = \mu_i^{0\beta} \quad (37)$$

Então:

$$f_i^{0\alpha} = f_i^{0\beta} \quad (38)$$

Substituindo 37 e 38 em 36 e rearranjando os termos, obtém-se:

$$f_i^\alpha = f_i^\beta \quad (39)$$

Para o segundo caso, considera-se que os estados padrões para as duas fases são para a mesma temperatura, mas não para a mesma pressão e composição, compara-se os dois estados de acordo com a Equação 33, o que fornece:

$$\mu_i^{0\alpha} - \mu_i^{0\beta} = RT \ln \frac{f_i^{0\alpha}}{f_i^{0\beta}} \quad (40)$$

Substituindo 40 em 37, obtém-se novamente 39. E em termos de atividade:

$$a_i^\alpha = a_i^\beta \quad (41)$$

A partir da Equação 39, pode-se concluir que se pode alterar a equação em termos de potencial químico (μ) por uma equação mais palpável em função da fugacidade (f) sem a perda da generalidade da Equação 29. Aplicando o conceito de coeficiente de atividade, definido como a razão entre a atividade do componente i e sua concentração em fração molar:

$$\gamma_i = \frac{a_i}{x_i} \quad (42)$$

Tem-se, então, uma nova equação que define o equilíbrio líquido-líquido:

$$x_i^\alpha \gamma_i^\beta = x_i^\beta \gamma_i^\alpha \quad (43)$$

3 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta seção será apresentado um levantamento bibliográfico sobre o tema central deste trabalho: Sistemas Aquosos Bifásicos com destaque para os SABs micelares. Serão abordados aspectos sobre a definição desses sistemas, suas características e aplicações mais frequentes, em especial aquelas relacionadas à partição de pequenas moléculas hidrofóbicas, como os flavonoides.

3.1 SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS (SABs)

Sistemas aquosos bifásicos são misturas ternárias que, sob condições controladas de temperatura pressão e composição, resulta em duas fases imiscíveis, no qual o componente imprescindível e majoritário é a água. A divisão dos componentes entre as fases apresenta um comportamento segregativo: uma delas é enriquecida com um componente, enquanto a outra fase se enriquece do outro (SILVA et al., 2006). São muitas as possíveis combinações de substâncias químicas que são capazes de formar SAB. A Tabela 3 destaca as principais descritas na literatura.

O potencial dos SABs foi anunciado na década de 50 por Albertsson que mostrou à comunidade científica possibilidades de aplicação desses sistemas em estudos de partição, extração, pré-concentração e purificação de materiais biológicos (ALBERTSSON, 1956). Albertsson observou que quando uma proteína é introduzida em um SAB, esta biomolécula é distribuída desigualmente entre as fases (HOSTETTMANN, 1987). Após as descobertas de Albertsson os SABs foram inseridos na categoria de equilíbrio líquido-líquido por se mostrarem promissores em estudos de partição/extração/purificação dos mais diferentes analitos possíveis, tais como, compostos inorgânicos (BASKARAN et al., 2018), orgânicos (FU et al., 2019), íons (DURÁN; CLAROS; JIMENEZ, 2018), pequenas moléculas (VICENTE et al., 2014), macromoléculas (PATRÍCIO et al., 2016). Além disso, muitos estudos mostram a capacidade de SABs em obter de elevados rendimentos, recuperação de materiais e aumento de escala (GRABER et al., 2004).

Tabela 3 - Combinações de classes de substâncias químicas que levam à formação de SAB.

Componentes	Exemplos	Referência
Polímero + Polímero	PEO + poli(ácido acrílico)	(LOPES et al., 2018)
	PEO + dextrana	(LIN et al., 2003)
	PEO + Ucon	(MADEIRA et al., 2011)
	PEO + PES	(MADEIRA et al., 2011)
Polímero + Sal	Dextrana + Ficon	(MADEIRA et al., 2011)
	PEO + Citrato de sódio	(JUNQUEIRA et al., 2018a)
	Copolímero tribloco (L35) + citrato de sódio	(MARTINS et al., 2009)
Polímero + Líquido Iônico	PEO + Na ₂ SO ₄ ou K ₂ HPO ₄ ou (NH ₄) ₂ SO ₄	(HAGHTALAB; JODA, 2009)
	Tergitol NP10 ou Triton ou Tween + metilsulfato 1-etil-3-metilimidazolio (C ₂ C ₁ imC ₁ SO ₄)	(ÁLVAREZ et al., 2019)
Polímero + Surfactante	[P ₄₄₄₄][NO ₃] + NaNO ₃ (ou NH ₃ NO ₃)	(CHEN et al., 2018)
	Ácido acrílico e ácido maleico +Sulfonato de alquilbenzeno de sódio (LAS)	(DING; BAKALIS; ZHANG, 2019)
	PEO + Triton	(LIU et al., 2016)
	Dextrana + Éter mono-n-dodecílico de pentaetileno glicol (C ₁₂ E ₅)	(SIVARS et al., 1996)
Surfactante + Sal	Triton X-100 + Na ₂ SO ₄	(LIU et al., 2016)
	Triton X-100 + (NH ₄) ₂ SO ₄	(YONGQIANG ZHANG et al., 2016)
	Triton X-102 + Na ₂ S ₂ O ₃	(BLANCO et al., 2014)
Surfactante + Líquido iônico	[Emim]Cl/Triton X-100	(LI; LIU; LIN, 2018)
	Triton X-100 ou Triton X-102 + N ₁₁₁₂ OH ₂ DHC	(ESCUDEIRO et al., 2018)
	Triton X-114 + [C ₁₀ mim]Cl	(TORRES et al., 2018)

Fonte: do autor

Uma característica muito peculiar em SABs é sua capacidade de mimetizar o ambiente biológico, por ser formado majoritariamente por água, o que possibilita recuperação dos mais diversos analitos em processos de separação com manutenção da atividade biológica. Outro avanço de extração a partir de SABs é a possibilidade de substituir processos tradicionais que

causam impacto ao ambiente, fator que desperta grande interesse em pesquisadores que trabalham com o desenvolvimento de pesquisas no âmbito da Química Verde (PATRÍCIO et al., 2011). Essa tecnologia pode encontrar aplicação também na remediação de poluição, ajudando a limpar locais já contaminados e na purificação de biocompostos (CARVALHO et al., 2007).

Em outras passagens deste texto, discutiu-se sobre uma ferramenta aliada aos SABs, que são os modelos, representações matemáticas que permitem uma descrição a nível microscópico de um determinado sistema macroscópico. Nos modelos que descrevem SABs, a partir da correlação entre os potenciais químicos e o equilíbrio de fases do sistema, obtém-se o valor do coeficiente de atividade. A literatura descreve vários modelos que usam estes conceitos para encontrar o coeficiente de atividade referente ao equilíbrio de misturas, como NRTL, UNIQUAC, UNIFAC e Flory-Huggins (FLORY, 1953).

Para encontrar o coeficiente de atividade do equilíbrio de fases de um SAB a partir dos modelos citados acima também é necessário considerar as mudanças entálpicas e entrópicas que ocorrem no processo de mistura, no qual novas interações intermoleculares serão formadas e rompidas. A propriedade termodinâmica que nos permite inferir sobre essas interações é denominada variação da energia livre de mistura, $\Delta_{mis}G$ (SILVA; LOH, 2006). Sabe-se que este parâmetro está diretamente relacionado às variações na entalpia e entropia de mistura, como representado na Equação 44:

$$\Delta_{mis}G = \Delta_{mis}H - T\Delta_{mis}S \quad (44)$$

Onde $\Delta_{mis}H$ e $\Delta_{mis}S$ são, respectivamente, entalpias e entropias de mistura, obtidas pela diferença entre as propriedades extensivas (H e S) na mistura em relação àquelas para os componentes puros, e T representa a temperatura absoluta. De forma similar aos termos entálpicos e entrópicos de mistura, a variação da energia livre de mistura corresponde à diferença entre a energia livre da solução (G_{sol}) e o somatório da energia livre de cada componente i puro (G_i^*), Equação 45:

$$\Delta_{mis}G = G_{sol} - \sum G_i^* \quad (45)$$

Assim, neste trabalho, para os constituintes formadores do SAB a Equação 45 pode ser reescrita de acordo com a Equação 46:

$$\Delta_{mis}G = G_{sol} - (G_{PEG}^* + G_{Triton}^* + G_{\acute{a}gua}^*) \quad (46)$$

Sabe-se que a energia livre de Gibbs é uma função da temperatura, pressão e composição da mistura, já que as propriedades molares dos constituintes puros e nas misturas também interferem na variação da energia livre de mistura. Neste caso também deve ser incluído um

termo a esta equação referente ao equilíbrio material, chamado potencial químico, representado pela letra grega μ (SILVÉRIO et al., 2010). Como SABs são obtidos à pressão e temperatura constantes, a energia livre de mistura passa a ser expressa apenas em função do equilíbrio material, de acordo com a Equação 47 que exemplifica diferentes formas de equacionar esse fenômeno. Ressalta-se que se $\Delta_{mis}G < 0$ haverá a formação de uma solução! No processo de formação de SABs: $\Delta_{mis}G > \Delta_{sab}G < 0$ (variação de energia de Gibbs para formar SAB). Então:

$$\begin{aligned}\Delta_{SAB}G &= \mu_I \Delta n_I + \mu_S \Delta n_S \\ \Delta_{SAB}G &= (G_I - \sum_{i=3}^3 G_i^*) + (G_S - \sum_{i=3}^3 G_i^*) \\ \Delta_{SAB}G &= [\sum_{i=3}^3 n_i \mu_i - \sum_{i=3}^3 n_i \mu_i^*]_I + [\sum_{i=3}^3 n_i \mu_i - \sum_{i=3}^3 n_i \mu_i^*]_S \\ \Delta_{SAB}G &= [\sum_{i=3}^3 n_i (\mu_i - \mu_i^*)]_I + [\sum_{i=3}^3 n_i (\mu_i - \mu_i^*)]_S \quad (47) \\ \Delta_{SAB}G &= [n_{PEG}(\mu_{PEG} - n_{PEG}^*) + n_{Triton}(\mu_{Triton} - n_{Triton}^*) + n_{\acute{a}gua}(\mu_{\acute{a}gua} - \\ & n_{\acute{a}gua}^*)]_I + [n_{PEG}(\mu_{PEG} - n_{PEG}^*) + n_{Triton}(\mu_{Triton} - n_{Triton}^*) + \\ & n_{\acute{a}gua}(\mu_{\acute{a}gua} - n_{\acute{a}gua}^*)]_S\end{aligned}$$

Onde n_i é a quantidade de substância e μ_i e μ_i^* são os potenciais químicos de cada componente em na fase superior (S) ou inferior (I) e puro, respectivamente.

O estado de equilíbrio mais estável do sistema para formação dos SABs será sempre a minimização da energia livre de Gibbs do sistema. Dessa forma quando o sistema se encontra em apenas uma fase é porque neste estado de equilíbrio sua energia livre é mínima tomando como referência os componentes puros. Ao ocorrerem alterações no sistema, sejam elas de origem entálpicas ou entrópicas, procurará uma nova configuração que assuma um menor valor da energia livre, como, por exemplo a formação de duas fases em equilíbrio (SILVA; LOH, 2006). Sabe-se que o termo entálpico está associado às diferentes interações que possam ocorrer na mistura associadas à formação e rompimento de diferentes interações que ocorrem durante a troca de matéria entre as fases do SAB. Já o termo entrópico está relacionado as mudanças configuracionais que podem ocorrer nas fases, ou seja, o número de possibilidades de arranjar as moléculas da mistura na fase superior e na fase inferior.

Em um dado SAB, o número de fases é conhecido (duas fases), bem como a composição global, a temperatura e a pressão. A determinação da composição e quantidade de cada

componente nas fases em equilíbrio pode ser feita de duas maneiras: pelo cálculo do valor mínimo da energia de Gibbs e pela utilização do critério de igualdade dos potenciais dos componentes nas fases em equilíbrio tomando como referência o potencial de cada componente em seu estado puro. Neste sentido a literatura descreve vários modelos aplicados satisfatoriamente para descrever as interações em SABs (DIAS et al., 2020; WESSNER; NOWACZYK; BRANDENBUSCH, 2020; ZHOU et al., 2020).

Nesse trabalho utilizou-se a teoria configuracional de rede descrita pela primeira vez por Flory e Huggins, que dão nome à abordagem clássica de descrição de SABs. Esse foi o modelo pioneiro na representação termodinâmica de sistemas poliméricos e é a base a partir do qual boa parte dos modelos subsequentes do tipo rede foram deduzidos (FLORY, 1953). Apesar de simples e de ser resultado de um desenvolvimento que leva em conta hipóteses ousadas, o modelo consegue descrever aspectos importantes e inerentes às soluções poliméricas, o que lhe confere a utilidade prática responsável por fazer com que seja um dos modelos mais usados na área até hoje (ARORA et al., 2018; SADEGHI et al., 2018).

O modelo teórico para a variação da entropia configuracional da mistura de um polímero em solvente é complexo, sendo importante ressaltar o fato das unidades do polímero estarem sequencialmente conectadas neste modelo, o que gera uma restrição na variação de entropia configuracional do sistema em relação à misturas de moléculas simples. Esse modelo tem se mostrado adequado na descrição da composição das fases de sistemas semelhantes aos descritos neste trabalho formados por PEO e Triton X-100, por isso foi escolhido para ser estudado aqui (LIU; WU; ZHAO, 2015).

3.2 SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS MICELARES (SABMs)

Particularmente, os sistemas aquosos bifásicos micelares, SABMs, tem o surfactante como um de seus constituintes, apresentam características de auto organização formando agregados em solução trazem aos SABs mais tradicionais novas perspectivas no sentido de ampliar e otimizar as possibilidades de aplicação. Devido as características mais hidrofóbicas que o ambiente micelar proporciona nas fases, os SABM, em especial os formados por surfactantes não iônicos do tipo Triton, têm sido usados em aplicações de recuperação de proteínas de membranas que apresentam elevada hidrofobicidade (VICENTE et al., 2014). Essa classe de SABs tem elevada demanda de pesquisa por apresentarem características mais amenas para extração/purificação e/ou pré-concentração de biomateriais com relação aos tradicionais

SAB formados misturas de polímeros (geralmente com elevada viscosidade) ou por polímero + sal (no qual as elevadas concentrações de sais podem afetar a atividade de biomateriais) (ULLOA et al., 2012). Em SABM, os surfactantes, se distribuem desigualmente nas fases, tornando a fase rica em micelas mais hidrofóbica, permitindo assim uma maior solubilidade de moléculas hidrofóbicas nesta fase.

Recentemente os SABM formados por surfactantes não-iônicos com os da classe Triton X tem se destacado devido a características de interesse em processo de separação como a facilidade de segregação em fases. Contudo ainda são poucos os estudos descritos na literatura com esse tipo de sistema. A descrição dos SABM surge na literatura especializada em 2006 com o trabalho de Hong-Guo Xie. sobre a separação seletiva de proteínas de membrana, onde é utilizado o surfactante Triton X-100 (XIE; WANG; SUN, 2006) . Mais recentemente Liu, Wu e Dai (2012) relataram o uso de SABM formado por Triton X-100 e PEO 20000 para a separação de aminoácidos de origem animal. Além disso, há dois trabalhos de aplicação de SABM formados por Triton X-114 + bissulfito de sódio + água e por Triton X-100/X-114 + PDS + água, que foram utilizados para extração do caldo fermentativo e purificação do ácido clavulânico, um dos principais antibióticos clínicos existentes (SANTOS et al., 2011; SILVA et al., 2015).

As propriedades interfaciais dos SABs formados por polímero/surfactante são governadas por muitas variáveis, como a conformação e rigidez dos polímeros, o tipo de surfactante, a natureza da interface, pH, força iônica, temperatura e a formação de complexos. Neste sentido se torna evidente a necessidade de estudar as interações que governam esses sistemas para conhecê-los no âmbito microscópico. Sabe-se que a interação polímero/surfactante depende principalmente de três aspectos: densidade de carga das cadeias, hidrofobicidade e caráter iônico do surfactante, e das interações (eletrostática, Van der Waals, ligação de hidrogênio) entre as cadeias poliméricas e as moléculas de surfactante ou de suas micelas. Assim, a formação de agregados de polímero-surfactante em solução aquosa é mediada por um equilíbrio complexo entre diferentes interações atrativas e repulsivas que dependem da natureza química dos polímeros e do surfactante (LANGEVIN, 2009). Os mecanismos das ligações não covalentes envolvidas na formação dos complexos polímero/surfactante, sugerem que as interações das suas micelas envolvem fatores estéricos, a liberação de moléculas de água e de contra íons dos locais onde ocorre a ligação. Dessa forma espera-se que ocorram interações favoráveis apenas quando estão presentes grupos específicos nas moléculas de polímero e surfactante (GUZMÁN et al., 2016). A complexidade de sistemas constituídos por polímeros e

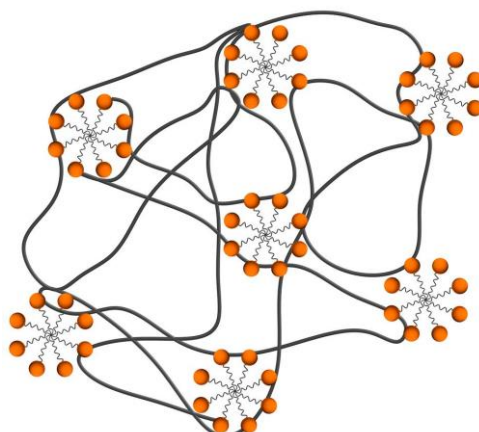
surfactantes bem como sua aplicação em uma variedade de produtos tecnológicos torna o estudo da interação entre estes dois compostos um alvo de interesse para desenvolvimento de pesquisas. Neste sentido, as primeiras investigações envolvendo sistemas formados por um polímero e um surfactante foram registradas na década 50, com destaque para as descobertas de Saito e Yukawa (1969) que propôs mecanismos de interação polímero-surfactantes que são referenciados ainda hoje.

Nas décadas seguintes inúmeros trabalhos descreveram características gerais do comportamento de sistemas polímero-surfactante que são apresentadas a seguir. Quando na presença de um polímero em meio aquoso, surfactantes são capazes de agregar-se em uma concentração menor do que sua cmc, num processo em que o polímero facilita o fenômeno de auto-associação do surfactante (OLOFSSON; LOH, 2009). Esta concentração, que indica o início da ligação do surfactante ao polímero, é denominada concentração de agregação crítica (cac). A concentração na qual a cadeia do polímero torna-se saturada pelo surfactante é também uma concentração crítica importante para caracterizar o processo de interação polímero-surfactante, sendo denominada concentração de saturação (C_2). Tanto a cac quanto a C_2 dependem de vários fatores: estrutura do polímero, hidrofobicidade e carga do surfactante, presença de aditivos e temperatura (FROEHNER; BELARMINO; ZANETTE, 1998; NIZRI et al., 2008). Vale destacar que o valor de C_2 varia linearmente com a concentração de polímero no sistema, ao passo que a cac independe deste parâmetro (DAI; TAM, 2001).

A primeira proposta a ganhar força quanto a morfologia dos agregados foi feita por Cabane (1977) que a partir de medidas de ressonância magnética nuclear em sistemas constituídos por PEO, e SDS, sugeriu que os agregados PEO-SDS poderiam ser descritos como micelas mistas consistindo de uma pequena parte de segmentos de óxido de etileno adsorvidos sobre a superfície de agregados de SDS, Figura 14.

O autor ainda propôs que alguns dos segmentos de PEO estariam adsorvidos na interface água micela, enquanto a maior parte da cadeia do polímero se encontra em uma conformação enovelada, interagindo com as moléculas do solvente. Sabe-se que muitos autores consideram o termo adsorção inapropriado para a região que separa as cabeças dos surfactantes e a água visto que os agregados formados pelas moléculas de surfactante em solução não se comportam de forma estática. Não existe uma superfície bem definida onde o fenômeno de adsorção ocorreria. Assim, o termo adsorção não deve ser usado para tratar fenômenos desse tipo, pois, o que ocorre é um mecanismo no qual alguns segmentos EO (oxietileno) se interpenetram no agregado formado pelas moléculas de surfactante (NARAYANAN, 2008).

Figura 14 – Representação bidimensional da estrutura dos agregados PEO-SDS proposta por Cabane.



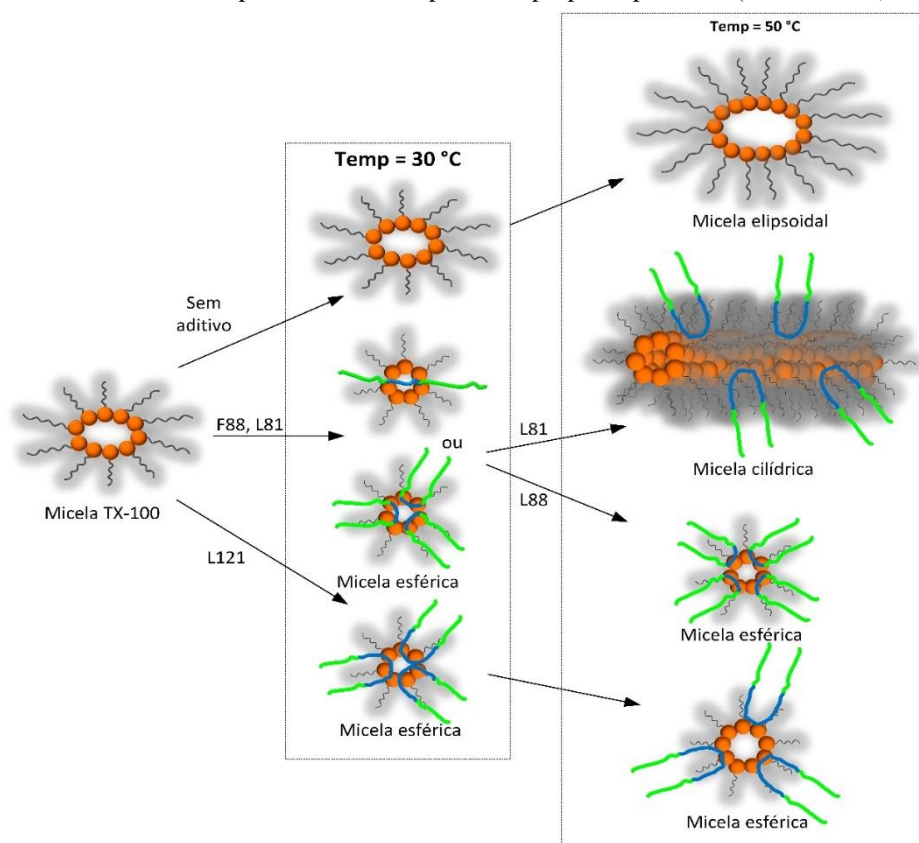
Fonte: Adaptado de CABANE, 1977.

Em 1985 Nagarajan e coautores (1985) descreveram um modelo que considera que os segmentos poliméricos presentes na superfície micelar penetram na região ocupada pelas cabeças hidrofílicas do surfactante e protegem parcialmente a área de contato entre o núcleo de hidrocarboneto micelar e a água. Ela considera este efeito a principal força motriz da complexação. Outro modelo proposto por Ruckenstein, Huber e Hoffmann (1987) pressupõe que a aproximação do polímero à superfície micelar induz mudanças no microambiente ao redor das micelas, que passa a ser de moléculas de água para uma solução aquosa de polímero, já que os segmentos de polímeros são menos hidrofílicos que a água. Essa mudança provoca uma diminuição da energia livre interfacial entre o núcleo de hidrocarboneto micelar e o solvente, caracterizando-se como a principal força motriz da ligação do polímero às micelas do surfactante.

Polímeros não iônicos solúveis em água podem interagir com agregados de surfactantes de várias maneiras: (1) as ligações de hidrogênio podem levar as cadeias poliméricas a serem absorvidas no *core* hidrofóbico das micelas de surfactantes; (2) alguns segmentos poliméricos podem penetrar em grupos hidrofílicos de agregados de surfactantes que também são ativados por ligação de hidrogênio; (3) a cadeia polimérica também pode passar através do núcleo hidrofóbico da micela e formar agregados (QIAO; EASTEAL, 1998). As inúmeras possibilidades de agregados e conformações que estes podem assumir e conseqüentemente as interações que governam o equilíbrio dinâmico presente nas misturas que envolvem formação de agregados ainda não é algo bem estabelecido nos dias atuais e muitos estudiosos se concentram em investigar lacunas que ainda estão em aberto no comportamento de sistemas autoorganizados.

Um modelo atual para a formação de agregados envolvendo polímero/surfactante foi proposto por Patel et al. (2015) no qual utilizaram as técnicas de ponto de nuvem (PN), espalhamento dinâmico de luz (DLS) e espalhamento de nêutrons em baixo ângulo (SANS) para estudar interações envolvendo Triton X-100 e os polímeros não iônicos polipropileno glicol (PPG) e polietilenoglicóis (PEOs) e copolímeros tribloco PEO-PPG-PEO e PPG-PEO-PPG. Os autores inferiram que os polímeros alteram de formas diferentes o formato e tamanho das micelas que são diretamente afetadas pela temperatura. A Figura 15 ilustra as diversas formas e tamanhos que os agregados podem assumir considerando as possibilidades citadas acima.

Figura 15 - Modelo de complexo surfactante/polímero proposto por Patel (PATEL et al., 2015).



Fonte: adaptado de PATEL et al., 2015.

De acordo com a Figura 15, os autores encontraram que na ausência dos polímeros, as micelas de Triton X-100 são elipsoidais a 30 °C, e aumentam sua elipticidade significativamente em temperaturas mais altas (50 °C). As micelas elipsoidais de Triton X-100 transformam-se em micelas esféricas por adição de copolímeros triblocos hidrofílicos (F88, F108). Os copolímeros triblocos hidrofóbicos de baixo peso molecular, como L61 e L81 oferecem um crescimento micelar considerável em altas temperaturas. Por outro lado, o

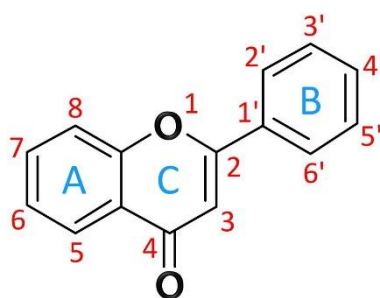
crescimento micelar não ocorreu nas micelas para o sistema contendo Triton X-100 e copolímeros hidrofóbicos de alto peso molecular, L101 e L121, mesmo a uma temperatura mais alta.

3.3 FLAVONOIDES

Os flavonoides constituem uma ampla classe de compostos distribuída no reino vegetal, derivados de flavonas encontradas em vacúolos de células de todos os tipos de plantas. Esses compostos têm atraído interesse em diversos segmentos de pesquisa, destacando-se as indústrias farmacêuticas, alimentícias e cosméticas (MILANI et al., 2018). Isso se deve as suas propriedades antioxidantes, antivirais e principalmente antitumorais (ADHIKARI et al., 2019; LIU et al., 2018; MOON et al., 2018; SOUZA et al., 2018). Além disso, pesquisas recentes tem apostado no uso destes compostos para o tratamento de doenças graves como, por exemplo, AIDS (COLE et al., 2016).

Estruturalmente os flavonoides compõem um grupo de substâncias de baixo peso molecular e cuja estrutura básica é formada por 15 carbonos distribuídos em dois anéis aromáticos (A e B) interligados via carbono heterocíclico do pirano, que pode conter um grupo carbonila, denominado anel C, como mostra a Figura 16 (ISODA et al., 2014). Além disso, estas estruturas podem ser encontradas em sua forma livre (aglicona) ou ligados a açúcares (glicosídeos).

Figura 16 - Representação da estrutura geral dos flavonoides.

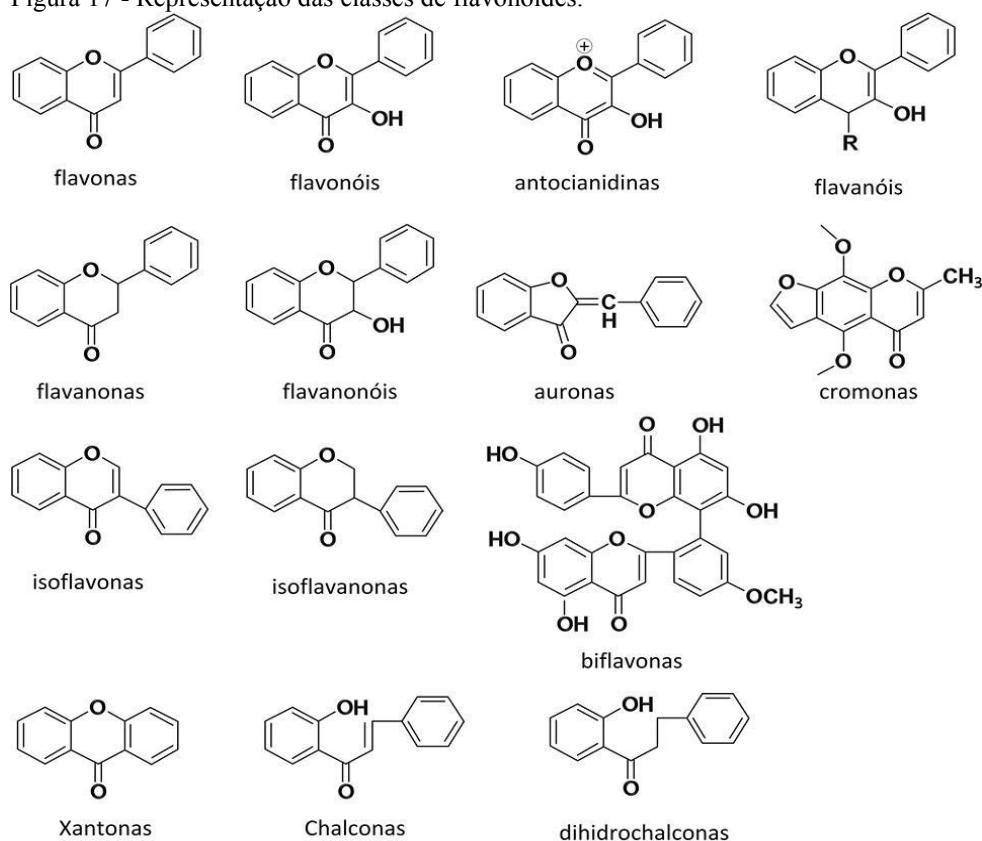


Fonte: do autor

De acordo com o padrão de substituição os flavonoides podem ser classificados em diferentes subclasses, fornecendo uma gama diversificada de derivados (ISODA et al., 2014). A forma mais convencional de classificação dos flavonoides é pelo grau de oxidação e posição de conexão do anel B, como mostra a Figura 17.

Dentre as classes representadas na Figura 17, as flavonas e flavonóis contêm o maior número de compostos que constituem os flavonoides. A quercetina, por exemplo, pertence à classe flavonol e tem sido amplamente estudada (XUE et al., 2017). A propriedade antioxidante dos flavonoides é uma das mais exploradas na literatura devido a sua capacidade de combater radicais livres. Existem três requisitos na estrutura química dos flavonoides possivelmente responsáveis pela atividade de neutralização de radicais exercida por esta classe de compostos: presença do grupo orto-dihidroxi ou grupo catecol no anel B (Figura 16), fator que confere uma maior estabilidade à forma radicalar, pois contribui para a deslocalização dos elétrons; ligação dupla conjugada com a função 4-oxo, no qual aumenta a deslocalização eletrônica a partir do anel B, e por último a presença de grupos hidroxilo nas posições 3 e 5 com função oxo, que promove a deslocalização eletrônica do grupo 4-oxo para estes dois substituintes.

Figura 17 - Representação das classes de flavonoides.

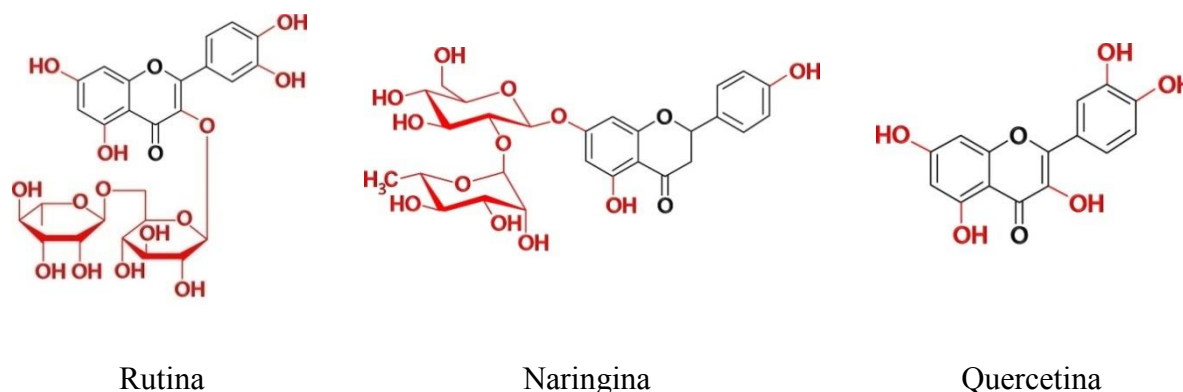


Fonte: Adaptado de ISODA et al., 2014.

A atividade antioxidante de um flavonoide é, então, determinada pelo anel B, enquanto que a restante estrutura base tem apenas uma pequena influência. Isto se verifica devido a uma maior capacidade elétron doadora deste anel, havendo uma maior influência da restante

estrutura base com o decréscimo de atividade antioxidante do anel B. O arranjo espacial dos substituintes presentes na molécula torna-se um fator que contribui também com bastante peso para a atividade antioxidante destes componentes. Em termos gerais, o fator que determina o caráter antioxidante de um dado flavonoide será a estabilidade redox do radical formado a partir do flavonoide original (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Os flavonoides naringina, rutina e quercetina serão destacados a seguir uma vez que foram alvos de estudos no presente trabalho, Figura 18.

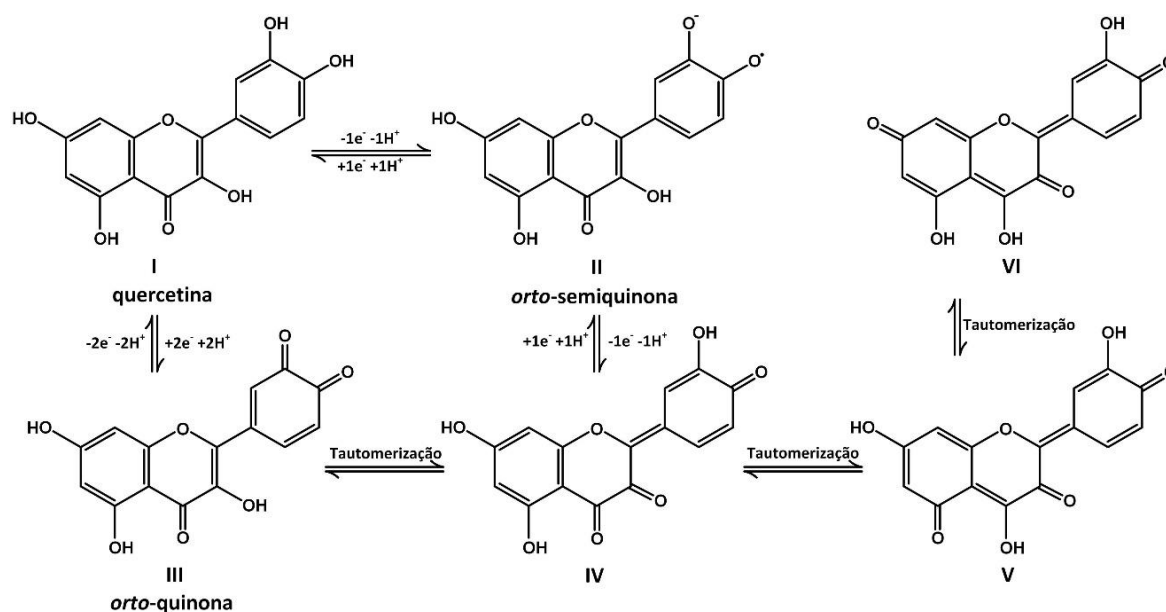
Figura 18 - Representação da estrutura molecular dos flavonoides.



Fonte: Do autor

A quercetina, 3,3', 4,5,7-pentaidroxiflavona, é um flavonoide natural pertencente a classe dos flavonóis encontrada principalmente em frutas como maçã, uva e vegetais como a cebola (LIN; ZHOU, 2018). Esta apresenta-se como um pó amarelo-alaranjado com fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_7$ e peso molecular de 302,24 g/mol, Figura 18. Esta torna-se anidra na faixa de temperatura de 93 a 97 °C e decompõe-se a 314 °C. A solubilidade da quercetina é baixa em água (cerca de 0,30-0,70 $\mu\text{g/mL}$), sendo mais solúvel em etanol a frio (3,45 $\mu\text{g/mL}$) e a quente (43,48 $\mu\text{g/mL}$); possui um pKa de 6,74 (ARSHAD et al., 2009). Esta molécula sofre auto-oxidação em soluções orgânicas ou em meio aquoso. A auto-oxidação é dependente do pH e da solução tampão utilizada, assim como da presença de oxidantes, e está relacionada com a dissociação dos grupos OH das moléculas, levando a um aumento do pH da solução. A quercetina se encontra na forma neutra ou catiônica em pH menores que 5, neutra ou de monovalente em pH 5 e na forma mono ou bivalentes em pH 7,5 (Figura 19) (TIMBOLA et al., 2006).

Figura 19 - Sequências de estruturas químicas de espécies quinonas para a quercetina de acordo com o meio e pH.



Fonte: Adaptado de TIMBOLA et al., 2006.

A quercetina é um dos flavonoides que possui maior biodisponibilidade em relação aos outros fitoquímicos além de representar o flavonol mais abundante encontrado na dieta humana com uma ingestão diária, estimada em 5 – 40 mg/dia por indivíduos que consomem grandes quantidades de frutas, vegetais, legumes e bebidas ricas em flavonoides, como exemplo as maçãs, cebolas e tomates (PATIL; PIKE; YOO, 1995). Tais características tornam este composto amplamente explorado na literatura devido às suas atividades biológicas benéficas à saúde, principalmente contra as doenças relacionadas ao coração. Kobori e colaboradores realizaram pesquisas epidemiológicas que mostraram que uma dieta rica em quercetina pode estar associada à diminuição dos danos cardiovasculares e aos riscos de câncer (KOBORI et al., 2015). Em função do seu interesse químico e propriedades biológicas, é um dos flavonoides mais estudados (LEOPOLDINI et al., 2011).

Segundo Raoul e colaboradores, a quercetina também provoca a inibição da oxidação de LDL (colesterol ruim), efeitos vasodilatadores independentes do endotélio, redução de marcadores inflamatórios, efeito protetor sobre o óxido nítrico e função endotelial sob condições de estresse oxidativo, prevenção de dano oxidativo e inflamatório neuronal e efeitos antiagregantes plaquetários (PATEL et al., 2018). Muitos trabalhos também têm objetivado o enriquecimento de alimentos com este flavonoide visando à prevenção de doenças crônicas, além do aumento da capacidade antioxidante (HAO et al., 2017; TERAQ, 2017).

A rutina, 3',4',5,7-tetrahidroxiflavona-3-β-D-rutinosídeo ou quercetina-3- rutinosídeo, é um flavonol que apresenta um dissacarídeo (raminose + glicose) ligado na posição 3 do anel pirano como se observa na Figura 18 (PEDRIALI, 2005). Este flavonoide é encontrado em diversos alimentos como uva, cebola, trigo, acerola, feijão vermelho, maçã e tomates, e bebidas como o vinho tinto e o chá preto (BECHO; MACHADO; GUERRA, 2009). A rutina apresenta uma ampla aplicação biotecnológica, destacando-se suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, neuroprotetora, nefroprotetora e hepatoprotetora (ALINEJAD; GHORBANI; SADEGHNIA, 2013; JANBAZ; SAEED; GILANI, 2002; YANG; GUO; YUAN, 2008) (SADEGHNIA et al., 2013; SELLOUM et al., 2003). Há relatos de que a complexação entre os sítios de coordenação da rutina com metais podem aumentar ainda mais suas propriedades biológicas. Por exemplo, IKEDA et al. (2015) estudaram o complexo rutina-zinco(II) e evidenciaram um aumento na capacidade antioxidante e aumento da atividade antitumoral sinérgica, prevenindo efeitos colaterais da quimioterapia.

Uma fonte rica em rutina é a fava d'anta (*Dimorphandra sp*), de onde é extraída em laboratório por meio do aquecimento por refluxo (SANTOS, 2006), e comercializada por grandes empresas exportadoras como a Merck, Sanrisil, Fitol e PVP. É utilizada para diversos fins, como por exemplo, agente vaso dilatador e antioxidante. Estas empresas exportam cerca de US\$ 20 milhões anuais de rutina. O mercado mundial consome 2.100 toneladas deste composto por ano e seu refinamento em subprodutos aumenta seu valor agregado em até 25 vezes (HOMMA; SE, 2001).

A Naringina,4',5,7-trihidroxi-flavanona-7-ramnoglicosídeo, representada na Figura 18, é uma flavonona glicosilada encontrada em frutas cítricas como a laranja. Assim como a quercetina e rutina, a naringina apresenta muitas atividades biológicas destacando-se seu potencial anti-inflamatório, cardioprotetor e antioxidante (FANG et al., 2006; MAGENDIRA MANI; ASHA; SADIQ, 2014; RAJADURAI; STANELY MAINZEN PRINCE, 2007).

Este flavonoide destaca-se em estudos que evidenciam a melhorada resistência ao estresse oxidativo e à inflamação e proteção contra a lesão de múltiplos órgãos. Por exemplo, Chuying Zhoue colaboradores identificaram a naringina como um potencial medicamento terapêutico para a doença hepática alcoólica, uma doença que pode progredir para esteatose hepática, fibrose progressiva, cirrose e até mesmo carcinoma se não tratada. Este estudo foi realizado através da investigação dos mecanismos reguladores da naringina no fígado e no corpo após a exposição ao álcool sob o sistema de larvas do peixe-zebra (ZHOU et al., 2019).

3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE FLAVONOIDES

Dada a grande relevância dos flavonoides sob o ponto de vista do potencial de aplicações, entra em questão o desafio de extrair esses compostos de suas fontes naturais de forma a maximizar fatores como eficiência e baixo custo evitando a degradação. Visando a melhor solução para este quesito, muitos estudos têm objetivado a busca por técnicas de extração que proporcionem condições que minimizem ou eliminem o uso de solventes orgânicos que apresentam elevada toxicidade e inflamabilidade impactando menos o ambiente.

A extração por solvente é a técnica mais tradicional de obtenção de flavonoides. Geralmente, antes da extração, o material passa por etapas de maceração, trituração e/ou liofilização, e, em seguida, colocado em contato com o solvente considerado mais adequado. Como flavonoides possuem alto caráter hidrofóbico, os solventes mais utilizados são orgânicos, como o metanol, etanol ou acetona (DAI; MUMPER, 2010; DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000; VANINI et al., 2009). Embora seja simples, essa técnica demanda grandes quantidades de solvente e um longo período de extração e em muitos casos com baixo rendimento. Com isso, técnicas mais elaboradas foram desenvolvidas para suprir as limitações existentes como a extração supercrítica, extração assistida por micro-ondas, micro-extração em fase sólida e extração assistida por ultrassom (DIMITRIESKA-STOJKOVIC; ZDRAVKOVSKI, 2003; MICHALKIEWICZ et al., 2008; WANG et al., 2010; YANG; ZHANG, 2008).

Na extração assistida por micro-ondas a energia de micro-ondas é usada para aquecer o solvente em contato com a amostra. Esse tipo de aquecimento faz com que seja necessário um menor tempo de extração quando comparado a outros métodos que utilizam aquecimento convencional (DAI; MUMPER, 2010; NGAMWONGLUMLERT; DEVAHASTIN; CHIEWCHAN, 2017). Isso ocorre pelo fato de que no aquecimento convencional é necessário um tempo para aquecer o recipiente contendo a amostra e só depois ocorrerá uma transferência de energia térmica para a solução, enquanto no aquecimento por micro-ondas a solução é diretamente aquecida (SPARR ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

A extração com fluido supercrítico utiliza um fluido submetido à pressão e temperatura acima de seu ponto crítico, modificando suas propriedades, tais como densidade e viscosidade. Estas mudanças tornam possível a capacidade de difusão do fluido que é definido como o estado no qual o líquido e o gás são indistinguíveis entre si, apresentando assim características tanto de um gás como de um líquido (HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006). O dióxido de

carbono (CO₂) é o fluido mais utilizado devido à sua baixa temperatura (31,3°C) e pressão críticas (72,9 atm), porém, o CO₂ supercrítico (pela sua baixa polaridade) possui um menor efeito nas extrações de moléculas de alta polaridade, podendo ser solucionado com a adição co-solventes como metanol e etanol nos processos (RAVENTÓS; DUARTE; ALARCON, 2002).

Em processos de extração por ultrassom faz-se uso de fenômenos físicos e químicos que são fundamentalmente diferentes em comparação com técnicas convencionais aplicadas no processamento de extração oferecendo vantagens em termos de rendimento, produtividade e seletividade. As ondas ultrassônicas de alta potência produzidas no banho de ultrassom causam mudanças físicas e químicas devido à variação de pressão, produzindo cavitação e microfluxos nos líquidos, aquecimento e ruptura nos sólidos e instabilidade na superfície da interface de sistemas líquido-líquido e líquido-gás (CHEMAT et al., 2011). Dentre os fatores que interferem na cavitação destacam-se a intensidade e a frequência produzidas pelo ultrassom. Dependendo desses fatores a produção de bolhas pode ocorrer com tamanhos diferentes, podendo provocar maior ruptura na superfície dos sólidos, acelerar o aquecimento e aumentar o fenômeno de transferência de massa, fazendo com que o método seja mais ou menos eficiente (BREITBACH; BATHEN; SCHMIDT-TRAUB, 2003). Inicialmente o ultrassom era utilizado apenas para limpeza de materiais, mas devido às suas propriedades, começou a ser aplicado para preparação de emulsão e suspensão, esterilização, desgaseificação de solventes e extração de plantas (BARBOZA e SERRA, 1992; CHEMAT et al., 2011).

Contudo, os métodos alternativos de extração supracitados ainda podem ser otimizados a partir de novas metodologias pois ainda apresentam desvantagens como baixo rendimento de extração, longo tempo de processamento, alta energia consumida e um potencial efeito destrutivo em componentes naturais devido à alta temperatura e pressão que são submetidos. Neste sentido, o presente trabalho propôs o uso de sistema aquoso bifásicos micelares (SABMs) como uma alternativa para a extração e purificação de biomoléculas. Estes têm sido estudados em escala piloto com sucesso na extração de várias biomoléculas tais como enzimas, alcalóides, antibióticos e proteínas (LIU, C. et al. 1998; LIU, Y. et al., 2016; ZHANG, W. et al.).

Acredita-se que SABMs avançam com relação as metodologias já existentes na literatura por promover extrações em baixas temperaturas, com uma técnica simples e utilizando solventes de baixa toxicidade e fácil recuperação ao final do processo. O uso de SABM formados pelo surfactante Triton X-100 para extração dos flavonoides naringina, quercetina e rutina é inédito nas bases científicas, apesar do desenvolvimento de novas tecnologias para este fim tem sido interesse da comunidade científica há mais de meio século.

Embora haja trabalhos com SABs na literatura que estudaram a extração de flavonoides, os componentes utilizados neste trabalho (Triton X-100 e PEO) são inéditos para extração de naringina, rutina e quercetina.

Em 2013, Zhang e colaboradores foram um dos pioneiros a utilizar SAB para extração de flavonoides. A partir de um sistema formado por etanol, K_2HPO_4 e água, foram extraídos os flavonoides genisteína e apigenina de raízes de guandu, obtiveram 93,8% e 94,01% de eficiência de extração, respectivamente. Um resultado relevante foi o estudo do efeito da temperatura sob a extração dos flavonoides, no qual a maior taxa de extração foi obtida em 50 °C. A eficiência de extração também aumentou com o aumento da concentração de etanol no SAB e os rendimentos de extração de genisteína e apigenina foram de $0,439 \pm 0,198$ mg/g e $0,207 \pm 0,113$ mg/g (ZHANG et al., 2013).

Em 2015, Wang e colaboradores conciliaram o uso de SAB para extrair e enriquecer simultaneamente flavonoides (pinostrobinina (PI) e pinostrobinina chalcona (PIC)) e estilbenos (ácido cajaninstilbeno (CSA) e a longistilina C (LLC)) das folhas de ervilha-de-pombo. Os componentes do SAB foram $(NH_4)_2SO_4$ e etanol, no qual os rendimentos de extração de CSA, PI, PIC e LLC foram 10,25, 5,02, 0,53 e 5,22 mg/g, respectivamente. Os autores consideraram a técnica um método alternativo para extração e enriquecimento simultâneos de compostos naturais em uma única etapa e destacaram que ela apresenta vantagens com relação aos métodos convencionais de extração (WANG et al., 2015).

Em 2016 Cordisco e colaboradores utilizaram sistemas aquosos bifásicos micelares para purificar isoflavonas de soja. A metodologia proposta teve como objetivo preservar o teor de proteínas da farinha de soja processada. Os ensaios extrativos foram realizados em SABM formado por Triton X-114 e tartarato de sódio, no qual a temperatura e o tempo foram avaliados como variáveis independentes. Sob condições otimizadas, 100 minutos e 33 °C de incubação, as isoflavonas foram purificadas com uma porcentagem de recuperação de 93 e um fator de purificação de quase 10. Mais importante, a amostra obtida apresentou uma proporção de aglicona superior à relatados por outras metodologias. Esses resultados abriram perspectivas para o uso de sistemas aquosos bifásicos micelares como metodologia integrativa para extrair, concentrar e purificar compostos com alto caráter hidrofóbico como as isoflavonas (CORDISCO et al., 2016).

Em 2017 Xie et al utilizaram SAB formado por etanol/ $(NH_4)_2SO_4$ acoplado ao microondas para extração e determinação simultânea de vitexina, isovitexina, orientação e isoiententina em *Crotalaria sessiliflora* L. Foram investigados os efeitos da composição do

SABM, temperatura e tempo de extração e proporção solvente/material sobre os rendimentos de extração dos flavonoides pela metodologia da superfície de resposta. As condições ótimas foram: 32% de etanol e 22% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, temperatura de extração de 80 °C, tempo de extração 8 minutos e proporção solvente/material de 50:1. Os quatro flavonoides foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção UV a 340 nm com faixas lineares (0,20–20,00 mg/L). Sob condições ideais, os rendimentos e recuperações de extração para os compostos vitexina, isovitexina, orientação e isoiententina em *Crotalaria sessiliflora* L. variaram entre 162,7-240,0 g/g e 94,14% -105,5%, respectivamente (XIE et al., 2017).

Em 2017 Francisca e coautores estudaram a extração dos flavonoides naringina e rutina a partir de duas classes de SAB, sistemas mais convencionais formados por copolímero + sal + água e sistemas formados por líquidos iônicos + copolímeros. O SAB composto por líquido iônico mostrou eficácia na separação dos flavonoides glicosilados, a partir da escolha adequada do ânion componente do líquido iônico, porém se mostraram menos eficazes em sua extração. Nos SAB formados por sais convencionais, o efeito de salting-out prevaleceu no equilíbrio de fases, levando a partição dos flavonoides em direção a fase rica em copolímero, permitindo assim maior eficiência na extração de ambos os flavonoides. A partir destes resultados, os autores realizaram o estudo em duas etapas: primeiro extraíram simultaneamente ambos os flavonoides a partir do SAB formados por copolímero e sal e na sequência separaram a naringina e rutina modulando o SAB a partir da adição de líquido iônico ao SAB (E SILVA et al., 2017).

A partir dos trabalhos descritos acima é possível inferir que dentre os estudos de extração de flavonoides com a metodologia de SAB, o sistema micelar ainda é muito pouco explorado. Entretanto o presente trabalho apresenta como hipótese o potencial dos SABM formados por Triton + PEO + água, como promissor em estudos de extração dos flavonoides. Estes sistemas se formam facilmente a partir de baixas concentrações dos componentes, além de propiciarem ambiente hidrofóbico em uma das fases do SABM.

4 OBJETIVOS

Os objetivos gerais e específicos dessa tese são descritos a seguir.

4.1 OBJETIVO GERAL

Foi objetivo geral neste trabalho obter sistemas aquosos bifásicos micelares (SABMs) formados por surfactantes do tipo Triton X-100 + PEO (10000 ou 35000 g mol⁻¹) + água. A partir dos dados de equilíbrio líquido-líquido levantados buscou-se contemplar três frentes de trabalho: estudo do comportamento de fases (macroscópico), dos aspectos interacionais dos componentes nas fases (nível molecular) e os estudos de partição de flavonoides (aplicação).

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Foram objetivos específicos no presente trabalho:

- a) obter curvas binodais pelo método turbidimétrico, a diferentes temperaturas, para as misturas formadas por Triton X-100 + PEO (10000 ou 35000 g mol⁻¹) + água;
- b) construir sistemas aquosos bifásicos micelares formados por Triton X-100 + PEO (10000 ou 35000 g mol⁻¹) + água a partir do planejamento sobre os dados da curva binodal obtidos previamente e quantificação dos componentes nas fases de cada um dos sistemas na condição de equilíbrio termodinâmico;
- c) avaliar a influência da temperatura sobre o comportamento de fases dos diferentes SABMs;
- d) avaliar o efeito da massa molar do PEO sobre a formação do SABM;
- e) modelar os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido dos SABMs obtidos;
- f) avaliar a consistência dos dados de equilíbrio ao longo de cada linha de amarração através das equações de Othmer-Tobias e Bancroft;
- g) estudar a influência dos surfactantes Triton X-100 e Tween 80 sobre o coeficiente de partição de flavonoides com demais propriedades termodinâmicas fixas;
- h) estudar a influência da composição dos componentes formadores dos SABMs sobre o comportamento de partição dos flavonoides naringina, quercetina e rutina com demais propriedades termodinâmicas fixas;

- i) estudar o efeito da massa molar do PEO sobre o comportamento de partição dos flavonoides no SABM;
- j) determinar os parâmetros termodinâmicos de transferência para o processo de partição dos flavonoides ($\Delta_{\text{trs}}G$, $\Delta_{\text{trs}}H$ e $\Delta_{\text{trs}}S$);
- k) avaliar o comportamento de partição dos flavonoides frente aos diferentes parâmetros de controle avaliados;
- l) estudo interacional entre Triton X-100 e PEO em meio aquoso por meio de técnicas de Ponto Nuvem, espectroscópicas de DLS e RMN de 1H .

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos utilizados para caracterização dos SABMs são descritos separadamente para cada uma das três partes que compõem essa tese.

5.1 PRIMEIRA PARTE - LEVANTAMENTO DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO E MODELAGEM

5.1.1 Materiais

Todos os reagentes utilizados nesse trabalho estão listados na Tabela 4.

Tabela 4 – Reagentes utilizados neste trabalho e suas características

Nome	Fornecedor	Pureza	Método de purificação
Polietileno glicol (4000 g mol ⁻¹)	Sigma-Aldrich, USA	0,99	-
Polietileno glicol (10000 g mol ⁻¹)	Sigma-Aldrich, USA	0,99	-
Polietileno glicol (20000 g mol ⁻¹)	Sigma-Aldrich, USA	0,99	-
Polietileno glicol (35000 g mol ⁻¹)	Fluka	0,99	-
Tween-80	Sigma-Aldrich, USA	0,98	-
Triton X-100	Sigma-Aldrich, USA	0,99	-
Água	-	-	Mili-Q (Milipore, USA)
Naringina	Sigma-Aldrich, USA	0,90	-
Quercetina	Sigma-Aldrich, USA	0,99	-
Rutina (trihidratada)	Fluka biochemical	0,99	-

Fonte: Do autor.

5.1.2 Obtenção da curva binodal

As curvas binodais foram determinadas pelo método de titulação turbidimétrica

(GÉCZY; GYARMATHI-TAMÁS, 1980). Cerca de 2 g de uma solução estoque de PEO com concentração conhecida (PEO 10000 = 50,00 % ou PEO 35000 = 15,00 %) foram titulados com alíquotas de 50 μ L de uma solução estoque concentrada de Triton X-100, ou vice-versa, até a ocorrência de turbidez na mistura. Em seguida, alíquotas de água (100 μ L) foram adicionadas à mistura até o desaparecimento completo da turbidez. O procedimento foi repetido várias vezes para obter um conjunto de pontos. Os procedimentos de titulação ocorreram em temperaturas controladas a $10,0 \pm 0,5$, $25,0 \pm 0,5$ e $40,0 \pm 0,5$ °C, utilizando banho termostático (TC 184 Tecnal, Brasil).

Todas as soluções e o solvente foram mantidos em banho termostático por tempo suficiente para garantir o controle rigoroso da temperatura. Finalmente, o posicionamento de cada uma das curvas turbidimétricas (curvas quase equilíbrio) obtidas foi comparado com os pontos binodais obtidos pela análise das fases de equilíbrio a uma dada temperatura. Essa comparação levou à estimativa de novos pontos para a binodal que foram verificados experimentalmente (massa total de 2,000g de mistura). Portanto, cada ponto da curva binodal foi determinado experimentalmente como estando localizado no limiar da composição que leva à turbidez da mistura. Os valores das composições das misturas foram determinados para cada ponto da curva binodal usando uma balança analítica (AG 220, Shimadzu, EUA) com uma incerteza de $1,0 \times 10^{-7}$ kg, expressos em porcentagem da fração mássica.

5.1.3 Estudo do equilíbrio líquido-líquido

O método é bem estabelecido e referenciado em trabalhos publicados anteriormente para a preparação de SABs (BAKHSHI; MOBALEGHOLESLAM, 2017; LEE et al., 2017). O procedimento para estudar o equilíbrio líquido-líquido consistiu em preparar, em triplicata, 5 SABMs, representando cinco linhas de amarração (LAs) distintas, com composições de diferentes misturas e aproximadamente 10,0 g cada. Essas misturas foram montadas a partir dos pontos de composição global, escolhidos simetricamente acima da curva binodal (região bifásica). As misturas para obtenção dos SABMs foram feitas em tubos Falcon de 15 mL, agitadas em vórtex e depois mantidas sob temperatura controlada ($283,15 \pm 0,05$, $298,15 \pm 0,05$ e $313,15 \pm 0,05$ K) por 24 horas, até que as fases se tornassem perfeitamente transparentes. As fases superior e inferior dos SABMs foram então coletadas, tendo o cuidado de não coletar material próximo à interface, diluídas e o conteúdo dos componentes em cada fase foi determinado conforme descrito na seção 5.1.4.

5.1.4 Construção dos diagramas de fase

Após coletar alíquotas das fases superior e inferior sob a condição de equilíbrio e suas respectivas diluições, o PEO, Triton X-100 e o teor de água foram determinados por diferentes métodos e expressos como porcentagem de fração mássica. Primeiramente, o conteúdo de surfactante não-iônico foi determinado por espectroscopia UV-Vis a 271nm de comprimento de onda usando um espectrofotômetro UV-VIS (BIOCHROM, Inglaterra). Em seguida, o conteúdo do PEO (10000 ou 35000 g mol⁻¹) foi determinada por refratometria 25,0 °C usando um refratômetro de bancada (Abbe AR1000C, Brasil) com uma incerteza de ± 0,0002. A determinação do conteúdo de PEO nas fases foi realizada por refratometria seguindo protocolos já bem estabelecidos na literatura para esse tipo de análise (LEMOS et al., 2011; ZAFARANI-MOATTAR; SHEKAARI; JAFARI, 2017). O método consiste em considerar que, para soluções aquosas diluídas contendo um polímero e um surfactante, o índice de refração da solução é uma propriedade aditiva de acordo com a Equação (48).

A Equação (48) relaciona os valores das fases com a concentração de PEO e Triton X-100 presente em cada uma delas, expresso em porcentagem de fração mássica w_1 e w_2 , respectivamente.

$$n = a_0 + a_1w_1 + a_2w_2 \quad (48)$$

A determinação dos parâmetros foi obtida por ajuste multilinear e os valores estimados para os coeficientes foram: $a_0 = 1,3324$ (água), $a_1 = 0,1480$ (PEO 10000 g mol⁻¹) ou $0,1335$ (PEO 35000 g mol⁻¹) e $a_2 = 0,1346$ (Triton X-100). O desvio padrão da porcentagem mássica do polímero foi da ordem de 0,0197 e 0,0152 para os SABMs formados por PEO 10000 e 35000 g.mol⁻¹, respectivamente.

A porcentagem de fração de água presente nas fases foi obtida por diferença ($100w_3 = 100 - 100w_1 - 100w_2$), Onde w_i representa a porcentagem da fração mássica de PEO (1), Triton X-100 (2) e água (3), respectivamente.

O comprimento da linha de amarração (CLA), para as diferentes composições, foi calculado de acordo com a Equação 26.

Finalmente, as inclinações das linhas de amarração (ILA) foram calculadas como a razão entre a variação da concentração de polímero e surfactante em cada fase dos SABMs, de acordo com a Equação 27.

5.1.5 Tratamento Teórico Dos Dados

5.1.5.1 Correlação das curvas binodais

As equações empíricas listadas abaixo (Equações 49 a-e) foram usadas no presente trabalho para ajustar os dados experimentais de curvas binodais em diferentes temperaturas dos SABs formados por PEO 10000 ou 35000 g mol⁻¹ + Triton X-100 + água.

$$w_1 = a_0 + a_1 \ln(w_2) - a_2 w_2 \quad (49a)$$

$$w_1 = a_0 \exp(a_1 w_2^{0.5} - a_2 w_2^3) \quad (49b)$$

$$w_1 = a_0 + a_1 w_2 - a_2 w_2^{0.5} \quad (49c)$$

$$w_1 = \exp(a_0 + a_1 w_2 + a_2 w_2^{0.5}) \quad (49d)$$

$$w_1 = 1/(a_0 + a_1 w_2 + a_2 w_2^{0.5}) \quad (49e)$$

Essas equações têm sido amplamente utilizadas para o ajuste da curva binodal de tais sistemas (CARVALHO et al., 2019). Nestas equações, os símbolos a_i , com $i = 0, 1, 2$, são os parâmetros de ajuste. Geralmente, esses parâmetros devem ser determinados para cada temperatura (10, 25 e 40 °C). Na tentativa de contornar essa dificuldade, pode-se tentar substituir os parâmetros de temperatura dependentes por $a_i = a_i^\alpha a_i^\beta (T - 273,15)$, em que são parâmetros de temperatura independentes. O algoritmo de otimização Simplex foi utilizado para encontrar os melhores parâmetros que ajustam as curvas binodais experimentais às Equações empíricas (49 a-e). Nesse caso, a função objetivo (Equação 50) foi utilizada como critério de melhor ajuste:

$$F = \frac{1}{3} \sum_{j=1}^3 \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (w_1^{\text{cal}}(w_2^i, T_j) - w_1^{\text{exp}}(w_2^i, T_j))^2 \right]^{1/2} \quad (50)$$

Onde os sobrescritos cal e exp representam o valor calculado e o experimental. O parâmetro N representa o número de dados binodais em cada temperatura.

5.1.5.2 Correlação de dados das linhas de amarração (LAs)

Os modelos de Othmer-Tobias (1942), Bancroft (1942), Hand (1930) e Setschenow (1889), Equações (51 a-d), respectivamente, têm sido amplamente utilizados para correlacionar as composições de linhas de amarração de alguns SABMs semelhantes com sucesso. Cada uma dessas equações pode ser facilmente ajustada aos dados experimentais quando colocados na forma linear:

$$\ln\left(\frac{1-w_1^s}{w_1^s}\right) = a_1 + b_1 \ln\left(\frac{1-w_2^i}{w_2^i}\right) \quad (51a)$$

$$\ln\left(\frac{w_3^i}{w_2^i}\right) = a_2 + b_2 \ln\left(\frac{w_3^s}{w_1^s}\right) \quad (51b)$$

$$\ln\left(\frac{w_2^s}{w_1^s}\right) = a_3 + b_3 \ln\left(\frac{w_2^i}{w_3^i}\right) \quad (51c)$$

$$\ln\left(\frac{c_1^s}{c_1^i}\right) = a_4 + b_4(c_2^i - c_2^s) \quad (51d)$$

onde a_i e b_i , com $i = 1, 2, 3$ e 4 , são os parâmetros de ajuste cujos valores foram determinados por regressão linear de mínimos quadrados. A variável w_i^α é uma composição do componente i na fase α expressa em porcentagem de fração mássica, com $i = 1$ (PEO 10000 ou 35000), 2 (Triton X-100) ou 3 (água) e $\alpha = s$ (superior) ou i (inferior). Na equação $12c_i^\alpha$ representa a molalidade do i -ésimo componente na fase α .

5.1.5.3 Modelagem

Para descrever o comportamento das fases, foi utilizado o modelo de Flory-Huggins (1971). Este modelo demonstrou ser adequado para descrever a composição de fases no sistema PEO 20000 + Triton X-100 + água, análogo aos sistemas estudados neste trabalho (LIU; WU; ZHAO, 2015). No modelo de Flory-Huggins, o excesso de energia molar de Gibbs para um sistema multicomponente é dado por (KANG; SANDLER, 1987; LIU; WU; ZHAO, 2015):

$$\frac{\Delta G}{RT} = \left(\sum_i \frac{\varphi_i}{m_i} \ln \varphi_i + \sum_i \sum_{j>i} \lambda_{ij} \varphi_i \varphi_j \right) \sum_i n_i m_i \quad (52)$$

em que φ_i e m_i são, respectivamente, a fração volumétrica do componente i e a razão do volume molar do componente i pelo volume molar de referência, tomado aqui como o volume molar

da água. A quantidade λ_{ij} é o parâmetro de interação entre o componente i e j , e R , T e n_i são, respectivamente, a constante dos gases, a temperatura e a quantidade de matéria do componente i .

Diferenciando a Equação (53) com respeito às quantidades de matéria obtêm-se as expressões para as diferenças de potenciais químicos:

$$\frac{\Delta\mu_i}{RT} = \ln\varphi_i + 1 - \varphi_i - m_i \sum_j \frac{\varphi_j}{m_j} + m_i \sum_j \lambda_{ij}\varphi_j - m_i \sum_j \sum_{k>j} \lambda_{jk}\varphi_j\varphi_k \quad (53)$$

Na condição de equilíbrio os potenciais químicos de cada componente em ambas as fases devem ser iguais para cada espécie i , resultando em:

$$\Delta\mu_i^s = \Delta\mu_i^i \quad i = 1,2,3 \quad (54)$$

em que os sobrescritos s e i referem-se a fase superior e inferior, respectivamente.

Um caminho para encontrar a composição das fases, equivalente a satisfazer a Equação 55 tem sido proposto por Liu; Wu e Zhao (2015). O método baseia-se na minimização da seguinte função objetivo:

$$\min_{\varphi_1^t, \varphi_2^t} \sum_{i=1}^2 f_i \quad (55)$$

Em que:

$$f_1 = \left(\ln \frac{1 - \varphi_1^s - \varphi_2^s}{(1 - M - N) + \varphi_1^s + \varphi_2^s} + (\lambda_{13} + \lambda_{23} - \lambda_{12})(2\varphi_2^s - N) - \frac{1}{m_1} \ln \frac{\varphi_1^s}{M - \varphi_1^s} + 2\lambda_{13}(2\varphi_1^s - M) \right)^2 \quad (56)$$

E

$$f_2 = \left(\ln \frac{1 - \varphi_1^t - \varphi_2^t}{(1 - M - N) + \varphi_1^t + \varphi_2^t} + (\lambda_{13} + \lambda_{23} - \lambda_{12})(2\varphi_1^t - M) - \frac{1}{m_2} \ln \frac{\varphi_2^t}{N - \varphi_2^t} + 2\lambda_{23}(2\varphi_1^t - N) \right)^2, \quad (57)$$

No modelo, $M = \varphi_{1,\text{exp}}^S + \varphi_{1,\text{exp}}^I$ e $N = \varphi_{2,\text{exp}}^S + \varphi_{2,\text{exp}}^I$ são as variáveis independentes e φ_1^S e φ_2^S são as variáveis dependentes.

Existem várias complicações (armadilhas) na resolução numérica do problema, dada a existência da solução trivial, $\varphi_i^S = \varphi_i^I = \varphi_i$, onde φ_i é a fração volumétrica global do componente i . Para contornar esse problema, a função objetivo foi modificada introduzindo no denominador a penalidade $(\varphi_i^S - \varphi_i)^4$ (HSU; PRAUSNITZ, 1974).

$$\min_{\varphi_1^S, \varphi_2^S} \sum_{i=1}^2 \frac{f_i}{(\varphi_i^S - \varphi_i)^4} \quad (58)$$

A Equação 58 deve ser resolvida considerando a restrição $0 < \varphi_1^S, \varphi_2^S < 1$ e $\varphi_1^S + \varphi_2^S < 1$ para cada linha de amarração para λ_{ij} e frações volumétricas totais $M = \varphi_{1,\text{exp}}^S + \varphi_{1,\text{exp}}^I$ e $N = \varphi_{2,\text{exp}}^S + \varphi_{2,\text{exp}}^I$ dadas. Ao final da minimização obtêm-se as quantidades $\varphi_1^I = M - \varphi_1^S$, $\varphi_2^I = N - \varphi_2^S$, $\varphi_3^S = 1 - \varphi_1^S - \varphi_2^S$ e $\varphi_3^I = 1 - \varphi_1^I - \varphi_2^I$.

Nesse trabalho os parâmetros λ_{ij} foram encontrados pelo algoritmo de ponto interior minimizando a soma dos quadrados dos resíduos abaixo:

$$ssr = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^5 \left[(w_{i,j,\text{exp}}^S - w_{i,j,\text{cal}}^S)^2 + (w_{i,j,\text{exp}}^I - w_{i,j,\text{cal}}^I)^2 \right] \quad (59)$$

em que $w_{i,j}$ são as frações mássicas do componente i na linha de amarração j e os subscritos exp e cal referem-se as quantidades experimentais e calculadas, respectivamente.

A relação entre as frações volumétricas e as frações mássicas foram expressas por:

$$\varphi_i = \frac{w_i \times m_i}{M_i} / \sum_i \frac{w_i \times m_i}{M_i} \quad (60)$$

$$w_i = \frac{\varphi_i \times M_i}{m_i} / \sum_i \frac{\varphi_i \times M_i}{m_i} \quad (61)$$

em que M_i é a massa molar.

As quantidades $w_{i,j,\text{cal}}^k$ foram calculadas a partir de $\varphi_{i,j,\text{cal}}^k$, obtidas pela solução do problema dado pela equação 59 pelo método Simplex.

A escolha de um sistema com moléculas únicas ou moléculas micelares é feita trocando a massa molar do Triton X-100 por uma massa molar apropriada (LIU; WU; ZHAO, 2015). Essa alteração implica na mudança dos valores do volume molar \bar{V} e nos valores de m_2 . As quantidades apresentadas na Tabela 5 foram usadas para o cálculo do volume molar ($\bar{V} = M/d$).

Tabela 5 - Propriedades físicas dos componentes

Componente	Massa Molecular (g mol ⁻¹)	Densidade (g mL ⁻¹)
Triton X-100 (molécula única)	647	1,07 (25 °C)
Triton X-100 (molécula micelar)	90000	1,07 (25 °C)
10000	10000	1,2 (20 °C)
PEO 35000	35000	1,2 (20 °C)
Água	18	1,0

Fonte: Do autor.

5.2 SEGUNDA PARTE - ESTUDO DA INTERAÇÃO TRITON X-100/ POLIETILENOGLICOL

5.2.1 Determinação da temperatura de ponto nuvem

Para determinar a temperatura de ponto nuvem da mistura Triton X-100 + PEO + água preparou-se soluções aquosas de surfactante e PEO 35000 g mol⁻¹ com concentração específica e estas foram aquecidas ou resfriadas até que se tornassem turvas ou límpidas. O ponto nuvem foi determinado visualmente observando a temperatura na qual a turbidez foi observada ou desapareceu. O experimento foi feito em triplicata e a média das temperaturas foi adotada como ponto nuvem. O mesmo procedimento foi realizado adicionando alíquotas de soluções aquosas de PEO 35000 g mol⁻¹ à solução de Triton X-100. O experimento foi feito em variadas concentrações de Triton X-100 e PEO 35000.

5.2.2 Espalhamento dinâmico de Luz (DLS)

Medidas de DLS foram realizadas para inferir sobre a forma, o tamanho médio e distribuição dos agregados em solução de Triton X-100 na presença e na ausência de PEO 10000 e 35000 g mol⁻¹. Para tal utilizou-se um equipamento Zetasizer Nano ZS, Malvern, com laser He-Ne no comprimento de onda de 633 nm e potência de 4 mW. As medidas foram coletadas com auxílio do sistema NIBS, com ângulo de 173°, sendo previamente filtradas com filtro de 0,22 µm. As concentrações das misturas estudadas estão discriminadas conforme a Tabela 6.

Tabela 6 – Concentrações de Triton X-100 e PEO nas misturas aquosas avaliadas por DLS.

Amostra	[Triton X -100]	[PEO]
1	12 Mm	0,1 % (0,1 mM)
2	12 Mm	1,0 % (1 mM)
3	12 Mm	1,4 % (1,4 mM)
4	12 Mm	2,8 % (2,8 mM)
5	12 Mm	5,0 % (5,0 mM)
6	2,0 % (30,91 mM)	0,1 %
7	2,0 % (30,91 mM)	1,0 %
8	2,0 % (30,91 mM)	1,4 %
9	2,0 % (30,91 mM)	2,8 %
10	2,0 % (30,91 mM)	5,0 %

Fonte: Do autor

5.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Espectros de RMN ¹H foram obtidos em um espectrômetro Bruker AVANCE III, que opera na frequência de 300 MHz para hidrogênio. Os deslocamentos químicos (δ) demonstrados na discussão dos resultados, estão relacionados em parte por milhão (ppm). O número de hidrogênios foi determinado da área relativa sob os picos e também das constantes de acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz). Para a preparação das amostras, utilizou-se misturas com concentrações previamente determinadas. Os espectros de ¹H foram adquiridos a uma temperatura de 24 °C em todos os experimentos.

5.3 TERCEIRA PARTE - ESTUDO DE PARTIÇÃO DE FLAVONOIDES EM SABM

5.3.1 Preparo dos SABM estoque para a partição de flavonoides

As soluções foram preparadas em diferentes porcentagens mássicas usando uma balança analítica (Shimadzu AX 200, incerteza de $\pm 0,0001$ g). As soluções aquosas de polímero e surfactantes foram misturadas em quantidades definidas de acordo com os valores de CLA obtidos previamente a partir dos diagramas de fase relatados na Tabela 7. Os sistemas foram agitados por 5 min e depois deixados em banho termostático (MA 184, Marconi, incerteza de $\pm 0,1$ °C) a 25 °C por um mínimo de 24 h, até que o sistema atingisse o equilíbrio termodinâmico. As fases foram coletadas separadamente para uso no estudo de particionamento.

Tabela 7 - Dados de equilíbrio líquido-líquido utilizados no estudo de partição dos flavonoides (em porcentagem de fração mássica) para o sistema Triton X-100 (w_1) + PEO (w_2) + água (w_3) na temperatura de 25,0 °C.

Sistema	Fase Superior			Fase inferior		Ref
	CLA (100w)	100w ₁	100w ₂	100w ₁	100w ₂	
Triton X-100 + PEO 4000 + água	22,89	2,7	20,6	23,8	12,0	(LIU; FENG; ZHAO, 2013)
	26,96	1,5	21,6	26,5	11,5	
	28,25	1,1	22,2	27,2	11,4	
	29,55	1,0	22,5	28,3	11,2	
Triton X-100 + PEO 10000 + água	22,36	4,08	10,0	25,74	4,45	Trabalho atual
	27,31	3,11	11,0	29,58	4,28	
	30,43	2,12	12,34	31,4	4,04	
	33,60	1,51	13,55	33,67	3,83	
Triton X-100 + PEO 20000 + água	25,13	1,79	8,38	25,99	1,59	(LIU et al., 2016)
	26,62	1,42	9,13	26,84	1,23	
	27,79	1,13	9,59	27,59	1,11	
	32,28	0,19	11,21	30,82	1,02	
Triton X-100 + PEO 35000 + água	22,22	1,32	8,51	22,43	1,59	Trabalho atual
	25,06	0,92	9,24	24,67	1,23	
	27,07	0,73	10,12	26,26	1,11	
	29,81	0,68	11,16	28,71	1,02	
Tween 80 + PEO 20000 + água	23,49	6,98	9,83	29,26	2,39	(LIU; FENG; ZHAO, 2013)
	32,46	3,27	12,32	33,88	1,53	
	37,06	1,21	14,78	35,72	1,28	
	40,10	0,87	15,35	38,28	0,92	

Fonte: Do autor

5.3.2 Estudo de partição

O experimento de partição dos flavonoides (quercetina, naringina, rutina) foi realizado em quatro diferentes CLAs para cada SAB, como representado na Tabela 7. A partir de cada SABM estoque foram montados três SABM sendo dois sistemas idênticos com a presença do flavonoide e um terceiro sistema sem flavonoide para ser utilizado como branco. Para tal, misturou-se 2,5000 g de cada fase coletada do SABM estoque. Aproximadamente 0,0010g

(Shimadzu -220D com incerteza de $\pm 0,00001$) de cada flavonoide foram solubilizados na fase inferior, pois sabe-se que os três flavonoides são mais solúveis nesta fase. Os sistemas foram agitados manualmente e centrifugados por 10 minutos e depois deixados num banho termostático a 25 °C por no mínimo de 24 h. Posteriormente, as fases superior e inferior foram coletadas separadamente e diluídas para a quantificação de flavonoides utilizando um espectrofotômetro de UV e Vis (Evolution 60S, Thermo Scientific) a 319, 359 e 377 nm para narigena, rutina e quercetina, respectivamente.

A razão de distribuição dos flavonoides (K_f) foi obtida a partir das razões das concentrações do analito nas fases superior e inferior dos sistemas e foram determinadas de acordo com a Equação (62) (ZHANG; SOMASUNDARAN, 2006).

$$K_f = \frac{Abs_S f_S}{Abs_I f_I} \quad (62)$$

Onde Abs_s e Abs_i são as absorbâncias das fases superior e inferior, respectivamente, e f_{ds} e f_{di} são os fatores de diluição.

A eficiência de extração dos flavonoides em estudo (100E), foi obtida como a razão entre a quantidade de flavonoides extraídos para a fase inferior do SAB e a quantidade total de flavonoides no sistema, de acordo com a Equação (63) (ZHANG et al., 2013).

$$100E = \frac{Abs_I f_I \times M_I}{(Abs_S f_S \times M_S) + (Abs_I f_I \times M_I)} \times 100 \quad (63)$$

onde Abs_s e Abs_i são as absorbâncias das fases superior e inferior, e f_s e f_i são os fatores de diluição correspondentes, e M_T e M_B correspondem a massa de cada fase.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 PRIMEIRA PARTE - LEVANTAMENTO DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO E MODELAGEM

Nesta seção, os resultados obtidos na primeira parte do trabalho, levantamento do equilíbrio líquido-líquido e modelagem, são apresentados e discutidos.

6.1.1 Dados de Composição do equilíbrio líquido-líquido

Os dados de equilíbrio líquido-líquido dos SABMs formados por PEO 10000 ou 35000 g mol⁻¹ + Triton X-100 + água a temperaturas T = (10; 25; 40) °C são mostrados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente. Os dados experimentais referentes às curvas binodais são relatados nas Tabelas 10 e 11. A determinação dos parâmetros que correlacionam o índice de refração com as concentrações das soluções de Triton X-100 e PEO são apresentados no Apêndice A.

Nas Tabelas 8 e 9, observa-se que nos SABMs formados por Triton X-100 + PEO (10000 ou 35000 g mol⁻¹) + água, a fase superior é enriquecida em polímero, enquanto a fase inferior é enriquecida em surfactante. Esse comportamento foi semelhante ao relatado por Liu et al., (LIU; FENG; ZHAO, 2013) que obtiveram dados de equilíbrio de fase para misturas de Triton X-100 + PEO (4000 ou 8000 ou 20000 g.mol⁻¹) + água. Por outro lado, esse comportamento de fase é diferente para os SABMs formados por Triton X-100 + sal + água, de acordo com relatos de Alvares et al (LI; LIU; LIN, 2018). Os autores estudaram sistemas compostos por Triton e sais K₃PO₄, K₂HPO₄, K₂CO₃, K₂SO₃, K₂S₂O₃, onde a fase superior foi enriquecida em Triton X-100.

Tabela 8 – Dados de equilíbrio para o Sistema formado por PEO 10000 g mol⁻¹(1) + Triton X-100(2) + Água (3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).

LA	ILA	CLA	Ponto Global			Fase Superior			Fase Inferior			D_1	D_2	D_3	$\Delta_{tr}G_1^o$	$\Delta_{tr}G_2^o$	$\Delta_{tr}G_3^o$	$\Delta_{tr}G_{total}^o$
			$100w_1$	$100w_2$	$100w_3$	$100w_1$	$100w_2$	$100w_3$	$100w_1$	$100w_2$	$100w_3$							
10 °C																		
1	-0,34	18,00	8,00	12,95	79,05	11,12	4,57	84,31	5,35	21,62	73,03	2,08	0,21	1,15	-0,001	0,073	-1,485	-1,41
2	-0,34	20,54	8,50	13,95	77,55	11,73	3,92	84,35	5,20	23,99	71,41	2,26	0,16	1,18	-0,002	0,092	-1,689	-1,60
3	-0,33	24,82	9,00	14,45	76,55	12,73	2,91	84,36	4,98	26,49	68,53	2,56	0,11	1,23	-0,002	0,116	-2,080	-1,97
4	-0,33	27,43	9,30	15,67	75,03	13,54	2,43	84,03	4,90	28,46	66,64	2,76	0,09	1,26	-0,002	0,140	-2,275	-2,14
5	-0,34	29,60	9,50	16,59	73,91	14,43	2,06	83,51	4,88	30,08	65,04	2,96	0,07	1,28	-0,002	0,162	-2,416	-2,26
25 °C																		
1	-0,25	22,94	8,00	12,95	79,05	10,17	4,08	85,75	4,63	26,34	69,03	2,20	0,15	1,24	-0,002	0,093	-2,361	-2,27
2	-0,27	27,56	8,50	13,95	77,55	11,43	2,83	85,74	4,21	29,43	66,36	2,71	0,10	1,29	-0,002	0,125	-2,736	-2,61
3	-0,28	30,43	9,00	14,45	76,55	12,34	2,12	85,54	4,04	31,40	64,56	3,05	0,07	1,32	-0,002	0,149	-2,966	-2,82
4	-0,31	33,72	9,50	15,72	74,78	13,79	1,53	84,68	3,83	33,75	62,42	3,60	0,05	1,36	-0,003	0,186	-3,141	-2,96
5	-0,32	35,52	9,76	16,55	73,69	14,58	1,35	84,07	3,73	35,17	61,10	3,91	0,04	1,38	-0,003	0,207	-3,239	-3,04
40 °C																		
1	-0,28	27,35	8,00	12,95	79,05	11,13	1,52	87,35	3,82	27,87	68,31	2,91	0,05	1,28	-2,23	0,152	-2,811	-2,66
2	-0,28	29,42	8,26	13,70	78,04	11,70	1,31	86,99	3,70	29,62	66,68	3,16	0,04	1,30	-2,48	0,172	-3,001	-2,83
3	-0,28	31,25	8,60	14,31	77,09	12,12	1,16	86,72	3,68	31,25	65,07	3,29	0,04	1,33	-2,67	0,190	-3,203	-3,02
4	-0,29	32,94	8,81	15,05	76,14	12,73	0,92	86,35	3,61	32,57	63,82	3,53	0,03	1,35	-2,89	0,216	-3,330	-3,12
5	-0,30	34,98	8,83	16,57	74,60	13,51	0,68	85,81	3,56	34,22	62,22	3,79	0,02	1,38	-3,07	0,261	-3,469	-3,21

Fonte: Do autor

Tabela 9 – Dados de equilíbrio para o sistema formado por PEO 35000 g mol⁻¹(1) + Triton X-100 (2)+ Água (3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).^a

LA	ILA	CLA	Ponto Global			Fase Superior			Fase inferior			D_1	D_2	D_3	$\Delta_{tr}G_1^{o,c}$	$\Delta_{tr}G_2^{o,c}$	$\Delta_{tr}G_3^o$	$\Delta_{tr}G_{total}^o$
			$100w_1$	$100w_2$	$100w_3$	$100w_1$	$100w_2$	$100w_3$	$100w_1$	$100w_2$	$100w_3$							
10 °C																		
1	-0,42	20,56	5,21	12,95	81,84	9,33	3,32	87,35	1,42	22,3	76,28	6,57	0,15	1,15	-0,001	0,090	-1,450	-1,36
2	-0,42	23,15	5,85	13,21	80,94	10,34	2,68	86,98	1,34	24,01	74,65	7,72	0,11	1,17	-0,001	0,105	-1,618	-1,51
3	-0,42	25,58	6,36	13,45	80,19	11,13	2,11	86,76	1,27	25,71	73,02	8,76	0,08	1,19	-0,001	0,122	-1,808	-1,69
4	-0,42	27,97	6,94	13,72	79,34	12,09	1,57	86,34	1,26	27,36	71,38	9,60	0,06	1,21	-0,001	0,143	-1,974	-1,83
5	-0,43	29,59	7,37	13,89	78,74	12,91	1,24	85,85	1,24	28,43	70,33	10,41	0,04	1,22	-0,001	0,158	-2,053	-1,90
25 °C																		
1	-0,34	24,01	4,93	12,87	81,84	8,80	1,15	90,05	1,13	23,90	74,97	7,79	0,05	1,20	-0,001	0,150	-2,066	-1,92
2	-0,35	25,82	5,48	13,02	80,94	9,58	0,92	89,50	1,08	25,30	73,62	8,87	0,04	1,22	-0,001	0,165	-2,177	-2,01
3	-0,36	27,30	5,95	13,30	80,19	10,41	0,74	88,85	1,07	26,39	72,54	9,73	0,03	1,22	-0,001	0,182	-2,240	-2,06
4	-0,36	29,97	6,58	13,67	79,34	11,25	0,54	88,21	1,02	28,71	70,27	11,03	0,02	1,26	-0,001	0,208	-2,484	-2,28
5	-0,38	32,16	7,37	13,89	78,74	12,35	0,45	87,20	0,99	30,54	68,47	12,47	0,01	1,27	-0,001	0,224	-2,622	-2,40
40 °C																		
1	-0,31	23,77	4,22	12,95	82,83	7,89	0,84	91,27	0,84	23,54	75,62	9,39	0,04	1,21	-0,001	0,174	-2,253	-2,08
2	-0,32	25,48	4,55	13,21	82,24	8,65	0,66	90,69	0,79	24,90	74,31	10,95	0,03	1,22	-0,001	0,193	-2,370	-2,18
3	-0,35	26,82	5,19	13,45	81,36	9,67	0,47	89,86	0,78	25,77	73,45	12,40	0,02	1,22	-0,001	0,217	-2,373	-2,16
4	-0,37	28,57	5,64	13,72	80,64	10,54	0,40	89,06	0,73	27,23	72,04	14,44	0,01	1,24	-0,001	0,233	-2,474	-2,24
5	-0,38	30,20	6,24	13,89	79,87	11,34	0,37	88,29	0,65	28,61	70,74	17,45	0,01	1,25	-0,001	0,243	-2,560	-2,32

Fonte: Do autor

Tabela 10 – dados de titulação turbidimétrica para o sistema formado por PEO 10000 g mol⁻¹(1) + Triton X-100(2) + Água(3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).^a

10 °C		25 °C		40 °C	
<i>100w</i> ₁	<i>100w</i> ₂	<i>100w</i> ₁	<i>100w</i> ₂	<i>100w</i> ₁	<i>100w</i> ₂
14,39	2,07	14,01	1,42	13,63	0,65
13,71	2,24	13,36	1,52	12,97	0,82
12,83	2,90	12,33	1,95	12,24	1,10
11,94	3,66	11,59	2,42	11,39	1,45
11,53	4,01	10,72	3,27	10,56	1,93
10,99	4,60	10,14	3,83	9,81	2,59
10,43	5,44	9,74	4,60	9,17	3,21
10,06	5,92	9,03	5,84	8,49	4,07
9,51	6,59	8,46	6,87	8,03	4,66
9,17	7,14	8,07	7,56	7,48	5,58
8,53	8,15	7,63	8,55	7,10	6,53
8,22	8,77	7,12	9,71	6,55	7,48
7,82	9,58	6,75	10,73	6,01	8,70
7,49	10,32	6,48	11,62	5,64	9,71
7,19	11,26	6,18	12,57	5,39	10,86
6,91	12,41	5,99	13,38	5,08	12,28
6,54	13,55	5,69	14,34	4,87	13,49
6,33	14,34	5,58	15,09	4,62	14,66
6,27	15,29	5,43	15,81	4,41	15,85
6,05	16,27	5,31	16,63	4,32	17,02
5,83	17,31	5,24	17,36	4,24	18,01
5,68	18,21	5,06	18,41	4,15	19,02
5,51	19,12	4,96	19,32	4,09	19,99
5,45	20,13	4,81	20,34	3,99	21,02
5,34	21,21	4,61	22,19	3,94	22,25
5,30	22,02	4,49	23,23	3,89	23,31
5,20	22,71	4,39	24,17	3,83	24,41
5,12	23,45	4,32	25,34	3,76	25,69
4,99	24,39	4,26	26,64	3,73	27,04
4,91	25,27	4,19	27,67	3,71	28,82
4,86	26,16	4,13	28,85	3,64	30,44
4,75	27,17	3,97	30,75	3,57	32,15
4,73	28,11	3,82	32,74	3,51	33,23
4,69	29,73	3,71	34,48	3,50	34,57

Fonte: do autor

Tabela 11 - Dados de titulação turbidimétrica para o sistema formado por PEO 35000 g mol⁻¹(1) + Triton X-100(2) + Água(3) nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C e pressão atmosférica de (≈ 94 kPa).

10 °C		25 °C		40 °C	
<i>100w₁</i>	<i>100w₂</i>	<i>100w₁</i>	<i>100w₂</i>	<i>100w₁</i>	<i>100w₂</i>
14,76	0,65	14,43	0,41	14,66	0,36
13,26	1,05	13,67	0,42	13,48	0,40
12,59	1,34	12,95	0,45	12,56	0,42
11,83	1,66	12,17	0,49	12,02	0,43
11,03	2,13	11,42	0,56	11,31	0,45
10,58	2,47	10,26	0,79	10,78	0,50
9,86	2,88	9,66	0,92	9,86	0,54
9,24	3,35	8,94	1,17	9,24	0,59
8,77	3,69	8,19	1,58	8,40	0,75
8,32	4,16	7,47	2,07	7,65	0,92
7,69	4,84	6,86	2,65	6,97	1,19
7,10	5,52	6,23	3,44	6,46	1,59
6,68	6,06	5,68	4,27	5,73	2,37
6,30	6,73	5,22	5,13	5,09	3,23
5,92	7,35	4,79	5,95	4,56	4,01
5,50	7,99	4,38	6,93	3,96	5,16
5,07	8,76	3,89	8,12	3,48	6,26
4,65	9,59	3,47	9,33	3,12	7,49
4,29	10,39	3,15	10,43	2,79	8,74
3,88	11,43	2,79	11,72	2,50	9,84
3,55	12,21	2,52	12,83	2,24	10,97
3,28	13,17	2,20	14,31	2,03	12,12
2,96	14,11	1,84	16,27	1,83	13,25
2,69	15,06	1,62	17,66	1,64	14,43
2,41	16,14	1,52	18,53	1,41	15,94
2,17	17,43	1,41	19,52	1,22	17,38
1,93	18,71	1,28	20,67	1,05	19,00
1,72	19,97	1,19	22,01	0,98	20,27
1,60	21,02	1,14	23,35	0,84	21,92
1,43	22,57	1,12	24,62	0,82	23,35
1,36	23,56	1,09	25,62	0,79	24,60
1,31	25,13	1,06	27,02	0,76	26,11
1,28	26,49	0,99	28,26	0,73	27,62
1,25	28,12	0,95	29,48	0,66	28,62

Fonte: Do autor.

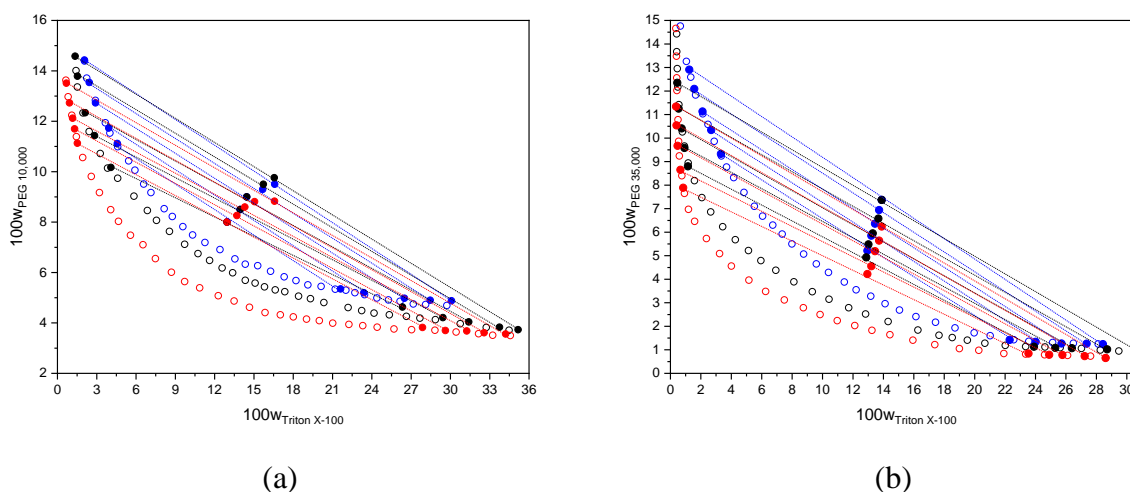
6.1.2 Efeito da temperatura e da composição

Para cada SABM, foram determinadas cinco linhas de amarração (LAs) cujo comprimento da linha de amarração (CLA) e inclinação da linha de amarração (ILA) foram determinadas pelas Equações 26 e 27, respectivamente. Esses parâmetros permitem inferir como as mudanças na composição e temperatura dos diferentes SABMs levam à transferência espontânea de material (principalmente moléculas de água) entre as fases, a fim de alcançar o equilíbrio. Como pode ser visto nas Tabelas 8 e 9, valores de CLA aumentam com o aumento da concentração de surfactante e polímero na mistura presente no ponto global, refletindo a transferência preferencial de polímero para a fase superior e surfactante para a fase inferior, devido ao processo de separação de fases.

As Tabelas 8 e 9 mostram os valores da taxa de distribuição de cada componente formador dos SABMs avaliados no presente trabalho. A contribuição que cada um deles fornece para a energia livre padrão total de Gibbs de transferência do SABM também foi apresentada (os cálculos deste parâmetro se encontram no Apêndice B). Para esses parâmetros, a direção de distribuição espontânea dos componentes foi assumida como sendo da fase inferior a superior. Portanto, os valores $D_i > 1$ refletem a tendência de um determinado componente se concentrar preferencialmente na fase superior. Os valores de $\Delta_{tr}G_i^o$ nesses casos serão negativos, de acordo com a referência considerada. As Tabelas 8 e 9 mostram que os SABMs formados por PEO 10000 ou 35000 g mol⁻¹ se comportaram de maneira semelhante em relação à transferência de componentes entre fases. No entanto, enquanto as taxas de distribuição de PEO 10000 g mol⁻¹, Triton X-100 e água variaram de 2,08 a 3,79 (a 10 °C), de 0,21 a 0,02 (a 25 °C) e de 1,15 a 1,38 (a 40 °C), respectivamente, naqueles consistindo em PEO 35000 g mol⁻¹, essas mesmas proporções de distribuição variaram de 6,57 a 17,45 (a 10 °C), 0,15 a 0,01 (a 25 °C) e 1,15 a 1,27 (a 40 °C) para os respectivos componentes. Em todas as composições de mistura avaliadas, é fácil ver que a água, o componente de maior densidade numérica, é distribuído com uma leve tendência a se concentrar na fase superior. Além disso, o aumento da temperatura contribui ainda mais para o deslocamento das moléculas de água para a fase superior. Esse fato torna todos os valores de $\Delta_{tr}G_{total}^o$ negativos. Deve-se notar aqui que os parâmetros da taxa de distribuição não levam em consideração os efeitos da agregação de componentes nas fases, como a ocorrência de agregação micelar. Esses parâmetros consideram apenas a proporção relativa que cada componente distribui no SABM.

Pode-se observar pelos dados mostrados nas Tabelas (8-11) e visualmente a partir dos gráficos mostrados nas Figuras 20(a-b) que o efeito da temperatura no processo de separação de fases dos SABMs formados pelos diferentes PEOs é pronunciado. Observou-se que o aumento da temperatura eleva a estabilidade do sistema bifásico. Isso é evidenciado pelo aumento significativo da área bifásica devido ao deslocamento da curva binodal em direção à origem do eixo cartesiano em ambos os SABMs com o aumento da temperatura (Figuras 20a e 20b). Nesse caso, o processo de separação de fases é classificado como endotérmico, indicando que o fornecimento de energia térmica favorece a separação de fases (DE LEMOS et al., 2010).

Figura 20 - Curvas binodais (círculos vazios) e dados de equilíbrio (círculos cheios) para misturas de Triton X-100 + água com: (a) PEO 10000 g mol⁻¹ e (b) PEO 35000 g mol⁻¹ nas temperaturas de (○) 10, (○) 25 e (○) 40 °C, respectivamente.



Fonte: do autor

Também é observado nas Tabelas 8 e 9 e na Figura 20 que o valor absoluto das ILAs para os SABMs diminui com o aumento da temperatura. Os valores absolutos da ILA diminuem de 0,34 a 0,28 para os SABMs formados por PEO 10.000 g.mol⁻¹ e de 0,42 a 0,31 para aqueles que contêm PEO 35000 g.mol⁻¹ (considerando valores para a primeira linha de amarração) quando a temperatura varia de 10 a 40 °C. Isso demonstra que, em temperaturas mais altas, uma quantidade menor de PEO (10000 ou 35000 g.mol⁻¹) é capaz de induzir a separação de fases. Esse efeito tende a ser mais pronunciado quanto maior for a massa molar do polímero, pois maior será seu efeito hidrofóbico na fase (GONZÁLEZ-AMADO et al., 2016). A maior variação da ILA com temperatura para PEO com massas molares mais altas também é observada nos SABs de PEO e sal (RENGIFO et al., 2015).

Além disso, a separação de fases em baixas composições de mistura PEO e Triton X-100 ao elevar a temperatura pode ser atribuída ao aumento da hidrofobicidade das micelas de Triton X-100. Liu e coautores (LIU; WU; ZHAO, 2015) sugeriram que em baixas temperaturas de ponto de nuvem do Triton X-100 (65 °C) indica a forte dependência da temperatura das misturas que envolvem esse surfactante não iônico.

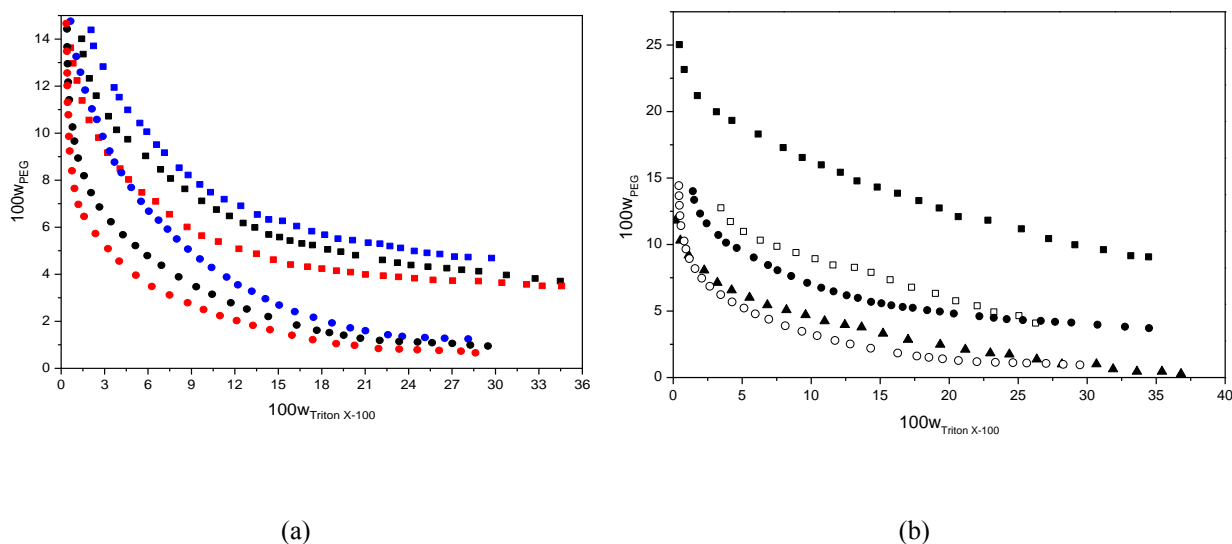
Em sistemas que envolvem surfactantes não iônicos do tipo Triton, a força atrativa entre micelas aumenta à medida que a temperatura aumenta. Esse comportamento é atribuído ao fato de que inicialmente as unidades de óxido de etileno hidrofílico desses surfactantes se ligam significativamente às moléculas de água presentes na mistura através de ligações de hidrogênio tornando a cadeia lateral de polioxietileno do Triton X-100 fortemente hidratada. No entanto, o aumento da temperatura atrapalha a direcionalidade dessas ligações de hidrogênio, resultando no seu enfraquecimento. Dessa forma, as micelas são capazes de estabelecer um contato mais próximo entre si, favorecendo interações atrativas. Essas interações atrativas são responsáveis pela formação de uma fase rica em micelas (BLANKSCHTEIN; THURSTON; BENEDEK, 1985).

6.1.3 Efeito da massa molar do polímero

O efeito da massa molar de PEO nos diagramas de fases das misturas compostas por PEO (4000, 8000, 10000, 20000 ou 35000 g mol⁻¹) + Triton X-100 + água pode ser visto nas Figuras 21a e 21b.

A Figura 21a destaca o efeito combinado do aumento da massa molar e da temperatura no posicionamento da curva binodal dos SABMs formados por PEO 10000 ou 35000 g.mol⁻¹. Observa-se que o aumento da massa molar do polímero gera um aumento na região bifásica e esse efeito se torna ainda mais pronunciado com o aumento da temperatura. Também pode ser visto na Figura 21b que, a uma temperatura fixa de 25 °C, o aumento na massa molar de PEO causa um aumento significativo na área bifásica do diagrama. Esse comportamento foi bem relatado na literatura para misturas envolvendo PEO de diferentes massas molares + Triton X-100 (LIU et al., 2016; LIU; WU; DAI, 2012; LIU; WU; ZHAO, 2015).

Figura 21 - Efeito da massa molar do PEO nos diagramas formados por SABMs formados por PEO + Triton X-100 + água. (a) PEO 10000 ou 35000 g.mol⁻¹ (●) 10 °C, (●) 25 °C e (●) 40 °C (trabalho atual) (b) PEOs com diferentes massas molares a 25 °C: 4000 (■) (LIU et al., 2016), PEO 8000 (□) (LIU et al., 2016) PEO 10000 (●) (trabalho atual), PEO 20000 (▲) (LIU et al., 2016), PEO 35000 (○)(trabalho atual).



Fonte: Do autor.

O efeito do aumento da massa molar de PEO em diferentes SABs, sejam sistemas tradicionais de polímero + sal (GUAN; LILLEY; TREFFRY, 1993), (GOMES et al., 2009) ou polímero + surfactante (LIU et al., 2016), está associado ao efeito de exclusão de volume causado pelo aumento do tamanho do polímero, o que conduz a transferência de moléculas de água para a outra fase. Este volume excluído decorre da impenetrabilidade mútua das macromoléculas de soluto que gera repulsão estérica. De fato, como duas macromoléculas não podem estar no mesmo local ao mesmo tempo, o volume excluído é gerado (ou seja, o volume ocupado pela macromolécula é indisponível para outros componentes) (PINCUS, 1976).

Embora seja sabido que em SABs de PEO + sal + água, o aumento da massa de polímero causa a exclusão de moléculas de água da fase rica em PEO para a outra fase, no caso do presente trabalho, a situação é diferente. Isso ocorre porque as micelas resultantes da agregação de moléculas de Triton que enriquecem a fase inferior também produzem efeito de exclusão de volume. De acordo com Gomes et al. (2009), uma micela esférica de Triton X-100 obtida em condições de concentração desse surfactante logo acima da concentração micelar crítica (cmc) contém cerca de 143 moléculas de Triton X-100, com massa molar em torno de 90000 g mol⁻¹. Portanto, é razoável pensar em um

mecanismo competitivo de exclusão de moléculas de água entre as fases por efeito de exclusão de volume. Se assumirmos uma situação em que a densidade numérica das micelas Triton X-100 e PEO 35000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, por exemplo, estão próximos, espera-se que o efeito de exclusão das micelas de Triton seja maior do que o causado pelas moléculas de polímero. Esse comportamento é consistente com o que foi verificado experimentalmente pela avaliação dos valores da taxa de distribuição de água (D_3) observados nas Tabelas 8 e 9. Observa-se claramente que há uma maior tendência para as moléculas de água migrarem para a fase superior (enriquecidas em PEO 10000 ou 35000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$). O efeito do volume de exclusão em SABs é amplamente referido na literatura (ÁLVAREZ et al., 2012; BARRUETO et al., 2015; PINCUS, 1976). Esse comportamento também foi relatado para outros SABMs, por exemplo, Liu et al (2016) encontraram a exclusão do efeito de volume das moléculas de água na fase rica em Triton X-100 para fase rica em PEO de pesos moleculares 2000, 4000 e 6000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ e o efeito oposto, ou seja, transferência de moléculas de água da fase rica em PEO para a fase rica em Triton X-100 quando a massa molar do polímero aumentou para 8000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, o que pode ser uma consequência da faixa de composição da mistura utilizada.

Esses resultados diferem dos observados neste trabalho, no qual as moléculas de água tendem a migrar para a fase rica em Triton X-100 para PEO 10000 e 35000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Uma possível explicação para esse fenômeno é que, à medida que a massa molar do PEO aumenta, a concentração necessária para a formação do SABM cai consideravelmente (Figura 21). Assim, o volume excluído causado pela presença das estruturas auto-organizadas Triton X-100 na fase inferior força a transferência de moléculas de água para a fase rica em polímero de baixo e alto peso molecular (fase superior). Já em situações intermediárias de massas molares de PEO, parece haver faixas intermediárias de composição da mistura que a densidade numérica das macromoléculas de polímero supera significativamente a das micelas forçando a transferência preferencial de moléculas de água para a fase inferior.

6.1.4 Correlação das curvas binodais

As Equações (49a-e) foram usadas para ajustar as curvas binodais obtidas experimentalmente para SABMs formados por PEO 10000 ou 35000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ + Triton X-100 e água, respectivamente. Todas essas equações têm uma dependência de temperatura

que está implícita nos parâmetros ajustáveis (a_i), como mostrado na seção metodológica (seção 5.1.6.1). Os parâmetros ajustados para as equações 49a-e são mostrados na Tabela 12, juntamente com os respectivos valores da função objetivo.

Tabela 12 - Valores dos parâmetros das Equações 49a-e.

SABM com PEO 10000 g mol ⁻¹							
Eq.	a_0^α	a_0^β	a_1^α	a_1^β	a_2^α	a_2^β	$F/10^{-3}$
49a	$-4,354 \times 10^{-2}$	$5,656 \times 10^{-4}$	$-5,130 \times 10^{-2}$	$4,914 \times 10^{-4}$	$-1,014 \times 10^{-1}$	$1,035 \times 10^{-3}$	1,498
49b	$2,526 \times 10^{-1}$	$-1,920 \times 10^{-3}$	-3,478	$-1,257 \times 10^{-3}$	-11,61	$-1,280 \times 10^{-2}$	1,600
49c	$2,337 \times 10^{-1}$	$-1,648 \times 10^{-3}$	$5,924 \times 10^{-1}$	$-3,254 \times 10^{-3}$	$6,569 \times 10^{-1}$	$-4,085 \times 10^{-3}$	1,803
49d	-1,187	$-1,068 \times 10^{-2}$	2,874	$9,808 \times 10^{-3}$	-4,911	$-8,036 \times 10^{-4}$	1,521
49e	2,391	$5,792 \times 10^{-2}$	18,92	$1,947 \times 10^{-1}$	22,61	$1,810 \times 10^{-1}$	1,973
SABM com PEO 35000 g mol ⁻¹							
Eq.	a_0^α	a_0^β	a_1^α	a_1^β	a_2^α	a_2^β	$F/10^{-3}$
49a	$-2,007 \times 10^{-2}$	$-1,378 \times 10^{-3}$	$-3,656 \times 10^{-2}$	$5,836 \times 10^{-5}$	$8,094 \times 10^{-2}$	$-5,822 \times 10^{-3}$	5,848
49b	$2,271 \times 10^{-1}$	$-1,113 \times 10^{-3}$	-3,853	$-9,064 \times 10^{-2}$	69,37	-3,001	5,579
49c	$2,113 \times 10^{-1}$	$-1,659 \times 10^{-3}$	$5,733 \times 10^{-1}$	$3,885 \times 10^{-3}$	$6,817 \times 10^{-1}$	$-1,206 \times 10^{-3}$	6,515
49d	-1,711	$5,711 \times 10^{-3}$	-9,934	$5,036 \times 10^{-1}$	$-4,126 \times 10^{-1}$	$-2,653 \times 10^{-1}$	4,622
49e	10,69	$-2,578 \times 10^{-1}$	321,7	-6,009	-82,74	4,930	4,723

Fonte: do autor

Para SABMs com PEO 10000 g mol⁻¹ a Equação 49a apresentou o menor valor da função objetivo F, enquanto para SABMs com PEO 35000 g mol⁻¹, a equação com F menor foi a Equação 49d. A equação 49a para SABMs com PEO 10000 g.mol⁻¹ apresentou o erro quadrático médio da raiz (RMSE/10⁻³) de 1,183, 1,753 e 1,560 em 10, 25 e 40 °C, respectivamente. Os valores de RMSE/10⁻³ para essas mesmas temperaturas foram 1,014, 5,110 e 7,743 para a Equação 49d, com SABMs contendo PEO 35000 g.mol⁻¹. Portanto, essas duas equações são as mais apropriadas para descrever os dados de w_1 em função de w_2 globalmente, considerando as três temperaturas estudadas.

6.1.5 Correlação das linhas de amarração

Os parâmetros ajustados pelas equações 51(a-d), seus respectivos desvios-padrão (σ_{a_i} e σ_{b_i}) e coeficientes de determinação R^2 são mostrados na Tabela 13 para sistemas envolvendo PEO 10000 e PEO 35000 g mol⁻¹. Estes mostraram uma correlação significativa entre os dados em um nível de significância de 5% ($p < 0,05$ para a estatística t). Para o SABM formado por PEO 35000 g mol⁻¹ em 40 °C, o coeficiente de determinação foi de $R^2 = 0,9482$ para a Equação 51-c. Nos outros modelos e temperaturas, a explicação para a variabilidade da variável dependente foi superior a 95% ($R^2 > 0,95$), tanto para

SABMs formados por PEO 10000 g mol⁻¹ quanto PEO 35000 g mol⁻¹. Observa-se que todas as equações descrevem os dados experimentais com excelente concordância; portanto, a partir dos parâmetros é possível prever linhas de amarração que não foram determinadas experimentalmente. Esses modelos são ferramentas valiosas para aplicações industriais para prever dados em uma composição e temperatura específicas; portanto, essas equações são utilizadas há muito tempo em pesquisas envolvendo SABMs (ÁLVAREZ et al., 2012; BARRUETO et al., 2015).

Tabela 13 - Valores dos parâmetros obtidos pelas equações Othmer-Tobias (51a), Bancroft (51b), Hand (51c) e Setschenow (51d) para os SABMs formados por PEO 10000 g mol⁻¹ e 35000 g mol⁻¹.

SABMs: PEO 10000 g mol ⁻¹ + Triton X-100 + Água							
Equação	<i>i</i>	<i>a_i</i>	σ_{a_i}	<i>b_i</i>	σ_{b_i}	<i>R</i> ²	<i>T</i> / °C
(51a)	1	1,2294	0,0497	0,6713	0,0470	0,9855	10
		1,1682	0,0342	0,9940	0,0423	0,9946	25
		1,3898	0,0405	0,7307	0,0504	0,9860	40
(51b)	2	-2,1332	0,2207	1,6415	0,1164	0,9851	10
		-1,3224	0,1034	1,0649	0,0534	0,9925	25
		-2,0331	0,1905	1,4164	0,0972	0,9861	40
(51c)	3	-3,7723	0,1206	-2,4047	0,1219	0,9923	10
		-4,4062	0,0840	-3,6517	0,1124	0,9972	25
		-4,8613	0,2968	-3,2767	0,3959	0,9580	40
(51d)	4	0,2837	0,0051	0,8151	0,0094	0,9996	10
		-0,1292	0,0196	1,3611	0,0273	0,9988	25
		0,3557	0,0435	0,7794	0,0600	0,9825	40
SABM: PEO 35000 g mol ⁻¹ + Triton X-100 + Água							
Equação	<i>i</i>	<i>a_i</i>	σ_{a_i}	<i>b_i</i>	σ_{b_i}	<i>R</i> ²	<i>T</i> / °C
(51a)	1	0,9092	0,0403	1,0927	0,0374	0,9965	10
		1,0591	0,0720	1,0935	0,0715	0,9873	25
		0,6137	0,1219	1,5610	0,1159	0,9837	40
(51b)	2	-0,9434	0,0721	0,9717	0,0350	0,9961	10
		-0,9879	0,1288	0,9203	0,0600	0,9874	25
		-0,3854	0,1025	0,6343	0,0456	0,9847	40
(51c)	3	-5,8847	0,2507	-3,9815	0,2363	0,9895	10
		-6,4274	0,1935	-3,8105	0,1950	0,9922	25
		-7,7770	0,6595	-4,6961	0,6334	0,9482	40
(51d)	4	0,0668	0,00056	1,8284	0,1313	0,9848	10
		0,0872	0,00143	1,8968	0,1522	0,9810	25
		0,0523	0,01584	3,8333	0,0962	0,9981	40

Fonte: do autor.

6.1.6 Modelo Flory-Huggins

O modelo de Flory-Huggins (Equação 52) foi utilizado para descrever o comportamento não ideal nas fases dos SABMs avaliadas no presente trabalho. A Tabela

14 apresenta os parâmetros de Flory Huggins ajustados aos dados de equilíbrio envolvendo os sistemas formados por PEO 10000 ou 35000 g mol⁻¹ + Triton X-100 + água nas temperaturas 10, 25 e 40 °C. O mesmo tratamento de dados foi aplicado a dados experimentais envolvendo PEO 20000 g.mol⁻¹ + Triton X-100 + água publicado por Liu Wu e Zhao (2015) nas temperaturas de 0, 20 e 40°C. Três parâmetros de interação referentes aos pares de polímero-surfactante (λ_{12}), polímero-solvente (λ_{13}) e surfactante-solvente (λ_{23}) foram determinados para cada temperatura.

Tabela 14 - Parâmetros de Flory-Huggins para os sistemas formados por PEO 10000 ou 20000 (LIU; WU; ZHAO, 2015) ou 35000 g mol⁻¹ (1) + Triton X-100 (2) (monômero ou micela) + água (3).

	$T/^\circ\text{C}$	λ_{12}	λ_{13}	λ_{23}	ssr. Eq. (59)
Monômero de Triton X-100 + PEO 10000 g mol ⁻¹	10	-1,5257	-2,8075	0,4661	9,5864 10 ⁻⁰⁴
	25	-0,4147	-0,3771	0,7235	0,0016
	40	-1,3850	-2,1563	0,6398	9,1705 10 ⁻⁰⁵
Micela de Triton X-100 + PEO 10000 g mol ⁻¹	10	-1,4097	-2,2531	0,3729	0,0081
	25	-1,4641	-2,3231	0,3779	0,0031
	40	-1,6148	-2,2853	0,4375	4,7580 ⁻⁰⁴
Monômero de Triton X-100 + PEO 20000 g mol ⁻¹	10	0,1276	0,4933	0,7981	2,3313 10 ⁻⁰⁴
	25	0,0292	0,2960	0,7739	3,1850 10 ⁻⁰⁴
	40	-0,0289	0,1188	0,8109	4,6643 10 ⁻⁰⁵
Micela de Triton X-100 + PEO 20000 g mol ⁻¹	10	-0,0599	0,5032	0,6098	1,2924 10 ⁻⁰⁴
	25	-0,4199	-0,2017	0,5399	1,7889 10 ⁻⁰⁴
	40	-0,5246	-0,4116	0,5486	2,3313 10 ⁻⁰⁴
Monômero de Triton X-100 + PEO 35000 g mol ⁻¹	10	-1,0732	-2,5948	0,3198	5,1506 10 ⁻⁰⁴
	25	-0,1525	-0,1854	0,7436	3,6933 10 ⁻⁰⁵
	40	0,0937	0,2935	0,8112	2,2638 10 ⁻⁰⁵
Micela de X-100 + PEO 35000 g mol ⁻¹	10	-1,2729	-2,7460	0,1134	5,0965 10 ⁻⁰⁴
	25	-0,3270	-0,0811	0,5290	6,9130 10 ⁻⁰⁵
	40	-0,1461	0,3157	0,5627	1,0435 10 ⁻⁰⁵

Fonte: Do autor.

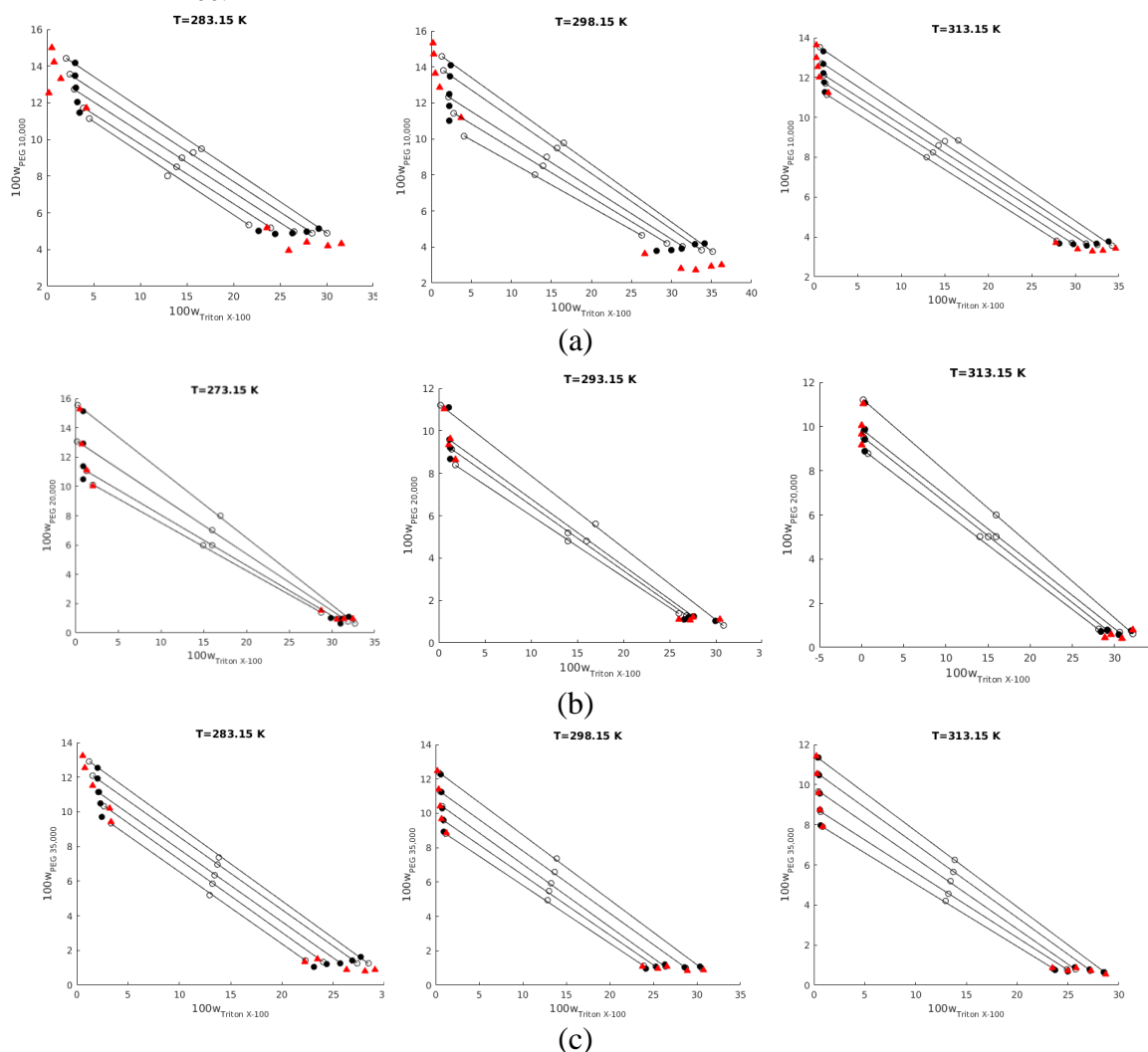
O modelo de Flory-Huggins usado neste trabalho para correlacionar teoricamente os dados de equilíbrio líquido-líquido obtidos experimentalmente difere um pouco daquele usado por Liu; Wu e Zhao (2015). Um fator de penalidade foi incluído na equação de Flory-Huggins para garantir que as condições de minimização do modelo para os diferentes dados de equilíbrio (envolvendo SABMs formados por PEO (10000, 20000 ou 35000)). De fato, a introdução desse fator de penalidade não causa um aumento na complexidade do modelo, nem afeta as premissas originais do modelo. Vale ressaltar que o modelo aqui utilizado possui limitações para descrever a complexa realidade física desses sistemas em equilíbrio. Por exemplo, considerando o termo de entalpia do modelo, pode-se observar que a contribuição ditada pelos parâmetros de interação λ_{12} , λ_{13} e

λ_{23} corresponde à contribuição do contato dos pares de componentes na mistura para a energia total de Gibbs (ELIASSI; MODARRESS; MANSOORI, 1999). No entanto, a interação depende do ambiente molecular específico no qual esses componentes se encontram, ou seja, a interação pareada dos componentes negligencia a influência do terceiro componente presente no microestado (WOLF, 2010). Porém, os resultados obtidos na correlação do equilíbrio líquido-líquido experimental tornaram possível recuperar os dados de equilíbrio com precisão razoável para todos os sistemas avaliados apresentando uma boa correlação dos dados experimentais (Figura 22).

Em geral, é possível notar que os parâmetros de Flory-Huggins obtidos no ajuste para interação surfactante-água (λ_{23}) apresentaram valores superiores aos dos outros dois parâmetros de interação (λ_{12} e λ_{13}) e, também, esses valores tendem a aumentar com o aumento da temperatura. Isso ocorre nas duas condições de modelagem impostas ao sistema, molécula surfactante e agregado micelar. Em misturas binárias envolvendo um polímero (1) e um solvente (2), o parâmetro de interação soluto-solvente λ_{AB} foi utilizado para obter informações sobre os estados conformacionais do polímero em solução. A condição crítica ocorre para $\lambda_{AB} = 0,5$ e, tomada como referência, infere-se que para $\lambda_{AB} > 0,5$ as macromoléculas em solução são colapsadas sobre si mesmas, minimizando a interação com o solvente e para $\lambda_{AB} < 0,5$, estas apresentam conformações mais expandidas como resultado da maior interação com o solvente. Portanto, valores elevados para λ_{23} , geralmente maiores que 0,5, devem estar relacionados ao colapso das moléculas de Triton X-100 em meio aquoso que pode ser interpretado como a tendência da formação de agregados micelares.

Entretanto, para os parâmetros de interação de Flory-Huggins ajustados para sistemas ternários, a simplicidade do modelo considerado não permite associar adequadamente a realidade física do comportamento interacional entre os componentes deste sistema aos valores de ajuste. A Tabela 14 mostra que os parâmetros de interação intermolecular λ_{12} e λ_{13} divergem fortemente do valor usual de 0,5. Esta observação é concebível considerando a complexidade inerente aos efeitos de exclusão de volume que o polímero e as micelas de Triton X-100 têm no sistema. Os valores mais baixos (e em muitos casos negativos) obtidos para os parâmetros referentes às interações intermoleculares entre PEO-Triton (λ_{12}) e PEO-água (λ_{13}) devem estar relacionados às interações favoráveis entre moléculas de PEO e Triton na fase inferior e água de PEO interações que ocorrem principalmente na fase superior dos SABMs.

Figura 22 - Dados experimentais (---) e calculados pelo modelo de Flory-Huggins para SABM formados por: (a) PEO 10000 g mol⁻¹, (b) PEO 20000 g mol⁻¹ e (c) PEO 35000 g mol⁻¹; em diferentes temperaturas. Símbolos circulares ocultos, símbolos circulares sólidos e símbolos de triângulo vermelho indicam, respectivamente, as linhas de amarração experimentais, calculadas como moléculas únicas de Triton X-100 e linhas de amarração calculadas como micelas de Triton X-100.



Fonte: do autor

A temperatura afeta os valores dos parâmetros obtidos, mas não é possível estabelecer uma correlação clara dessa dependência. Também pode-se especular que os valores para os parâmetros de interação obtidos refletem não apenas as dissimilaridades químicas dos componentes formadores de SABMs, mas devem ser causados por contatos intersegmentares (auto-associação de moléculas surfactantes e interação polímero-surfactante) presentes no sistema. A acentuada tendência de auto-agregação do Triton X-100 e a ocorrência de interação PEO-surfactante (forma molécula ou micelar) em alguma extensão nas fases SABM causam mudanças drásticas no microestado desses sistemas que diferem consideravelmente daqueles esperados com esse com base nas formas

moleculares deste componente. Como já mencionado, no modelo de Flory-Huggins usado aqui, não tratamos da questão de como os parâmetros de interação de Flory-Huggins são influenciados por contribuições de entalpia e entrópicas e o objetivo era essencialmente obter a correlação teórica dos dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido para os SABMs estudados.

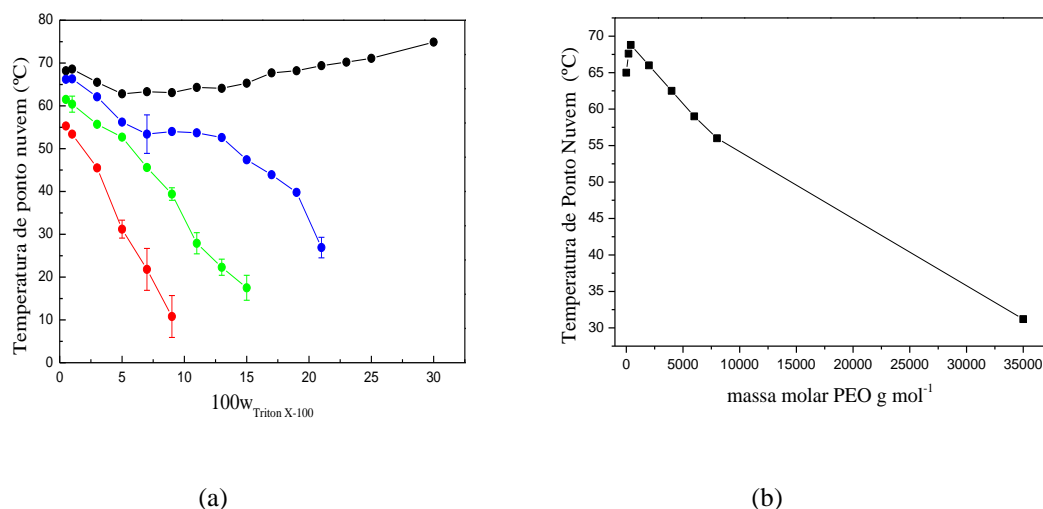
6.2 SEGUNDA PARTE - ESTUDO DE INTERAÇÃO PEO/TRITON

Nesta seção, os resultados obtidos na segunda parte do trabalho, estudo de interação PEO/Triton X-100, será apresentado e discutido.

6.2.1 Efeito da adição de PEO na temperatura de ponto nuvem do Triton X-100

Dados de ponto nuvem para as misturas com PEO 35000 e Triton X-100 foram obtidos de acordo com a metodologia descrita na seção 5.2.1, e são apresentados na Figura 23.

Figura 23 – Temperatura de ponto nuvem do Triton X-100 para (a) Diferentes concentrações de PEO 35000 g mol⁻¹, onde (●)Triton X-100 (●)Triton X-100 + PEO 1 % (●)Triton X-100 + PEO 3%, (●)Triton X-100 + PEO 5%, (b) diferentes massas molares de PEO 5% + Triton X-100 5%.



Fonte: Do autor.

A partir da Figura 23 (a) pode-se inferir que a adição de PEO 35000 g mol⁻¹ provoca uma diminuição na temperatura de ponto nuvem (PN) do Triton X-100 e quanto maior a concentração do polímero na mistura menor é a temperatura de ponto nuvem.

Muitos trabalhos descrevem esse fenômeno em termos de um processo de desidratação dos grupamentos do oxietileno presentes no Triton X-100 (GE; ZHANG; GUO, 2007; PATEL et al., 2015; QIAO; EASTEAL, 1998). Qiao e Easteal (1998) avaliaram a variação do PN do Triton X-100 sob o efeito de diferentes massas molares de PEO em concentrações fixas do surfactante. Os autores observaram que os PEOs de baixa massa molecular aumentam a solubilidade do surfactante na água e, portanto, a temperatura de PN da mistura aumenta enquanto os PEOs de alto peso molecular exibem mecanismo de depleção-floculação na solução micelar e diminuem a temperatura de PN da solução. Estes resultados são consistentes com os dados obtidos no presente trabalho.

A Figura 23 (b) ilustra o efeito da massa molar de PEO na temperatura de PN para misturas formadas por PEO 5 % em massa e Triton 5% em massa. Os dados de PN para as massas molares de 200, 400, 2000, 4000, 6000 e 8000 g mol⁻¹ foram obtidas por Patel e colaboradores (2015) os valores de PN para a massa molar de 35000 g mol⁻¹ foi obtida no presente trabalho. Os resultados apontaram uma queda drástica na temperatura de ponto nuvem à medida que a massa molar do polímero aumentou indicando forte influência deste parâmetro sobre a formação dos agregados.

Ge et al (2007) observaram que diferentes massas molares de PEO, formam distintos agregados em solução que, por sua vez, impactam de formas diferentes a temperatura de PN, no qual moléculas de PEO com peso molecular < 2000Da envolvem as micelas de Triton X-100 e formam um complexo esférico. No entanto, PEOs com peso molecular > 2000 Da formam uma rede de aglomerados em forma de coral. A mudança no formato e tamanho das micelas é uma hipótese no presente trabalho que será avaliada nas técnicas de DLS e RMN apresentadas nas seções 6.2.2 e 6.2.3, respectivamente.

6.2.2 Espalhamento dinâmico de luz (DLS)

Os raios hidrodinâmicos obtidos pela técnica de DLS para diferentes concentrações de misturas aquosas de Triton X-100 e PEO (10000 e 35000 g mol⁻¹) são apresentados na Tabela 14 e Figuras 24-25.

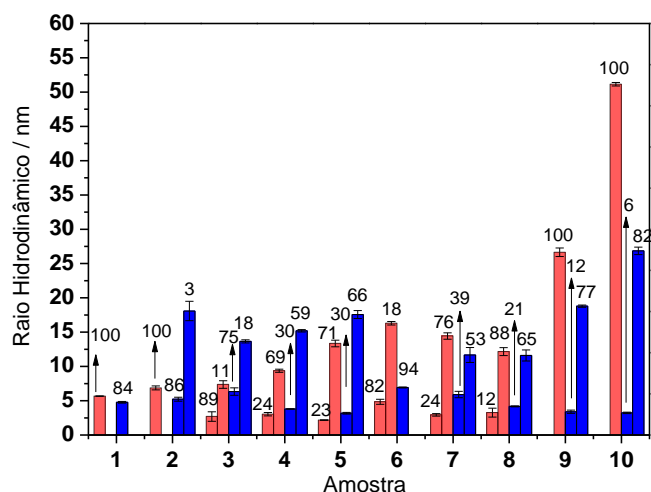
Tabela 15 – Raios hidrodinâmicos para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 ou 35000 g mol⁻¹ + água.

Amostra	Solução		R _d /nm			
	[Triton X -100] / mM	100 _W PEO	PEO 10000 g mol ⁻¹	PEO 10000 g mol ⁻¹	PEO 35000 g mol ⁻¹	PEO 35000 g mol ⁻¹
1		0,1	6	-	4	
2		1,0	7	-	5	18
3	12,0	1,4	3	7,5	7	14
4		2,8	3,5	9	4	16
5		5,0	2,5	13	3	18
6		0,1	5,5	17	7,5	-
7		1,0	3	15	6	12,5
8	31,0	1,4	4	13	5	12,5
9		2,8	27,5	-	3	18
10		5,0	51	-	3	28

Fonte: Do autor

A Figura 24 representa como ocorrem essas variações dos raios hidrodinâmicos médios em função da massa molar do PEO e concentração do PEO e Triton X-100.

Figura 24 – Raio hidrodinâmico para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 (barra vermelha) ou 35000 g mol⁻¹ (barra azul), com as porcentagem de agregados que apresentaram as respectivas dispersões de tamanho (valores acima das barras).



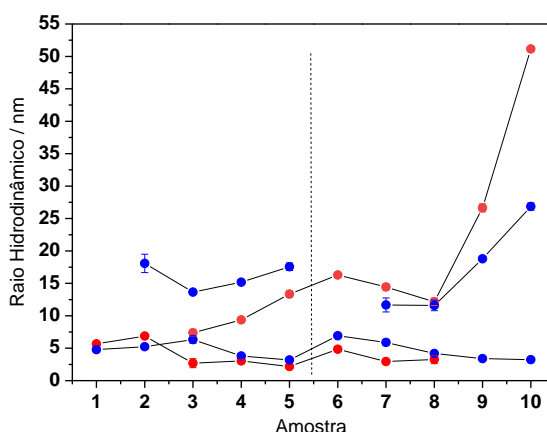
Fonte: do autor

Os resultados mostrados na Tabela 15 e na Figura 24 ressaltam grande variação no raio hidrodinâmico (R_h) dos agregados em função das concentrações de Triton X-100 e PEO, sendo o valor acima de cada barra a porcentagem de agregados que apresentaram as respectivas dispersões de tamanho. Na concentração de 12 mM, a partir da

concentração de 1,4% em massa de PEO 10000 g mol⁻¹ começam a aparecer duas populações de agregados, onde 89% das moléculas apresentam R_h de 3 nm e 11% das moléculas apresentam R_h de 7,5 nm. Ainda, a medida que a concentração do PEO aumenta, maior é a proporção de agregados maiores. Para o PEO 35000 g mol⁻¹ a mesma tendência foi observada, no entanto, em uma concentração menor de polímero (1% em massa), observou-se dois diferentes tamanhos de agregados, no qual 86% destes apresentaram R_h médio de 5 nm e 3% dos agregados apresentaram R_h de 18 nm.

Em maior concentração de Triton X-100 (31 mM), as misturas formadas por PEO 10000 g mol⁻¹ apresentaram duas diferentes distribuições de tamanho nas concentrações de 0,1, 1,0 e 1,4 em percentagem mássica, e apenas uma distribuição de tamanho para concentrações de 2,8 e 5,0% em massa no qual 100 % das moléculas apresentaram R_h de 27,5 e 51 nm, respectivamente. Comportamento oposto foi observado para o PEO 35000 g mol⁻¹, que, inicialmente, apresentou uma única distribuição de tamanho e, a partir da concentração de 1% em massa, duas distribuições de tamanho foram observadas. Em ambos os casos, observamos que à medida que a concentração de PEO aumenta, o tamanho dos agregados observados também cresce. Esta tendência também pode ser observada em um outro formato visual conforme representado na Figura 25.

Figura 25 - Raios hidrodinâmicos para misturas formadas pela mistura de PEO 10000 e 35000 g mol⁻¹ e Triton X-100, sendo (●) PEO 10000 e (●) PEO 35000 g mol⁻¹.



Fonte: Do autor

A Figura 25 ressalta a marcante tendência no aumento do raio hidrodinâmico quando a concentração do PEO é elevada, sugerindo uma participação efetiva dos

segmentos EO na formação dos agregados. Ao que os dados de DLS indicam, os agregados não são formados apenas por moléculas de Triton, mas também por segmentos EO e quanto maior for o número de segmentos EO, maiores são os tamanhos médios aparentes dos agregados.

Os dados aqui apresentados são consistentes com o observado por Ge, Zhang e Guo (2007), que relatou a formação de clusters na forma de corais em misturas de Triton X-100 com PEO com massas molares superiores a 2000 g mol^{-1} . De fato, a maior concentração de PEO parece contribuir para a formação de clusters maiores. Além disso, quanto maior a concentração de Triton X-100, maior também os clusters observados.

6.2.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

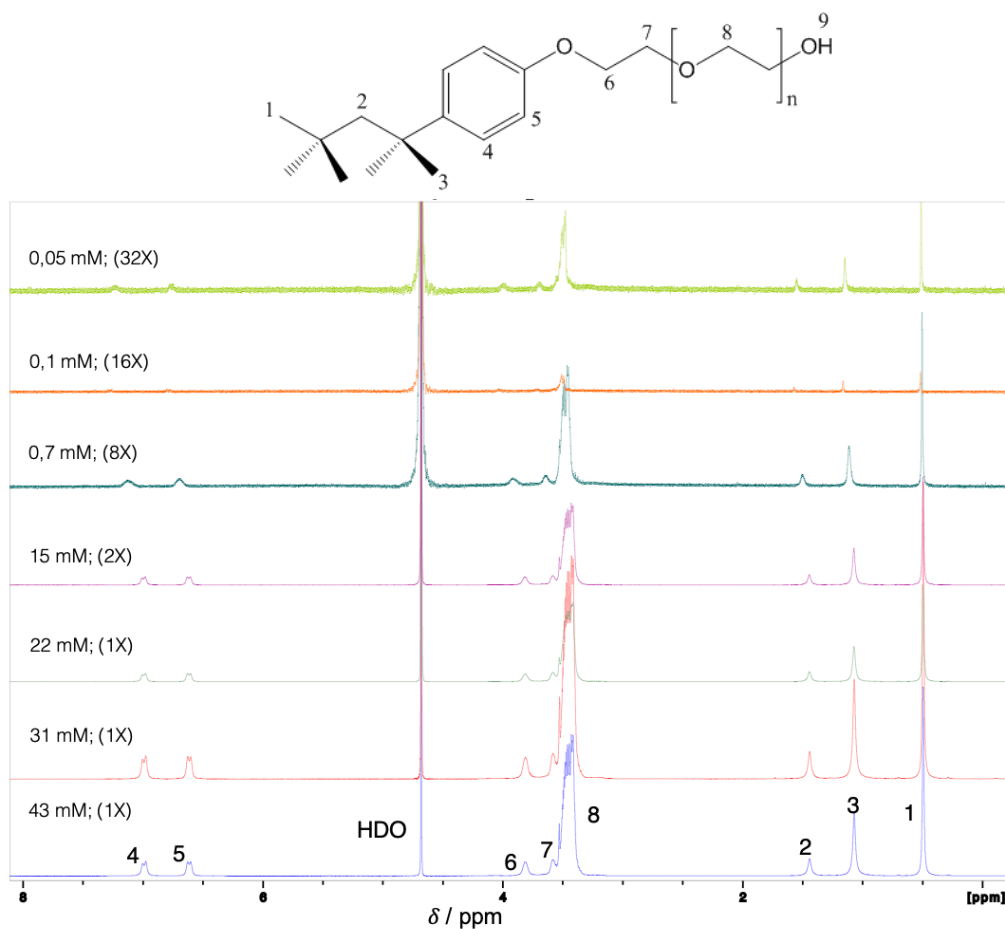
A técnica de ressonância magnética nuclear foi empregada para estudar aspectos estruturais e dinâmicos das interações intermoleculares entre os segmentos dos PEO's com as moléculas de Triton X-100. Experimentos de RMN de ^1H foram utilizados para determinar se as cadeias de polímeros passam ou não pelo núcleo hidrofóbico das micelas de Triton X-100 na formação dos complexos Triton-PEO. O PEO é um polímero linear formado por unidades repetitivas de óxido de etileno, EO, e sua interação com os núcleos hidrofóbicos das micelas de Triton X-100 possivelmente mudará o microambiente dos prótons deste surfactante. Isso ocorre devido à polaridade da molécula de PEO ser muito maior que a cadeia alquil da molécula Triton X-100, o que resulta em uma mudança química de prótons da porção hidrofóbica do Triton X-100 no espectro de RMN de ^1H . Além disso deve-se considerar os efeitos de desolvatação das regiões hidrofóbicas das moléculas de Triton X-100.

6.2.3.1 Efeito da agregação de Triton X-100 sobre os ambientes químicos e magnéticos dos prótons

Na Figura 26 são apresentados espectros de RMN de ^1H de soluções aquosas de Triton X-100 em diferentes concentrações. No topo da Figura 26 também são mostrados os assinalamentos para cada ^1H na molécula. É possível notar que alguns prótons, a destacar **4** e **5** que são aromáticos, e **6** e **7** que são de grupos $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ vizinhos mais imediatos ao anel aromático, apresentam considerável mudança de seus deslocamentos

químicos para ambientes magnéticos mais blindados, região de campo alto com o aumento da concentração. Estas mudanças são mais pronunciadas para concentrações mais baixas e na região da cmc tornando-se imperceptíveis para concentrações muito acima da concentração crítica de agregação.

Figura 26 - Espectros de ^1H RMN de soluções aquosas de Triton X-100 em diferentes concentrações adquiridos a 24 °C. As concentrações de Triton X-100 são mostradas e as magnificações de cada espectro em parêntesis.

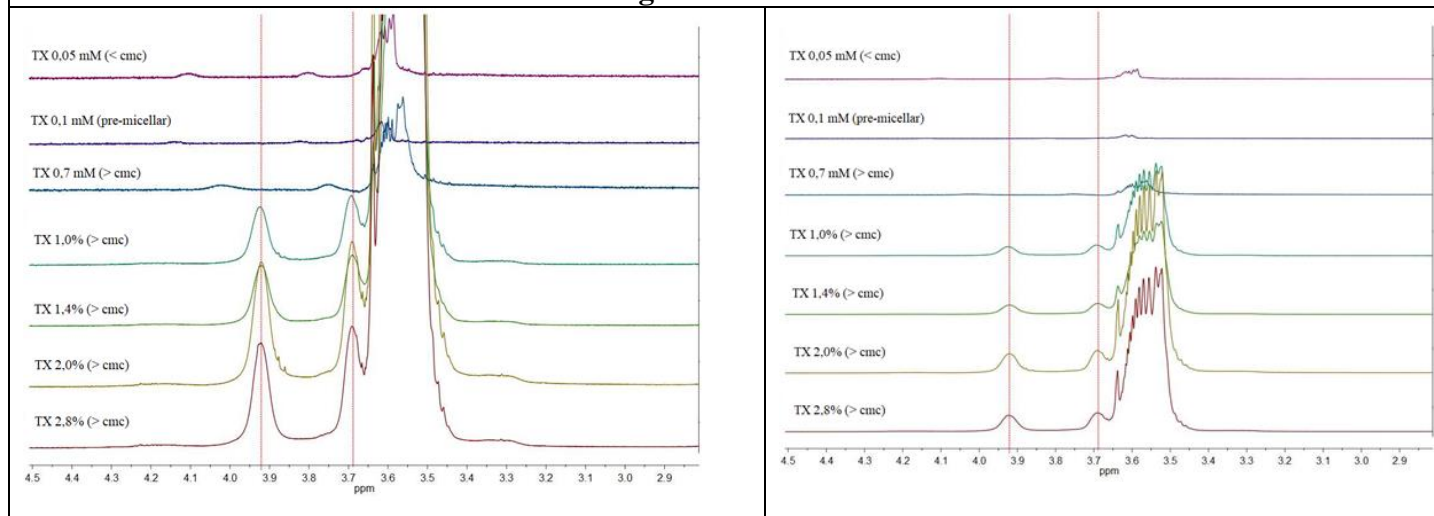


Fonte: do autor

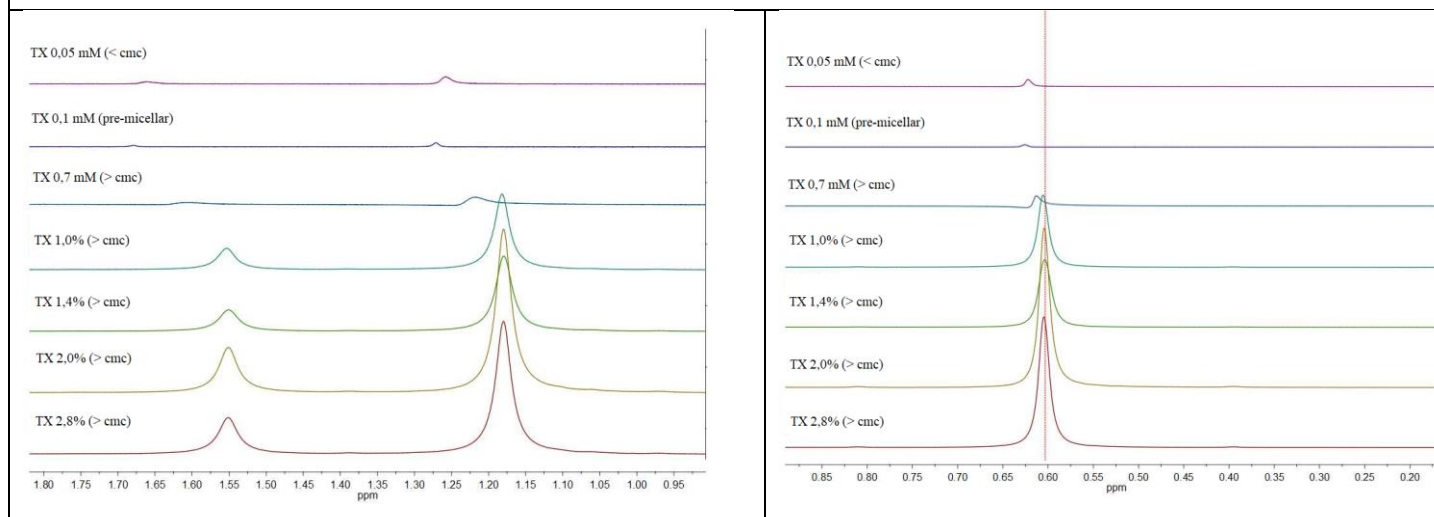
Analisando separadamente cada região da molécula de Triton X-100, nota-se claramente como o aumento da concentração influencia as mudanças de deslocamento químico destacadas nos espectros da Figura 27. Para todas as regiões da molécula de Triton X-100 nota-se um deslocamento dos valores de $\delta(^1\text{H})$ para regiões de alto campo, correspondendo a menores valores de δ . Para melhor clareza estas variações de δ são separadas por regiões da molécula de Triton X-100 como ilustrado nos espectros da Figura 27.

Figura 27 – Espectros de ^1H RMN ampliados de soluções aquosas de Triton X-100 em diferentes concentrações adquiridos a 24 °C. As concentrações de Triton X-100 são mostradas e as magnificações de cada espectro em parêntesis.

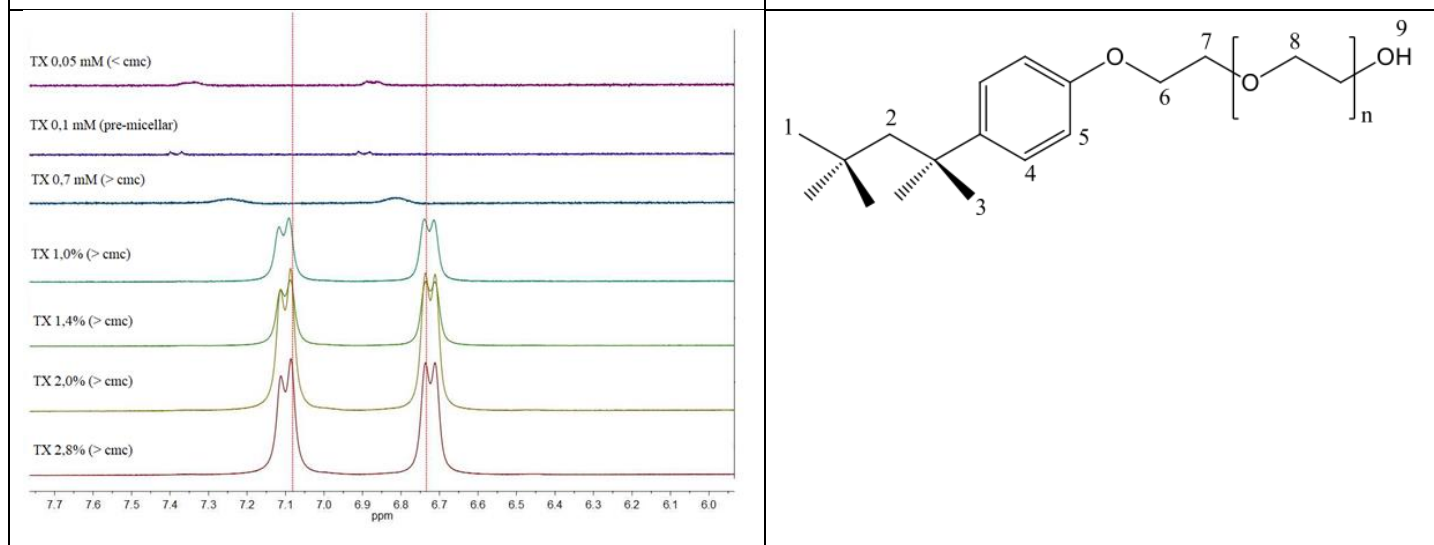
Região Hidrofílica



Região hidrofóbica (alquílica)



Região hidrofóbica (aromática)



Para os prótons com caráter mais hidrofílico, por exemplo dos grupos [-CH₂-CH₂-O-] correspondentes aos ¹H denominados por **6** e **7**, ocorrem discretos deslocamentos para campo alto. As variações de δ /ppm para estes ¹H são relativamente pequenas (dados apresentados na Tabela 17). Para os prótons dos demais grupos [-CH₂-CH₂-O-] os picos ficam sobrepostos ao longo de uma faixa ampla de deslocamentos químicos impedindo uma atribuição precisa.

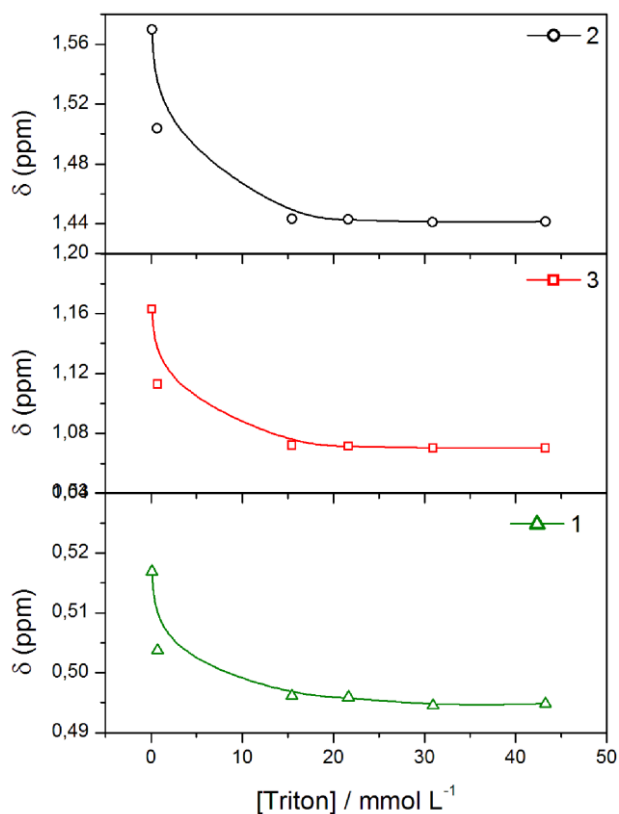
Tabela 16- Variações dos valores de ¹H para as soluções aquosas de Triton X-100 na ausência de PEO.

[Triton X-100] (mM)	$\delta^1\text{H} / \text{ppm}$							
	1	3	2	8	7	6	5	4
0,05	0,5109	1,162	1,576	3,4748	3,7209	4,1871	7,277	6,9045
0,1	0,5055	1,1104	1,502	3,5066	3,6567	3,9345	7,1365	6,6947
0,7	0,492	1,071	1,4444	3,4509	3,58383	3,8039	6,7933	6,6306
15	0,4968	1,0718	1,4435	3,4279	3,5832	3,8136	6,8169	6,6237
22	0,4939	1,0758	1,4418	3,5226	3,5898	3,8209	6,8244	6,6295
31	0,4942	1,0706	1,4416	3,5369	3,5805	3,8197	6,8242	6,6299

Fonte: Do autor

O deslocamento químico em função da concentração de Triton X-100 também pode ser observado na Figura 28.

Figura 28 - Deslocamentos químicos em função da concentração de Triton X-100 para os prótons **1**, **2** e **3**.



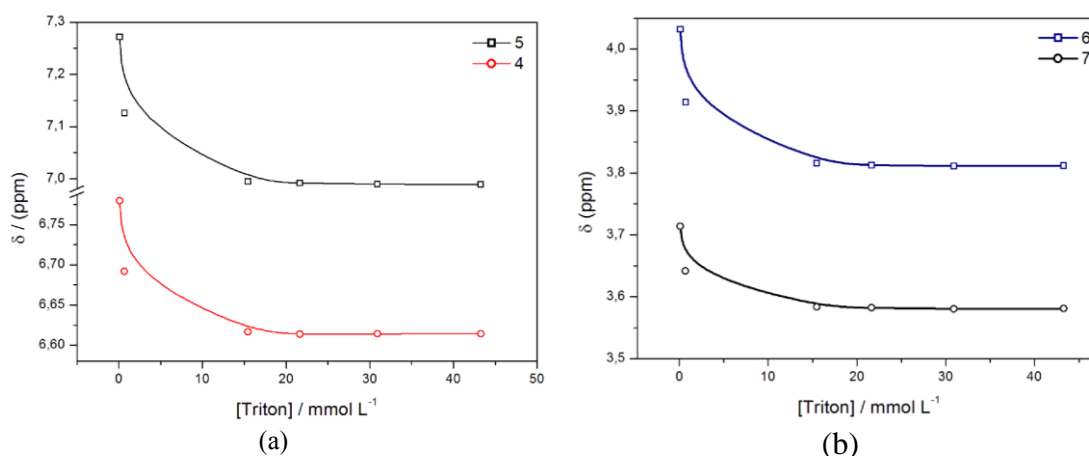
Fonte: Do autor

A Figura 28 mostra que os valores de δ seguem uma mesma tendência de queda com o aumento da concentração de Triton para os prótons da região hidrofóbica alquílica, correspondente aos grupos **1**, **2** e **3**. Para concentrações de Triton X-100 de 0,1 mM ou mais baixas. A queda de δ é abrupta e após a faixa de cmc os valores de δ permanecem praticamente constantes com o aumento da concentração do surfactante. Estes resultados sugerem em princípio que as moléculas de Triton X-100 estão em equilíbrio envolvendo dois estados no equilíbrio *monômero livre* \Leftrightarrow *micelas*. Para um processo de agregação de dois estados: $n\text{Triton} \rightleftharpoons (\text{Triton})_n$.

No qual n Triton representa n moléculas de Triton X-100 livres em solução e $(\text{Triton})_n$ representa uma micela de Triton X-100 formada por n moléculas. Logo o comportamento das curvas para os prótons ^1H (**1**, **2** e **3**), apresentados nos gráficos da Figura 28 sugere que o processo de micelização das moléculas de Triton X-100 deve envolver dois estados. Sendo que as variações nos deslocamentos químicos começam a ocorrer na faixa de concentração correspondente a cmc, cujos valores reportados na literatura sugerem que o processo de agregação micelar ocorre na faixa de 0,2 a 0,34 mM (ANAND; JASH; MUKHERJEE, 2011; MACHADO et al., 2016; TAN; HUANG; HUANG, 2010). Para concentrações de Triton X-100 muito superiores a cmc o decaimento é bastante suave compatível com a preponderância de moléculas de triton no estado agregado que determina os valores de δ obtidos por RMN.

Para os ^1H aromáticos **4** e **5** os resultados mostrados na Figura 29-(a) apresentam tendências muito próximas às já apresentadas para os prótons da cadeia alifática.

Figura 29 - Dependência dos deslocamentos químicos em função da concentração de Triton X-100 para os prótons **4** e **5**.



Fonte: Do autor.

Esta tendência também é observada para os prótons **6, 7**, Figura 29-(b). Este fato sugere que o processo de agregação afetam de maneira semelhante todos os grupos das moléculas de Triton X-100 desde os grupos alquílicos (^1H **1, 2 e 3**), aromáticos (**4 e 5**) aos grupos $-\text{CH}_2-$ dos segmentos EO que apresentam um caráter predominantemente hidrofílicos.

De acordo com estudo de Denkova et al. (2008) há um aumento aproximadamente linear do raio hidrodinâmico do Triton X-100 desde concentrações de poucas unidade de mM até a faixa de 77,5 mM cujo raio hidrodinâmico ficou na faixa de 4,2 a 7 nm. Esse crescimento do raio hidrodinâmico e também as mudanças na razão de aspecto para formas mais alongadas não resultou em mudanças aparentes na tendência dos gráficos das Figuras 28 e 29.

6.2.3.2 Efeito da presença de PEO sobre os agregados micelares de Triton X-100

As Figuras 30-32 correspondem aos espectros de RMN de ^1H para as misturas formadas por Triton X-100 + PEO + água em diferentes concentrações. Ao avaliar o efeito da massa molar de PEO na microestrutura das micelas de Triton X-100, a concentração de PEO foi mantida em 5% (porcentagem de fração mássica) para comparar com estudos feitos por Ge e colaboradores que avaliou a interação entre Triton X-100 e PEOs de massa molar 400, 2.000, 6.000, 10.000 e 20.000 g mol^{-1} (GE; ZHANG; GUO, 2007).

Figura 30 - Espectros ^1H RMN para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 + água.

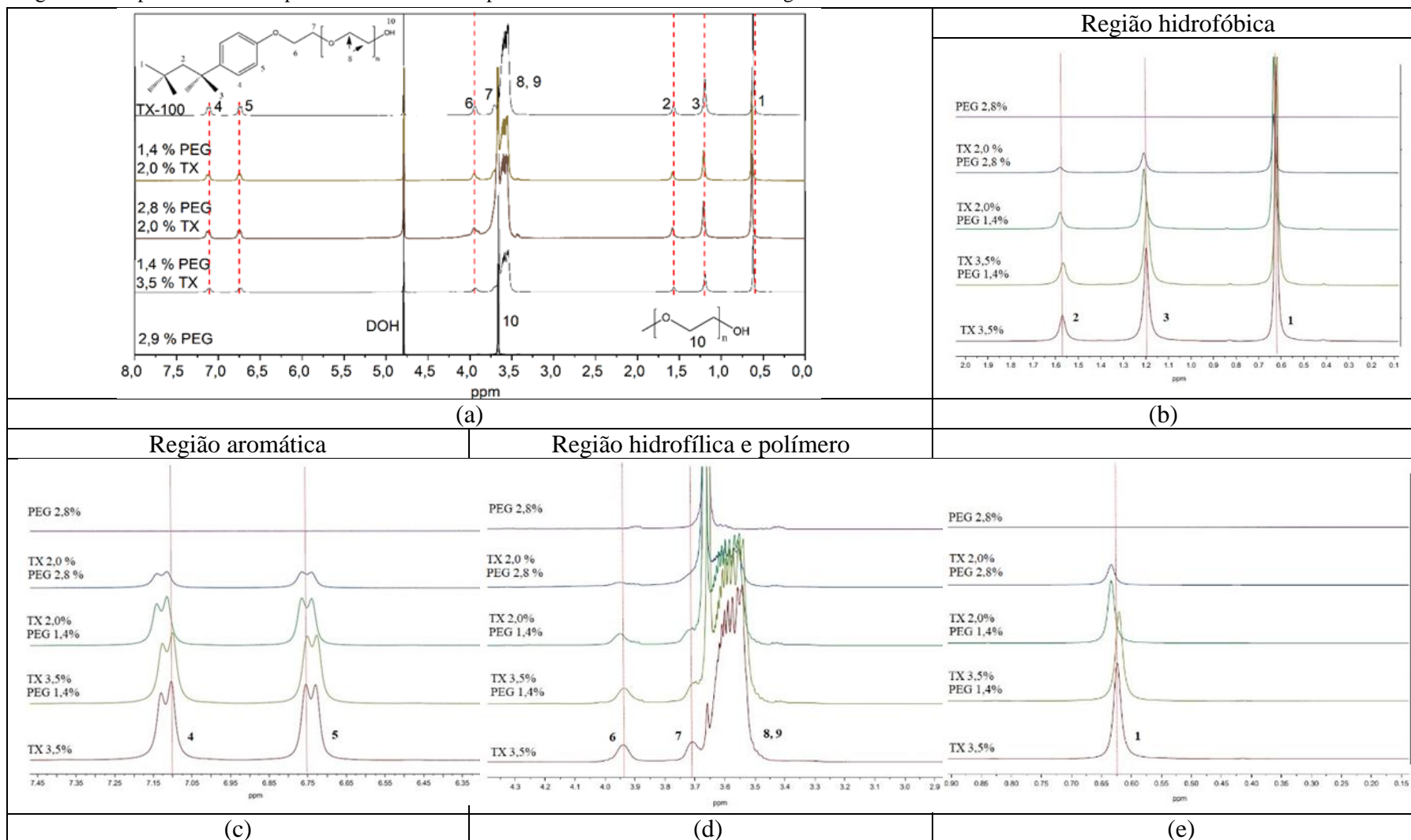


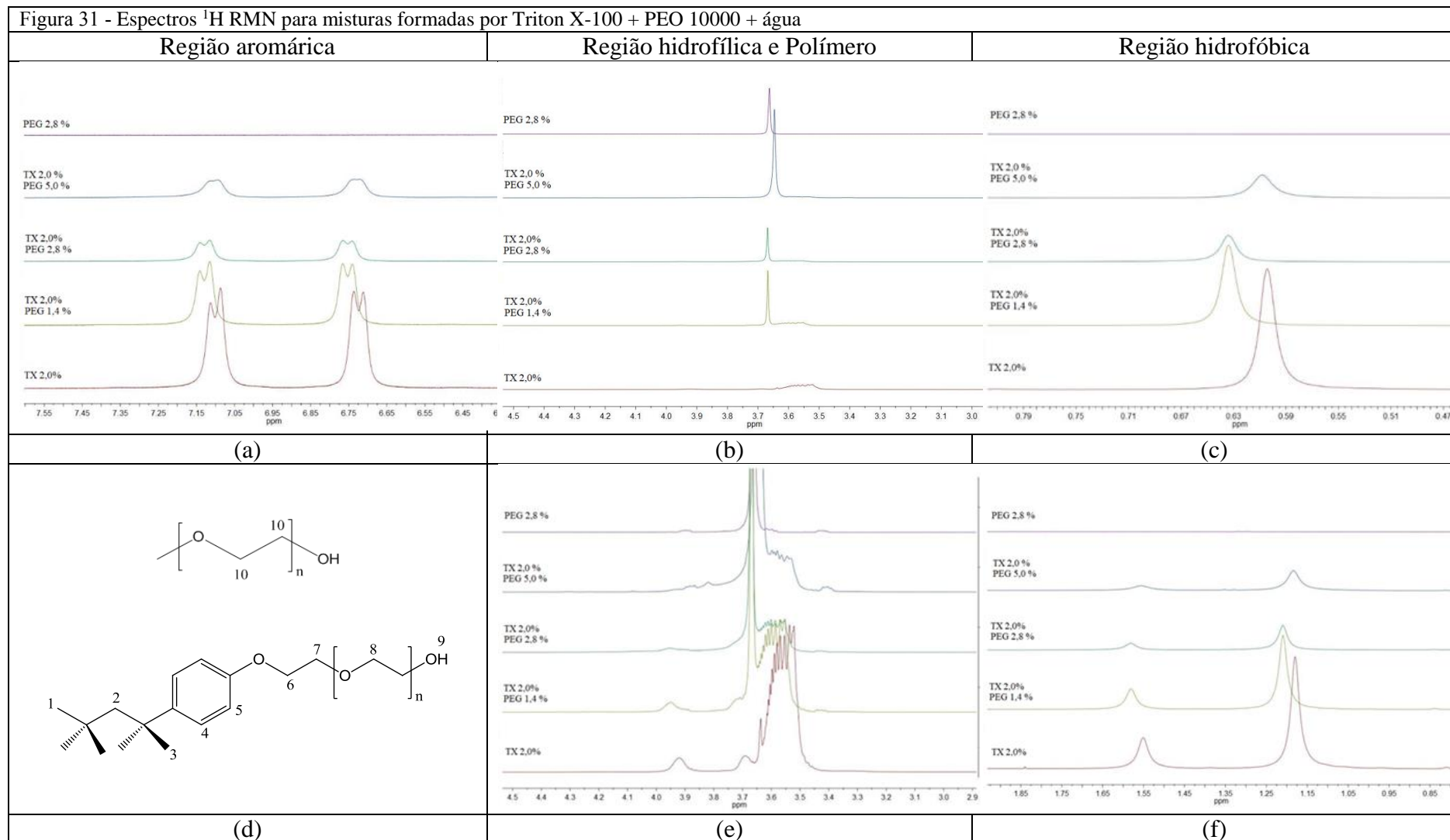
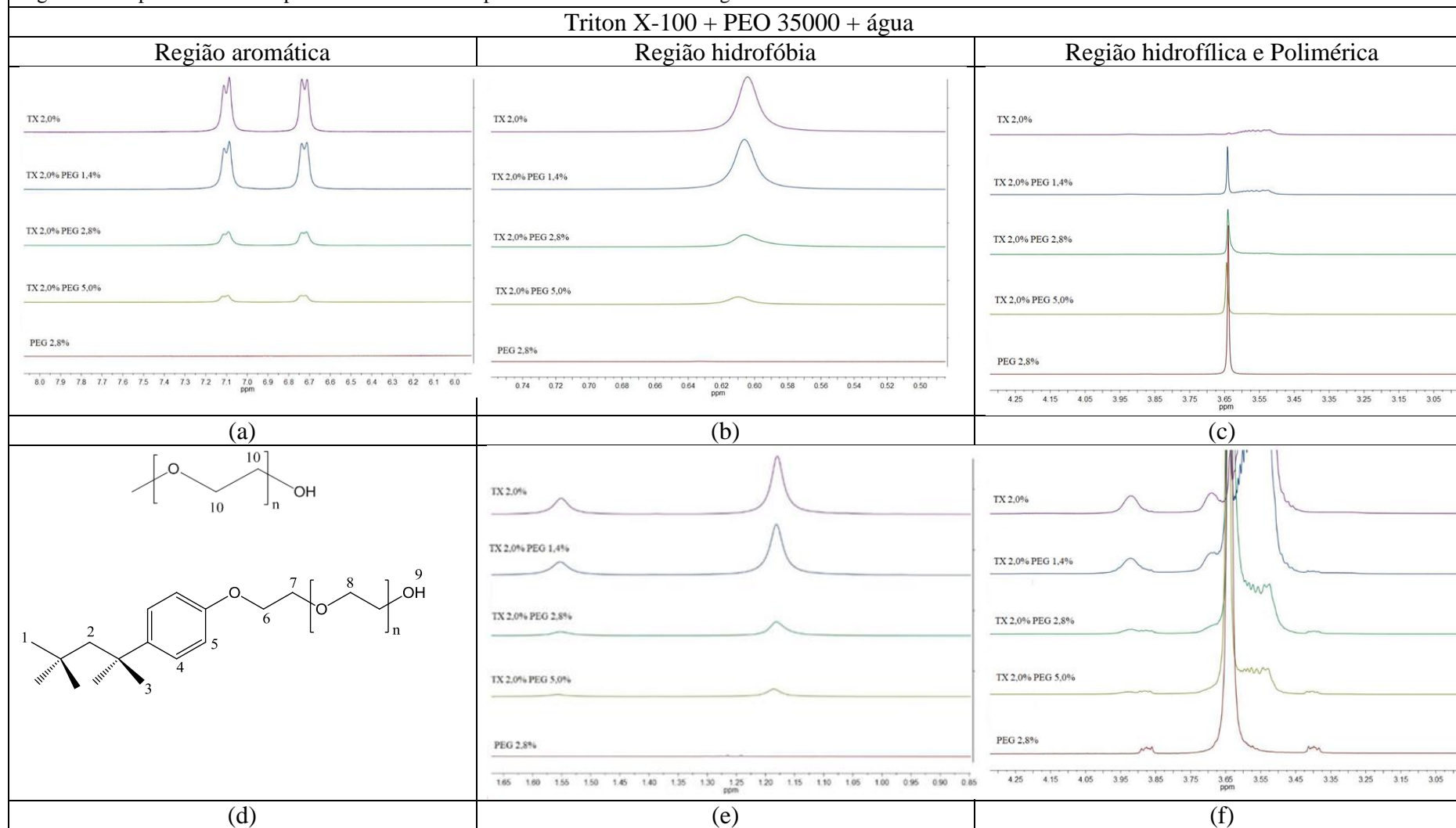
Figura 31 - Espectros ^1H RMN para misturas formadas por Triton X-100 + PEO 10000 + água

Figura 32 - Espectros ^1H RMN para misturas formadas por Triton + PEO 35000 + água.

Na Figura 30 foram obtidos espectros das misturas formadas por PEO 10000 e Triton X-100 em diferentes concentrações de forma a comparar as variações de deslocamentos químicos ao variar apenas a concentração de PEO mantendo-se a concentração de Triton X-100 constante e vice-versa. A partir dos espectros relatados na Figura 30 e dos deslocamentos químicos destacados na Tabela 17 abaixo pode-se inferir que a presença de PEO 10000 g.mol⁻¹ induz diferentes ambientes químicos para os grupos químicos do Triton. Na mistura, os sinais são mais definidos e deslocados para cima em comparação com os componentes separados. Os grupos metil foram deslocados em torno de 0,031 ppm (~ 10 Hz) nas posições **1**, **2** e **3**. Os grupos aromáticos **5** e **4** também apresentaram deslocamento para campo superior. Estes resultados sugerem que os agregados de Triton X-100 assumem conformações diferentes presença de PEO.

Tabela 17 - Deslocamentos químicos de prótons de moléculas de Triton X-100 e PEO 10000 ou 35000 em diferentes concentrações.

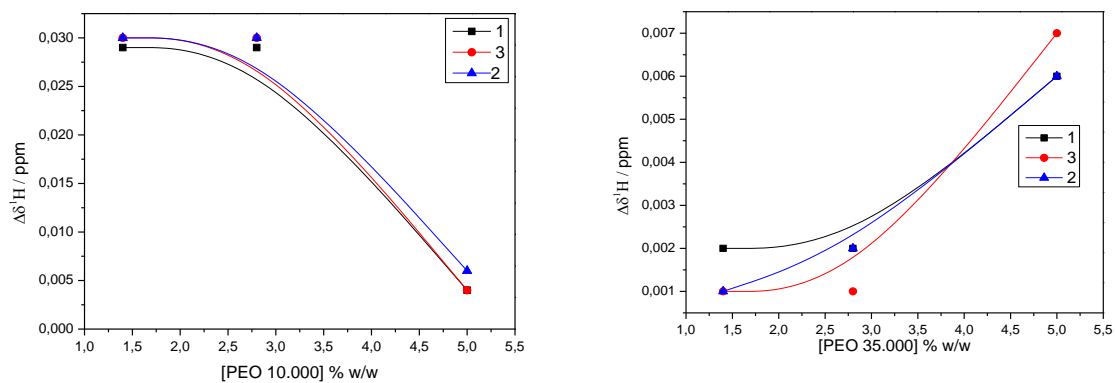
Mistura	$\Delta\delta\text{H1}$	$\Delta\delta\text{H3}$	$\Delta\delta\text{H2}$	$\Delta\delta\text{H7}$	$\Delta\delta\text{H6}$	$\Delta\delta\text{H5}$	$\Delta\delta\text{H4}$	$\Delta\delta\text{H10}$
Triton X-100 + PEO 10000 g mol⁻¹								
TX 3,5% PEO 1,4%	-0,003	-0,003	-0,004	-0,013	+0,003	-0,003	-0,004/	-0,007
TX 2,0% PEO 1,4%	+0,010	+0,010	+0,010	-0,015	+0,009	+0,011	+0,011	+0,005
TX 2,0% PEO 2,8%	+0,010	+0,011	+0,010	-	+0,012	+0,011/	+0,011/	+0,006
Triton X-100 (concentração fixa) + PEO 10000 g mol⁻¹								
TX 2,0% PEO 1,4%	+0,029	+0,0030	+0,030	+0,018	+0,029	+0,028	+0,028	+0,005
TX 2,0% PEO 2,8%	+0,029	+0,030	+0,030	-	+0,030	+0,028	+0,029	+0,006
TX 2,0% PEO 5,0%	+0,004	+0,004	+0,006	-	-	+0,011	+0,007	+0,005
Triton X-100 (concentração fixa) + PEO 35000 g mol⁻¹								
TX 2,0% PEO 1,4%	+0,002	+0,001	+0,001	-0,0002	-0,0005	+0,001	-0,002	+0,002
TX 2% PEO 2,8%	+0,002	+0,001	+0,002	+0,003	+0,002	+0,003	-0,011	+0,001
TX 2% PEO 5,0%	+0,006	+0,007	+0,006	+0,007	+0,008	+0,005	-	+0,005

Fonte: Do autor.

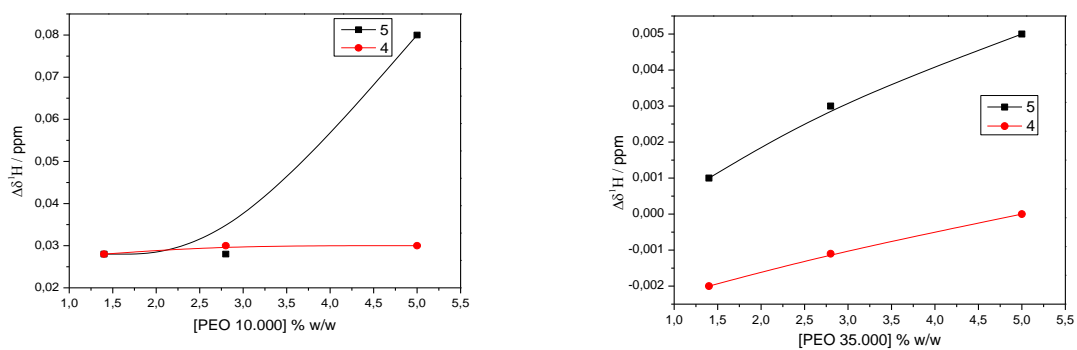
A Figura 33 mostra separadamente a variação nos deslocamentos químicos dos prótons de cada região da molécula de Triton X-100 para as diferentes massas molares de PEO 10000 e 35000, sendo os prótons **1**, **2** e **3** correspondentes aos grupamentos hidrofílicos, Figura 35(a), os prótons **4** e **5** correspondentes a região aromática Figura 35(b) e os prótons **6** e **7**, à região menos hidrofóbica ou mais hidrofílica dos segmentos óxido de etileno, Figura 33(c). Os

espectros foram obtidos em concentrações fixas de Triton X-100 na mistura de 2 % em massa, o que corresponde a 30 mM.

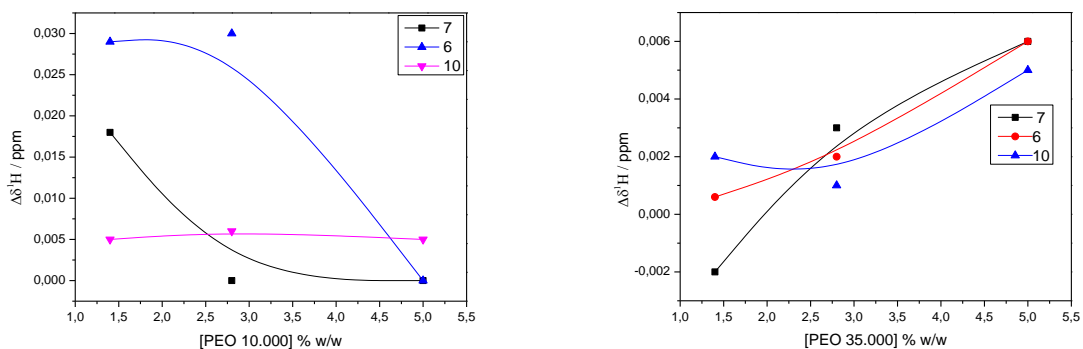
Figura 33 - Variação dos deslocamentos químicos de prótons de moléculas de Triton X-100 e PEO 10000 ou 35000 em diferentes concentrações.



(a)



(b)



(c)

Fonte: Do autor

De uma forma geral todos os ^1H dos diferentes grupos químicos das moléculas de Triton X-100 apresentaram variações em seus respectivos deslocamentos ao adicionar PEO ao sistema

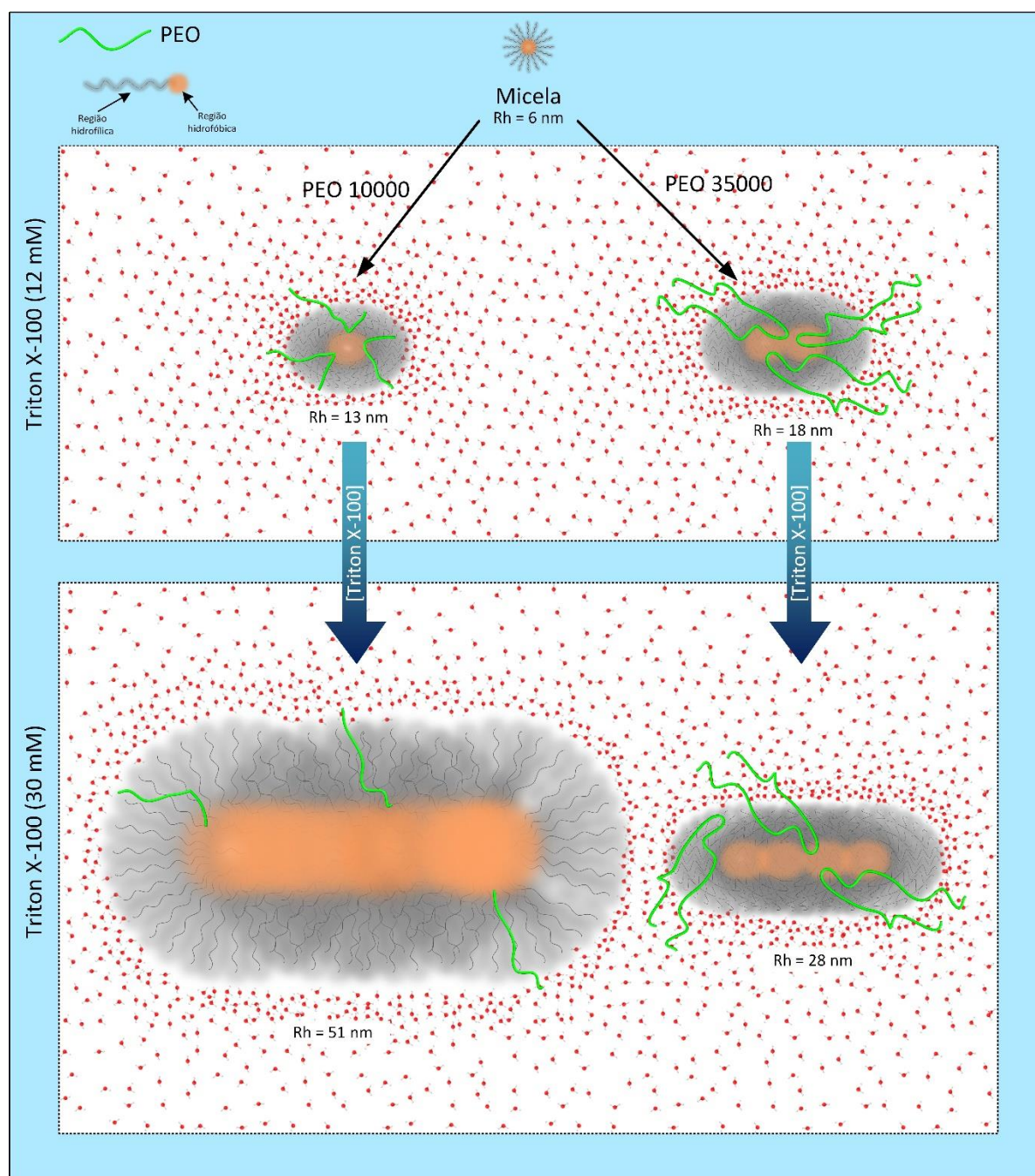
para ambas as massas molares. Nos grupamentos alquílicos hidrofóbicos Figura 33(a), quando a concentração do polímero aumenta de 3 para 5 % em massa, os valores de $\Delta\delta$ ^1H para os prótons **1**, **2** e **3** caem de aproximadamente 0,03 para 0,005 ppm para o PEO 10000 e comportamento oposto é observado para o PEO 35000, onde $\Delta\delta$ ^1H aumenta de 0,0025 para 0,07 ppm.

Na região aromática, Figura 35(b), as variações para os respectivos deslocamentos químicos ocorrem em menor intensidade, exceto para o próton **5** na mistura formada por PEO 10000, no qual a variação no deslocamento químico tem um incremento de 0,03 para 0,08 ppm ao variar a concentração de 3 para 5 ppm. Na região hidrofóbica, Figura 33(c), os valores de δ ^1H para as misturas formadas por PEO 10000 e 35000 g mol^{-1} mostram grandes variações nos valores de $\Delta\delta$ ^1H para os prótons **6** e **7**, Figura 35(c), indicando que os segmentos EO interagem com esta região das micelas.

Ge, Zhang e Guo (2007) em sua investigação sobre a interação PEO-Triton inferiram que as trocas químicas dos prótons das cadeias alquil tiveram magnitude desprezíveis com a adição de PEO, dessa forma sugeriram que as cadeias PEO não passam pelos núcleos de micelas do Triton X-100. No entanto, no presente trabalho os prótons próximos ao grupo fenoxi exibiram mudanças químicas significativas, indicando que os segmentos hidrofílicos do PEO penetram nos grupos hidrofílicos das micelas de Triton X-100 e aumentaram a quantidade de água combinada por ligação de hidrogênio no interior da micela e deterioraram a blindagem dos prótons próximos ao grupo fetoxi. Os autores também consideraram que para a solução de micelas de Triton X-100, os desvios desprezíveis dos prótons das cadeias alquil podem ser atribuídos à adsorção de porções Triton X-100 em cadeias PEO.

A Figura 34 ilustra como a forma e tamanho dos agregados de Triton X-100 se organizam na presença de PEO 10000 e 35000 g mol^{-1} de acordo com as técnicas estudadas no presente trabalho.

Figura 34 – Modelo de interação PEO/Triton X-100 a partir dos dados obtidos no presente trabalho.



Fonte: Do autor

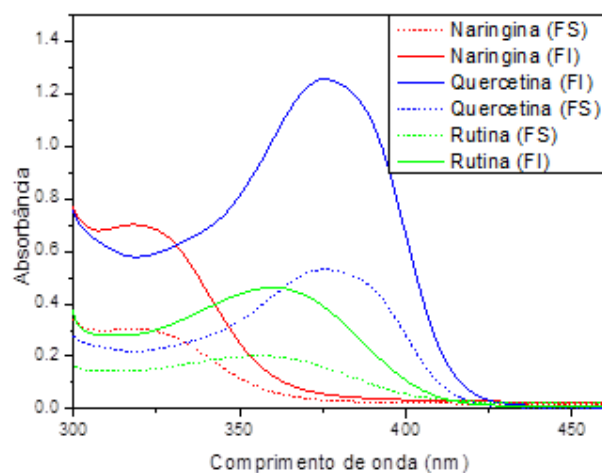
6.3 TERCEIRA PARTE – ESTUDO DE PARTIÇÃO DE FLAVONOIDES EM SABMs

Nessa seção serão apresentados estudos conduzidos com diferentes flavonoides e seus respectivos comportamentos de partição em SABMs.

6.3.1 Influência da concentração do flavonoide no coeficiente de partição

Preliminarmente aos estudos de partição conduzidos avaliou-se mudanças nos espectros dos flavonoides nas fases do SABM para descartar possíveis deslocamentos, como os desvios batocrômico ou hipsocrômico. A Figura 35 representa os espectros de absorção dos flavonoides nas fases inferior e superior do SABM constituído por Triton X-100 + PEO 10000 g.mol⁻¹ + água na primeira LA de cada sistema na temperatura de 25 °C.

Figura 35 - Espectros de absorção dos flavonoides nas fases inferior e superior do SABM em estudo.



Fonte: do autor

Observa-se que os comprimentos de onda de máxima absorção para a naringina, rutina e quercetina são, respectivamente, 319, 359 e 377 nm e estão de acordo com os valores reportados na literatura (ISHII; FURUTA; KASUYA, 1997; PEREIRA et al., 2018; ZSILA; BIKÁDI; SIMONYI, 2003). Além disso, que não há deslocamentos no espectro com relação aos comprimentos de máxima absorção para os três flavonoides em ambas as fases. Destacasse que as mudanças de intensidade são relativas ao fato da ocorrência de maiores (ou menores) concentrações do flavonoide naquela fase. A partir dessa análise pode-se inferir que a variação na concentração dos constituintes das fases não interfere no comprimento de onda de máxima absorção dos flavonoides, eliminando assim possíveis interferências na determinação do coeficiente e partição (K_f).

6.3.2 Efeito da composição das fases no comportamento de partição

O CLA é um parâmetro termodinâmico que influencia significativamente o comportamento de partição de grande parte dos solutos em SAB, sendo amplamente explorado

em estudos de partição/extração, que geralmente relatam uma relação diretamente proporcional entre CLA e a eficiência na extração uma ampla variedade de compostos (JUNQUEIRA et al., 2018b; SOUZA et al., 2018). O CLA reflete a magnitude das diferenças de concentração dos componentes formadores do SAB nas fases em equilíbrio, portanto, sua alteração provoca mudanças na composição de mistura no SAB, numa dada temperatura fixa. O efeito das mudanças no CLA sob a partição dos flavonoides (K_f), Figura 36, foi avaliado a 25°C, a partir de SABM formados pelos polímeros (PEO 4000, 10000, 20000 ou 35000 g.mol⁻¹) + surfactante (Triton X-100 ou Tween 80) + água, (Tabela 7).

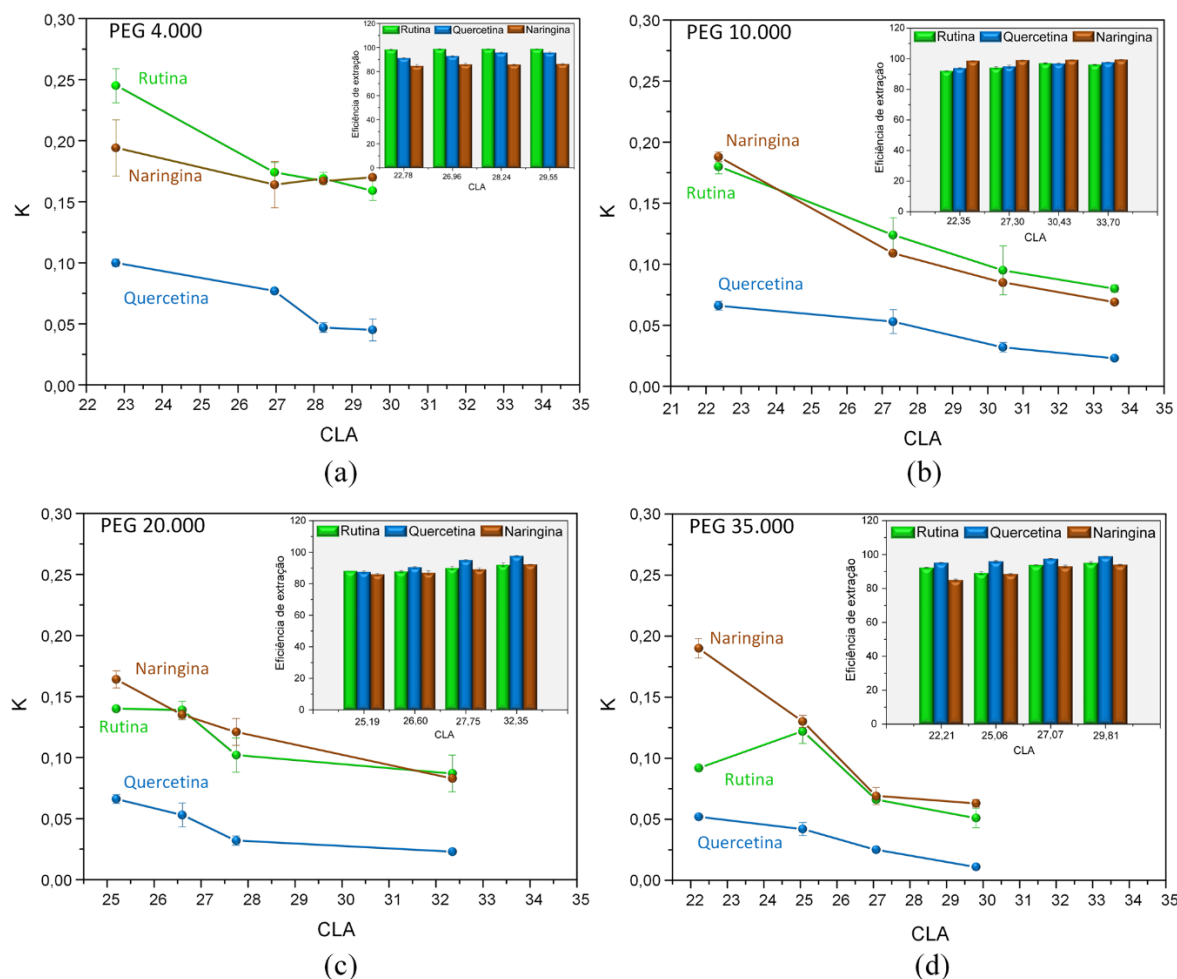
Observou-se que para todos os valores de CLA, o K_f encontrado foi menor que a unidade, e quanto maior o valor do CLA menor foi o K_f . Tal observação evidencia a concentração dos flavonoides preferencialmente na fase inferior dos sistemas. Esse comportamento era uma hipótese neste trabalho, visto que a molécula de flavonoide tem predominância de caráter hidrofóbico o que leva sua internalização no ambiente hidrofóbico das micelas que se concentram na fase inferior dos SABM.

A partir dos valores de K_f é possível obter a eficiência de extração do processo como representado na Figura 36. Observa-se, nessa figura, gráficos de barra em que para todos os valores de CLA, a eficiência de extração dos flavonoides foi superior a 84%, chegando em alguns casos a 99%. Nota-se também uma relação diretamente proporcional entre a % E e o CLA para todas as massas molares de PEO estudadas.

Os resultados apresentados nesse estudo se mostraram promissores quando comparados aos dados levantados por outros autores sobre a extração de flavonoides. Por exemplo, Jun estudou a extração de seis flavonoides (rutina, hiperosídeo, quercetina-3-O-soporosídeo, isoquercitrina, astra-galina e quercetina) a partir de SABM formado pelos surfactante não iônicos Genapol X-080 e o surfactante catiônicos CTAB. Além de apresentar eficiências de extração mais baixas do que neste trabalho, os autores utilizaram solvente orgânico para aumentar a eficiência do processo (ZHOU et al., 2015).

Francisca e coautores estudaram a extração dos flavonoides naringina e rutina a partir de duas classes de SAB, sistemas mais convencionais formados por copolímero + sal + água e sistemas formados por líquidos iônicos + copolímeros. Os resultados obtidos apresentaram eficiência na extração inferiores ao trabalho aqui proposto, além disso a quantidade dos constituintes para induzir a separação de fases foram superiores às quantidades utilizadas neste trabalho, fator que encarece o processo, principalmente se for reproduzido em grandes escalas.

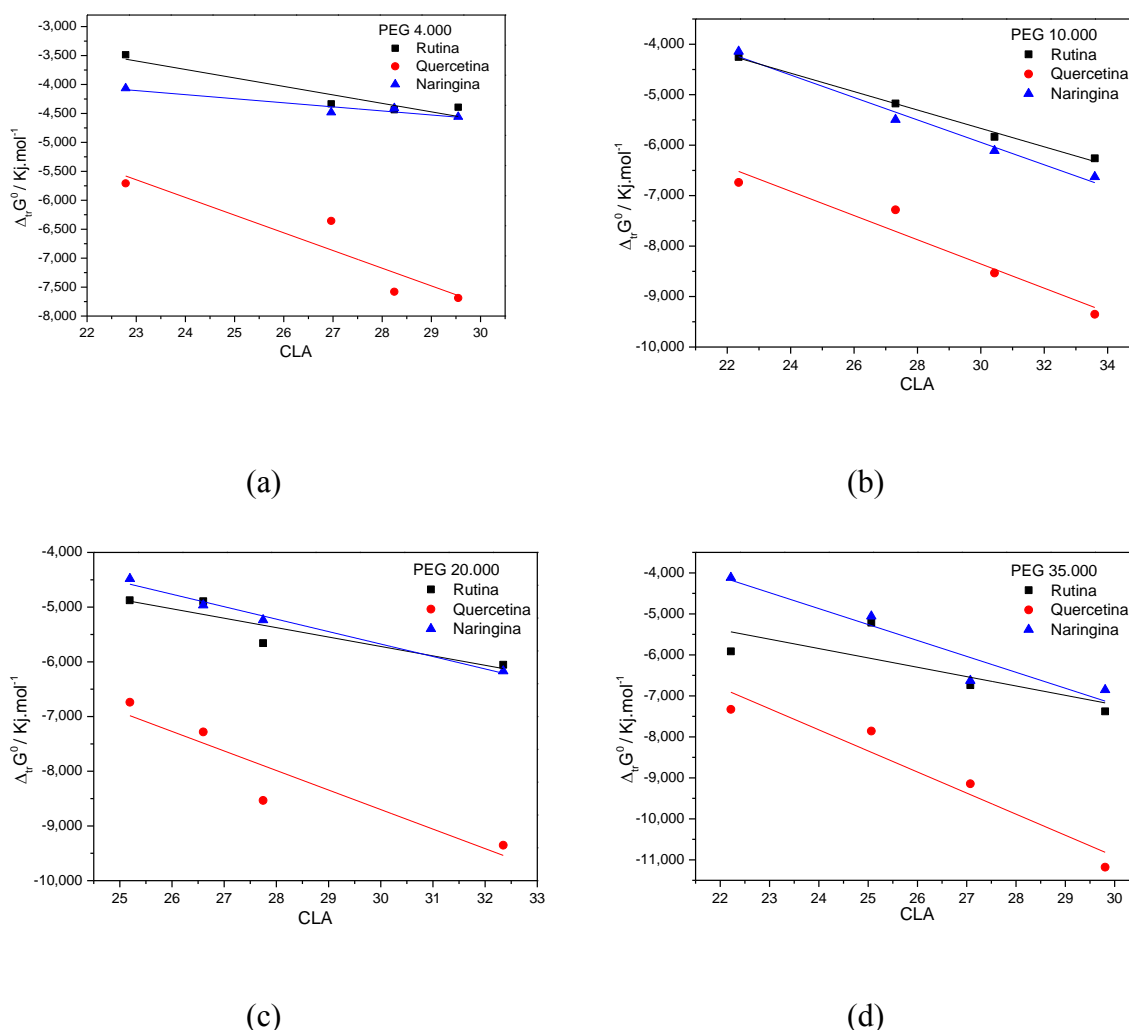
Figura 36 - Efeito do CLA na partição de flavonoides em SABM formados por:(a) PEO 4000 g.mol⁻¹+ Triton X-100 + H₂O, (b) PEO 10000 g mol⁻¹+ Triton X-100 + H₂O, (c) PEO 20000 g mol⁻¹ + Triton X-100 + H₂O, (d) PEO 35000 g mol⁻¹+ Triton X-100 + H₂O.



Fonte: do autor

É importante a compreensão do comportamento de partição de determinados solutos em SABM em termos das interações intermoleculares que ocorrem no processo de transferência. Neste caso, as interações surfactante-surfactante, surfactante-polímero, surfactante-solvente, surfactante-flavonoide, polímero-polímero, polímero-solvente, polímero-flavonoides são dependentes de vários fatores como a estrutura micelar, hidratação das cadeias poliméricas, do tamanho e forma dos agregados micelares. Além disso, as interações de todos os componentes formadores do SABM como o soluto particionado determinam o comportamento de transferência, $\Delta_{tr} G^0$. De acordo com a Equação 3A (APENDICE A), apresentada anteriormente, é possível encontrar uma relação entre o comportamento de partição (K_f) e $\Delta_{tr} G^0$. A Figura 37 representa os valores de $\Delta_{tr} G^0$ em função do CLA nas três temperaturas estudadas para diferentes massas molares de PEO.

Figura 37 - $-\Delta_t r G^0$ em função do CLA para as três temperaturas estudadas em diferentes massas molares de PEO.



Fonte: do autor

A Figura 37 mostra que a transferência dos flavonoides estudados, da fase polimérica para a fase enriquecida com surfactante é um processo termodinamicamente favorável, pois ocorre uma minimização da energia de Gibbs nesse sentido. Para todas as massas molares de PEO, a energia liberada no processo de partição é proporcional ao valor de CLA e a relação entre esses parâmetros é linear. Isso indica que o aumento da diferença entre as propriedades intensivas das fases gera uma maior preferência dos flavonoides pela fase enriquecida com surfactante. Quando o soluto particionado é a quercetina, uma maior quantidade de energia é liberada se comparada aos solutos naringina e rutina, indicando que esse flavonoide tem mais afinidade em termos de interação com a fase micelar.

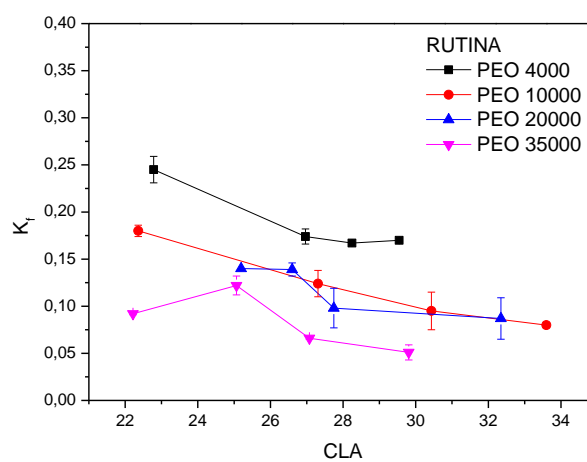
6.3.3 Efeito da massa molar do polímero

O efeito da massa molar do PEO foi avaliado para as massas molares (4000, 10000, 20000 e 35000) g mol^{-1} , Figura 38.

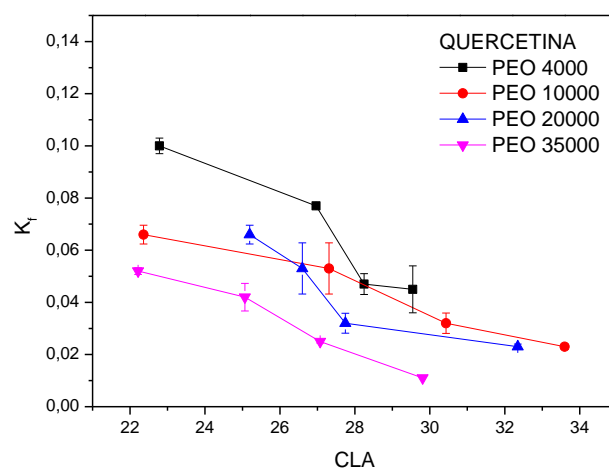
Observa-se que o aumento da massa molar do polímero favorece a migração dos três flavonoides para a fase inferior do SABM, assim temos: K_f (PEO 35000 > PEO 20000 > PEO 10000 > PEO 4000). Uma possível explicação para esse fenômeno é o efeito do volume de exclusão do polímero. Com o aumento da massa molar da macromolécula ocorre a expulsão de maior parte das micelas de Triton para a fase inferior, como as micelas representam o meio mais hidrofóbico, portanto preferencial para os flavonoides, observa-se uma distribuição mais acentuada dessas moléculas para a fase rica em micelas. Neste caso a principal força motriz que descreve o presente fenômeno se deve aos aspectos entálpicos (interação do flavonoide com o núcleo das micelas de Triton).

Nota-se, na Figura 38, que a quercetina possui o menor coeficiente de partição para todas as massas molares de PEO. Este fato pode ser explicado ao observar a estrutura molecular deste composto. A quercetina possui um maior caráter hidrofóbico quando comparada à rutina que possui um dissacarídeo ligado a posição 3 do anel e a naringina que apresenta estrutura glicosilada, tais características tornam essas duas mais hidrofílicas do que a quercetina. Tal fator promove uma maior interação entre a quercetina e os componentes da fase inferior do sistema que tem alto caráter hidrofóbico. Isso reforça a hipótese da força motriz da partição acentuada para a fase inferior ser entálpica.

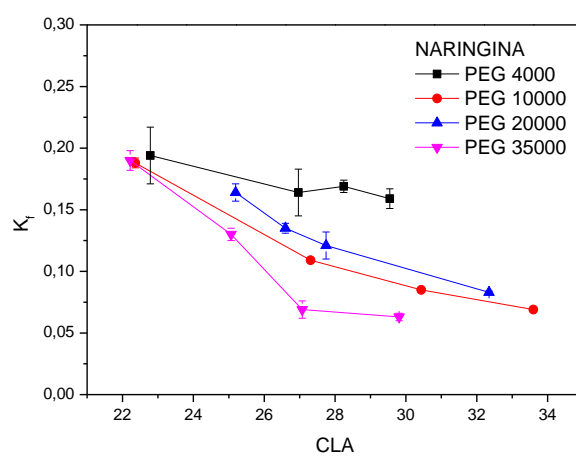
Figura 38 - Efeito da massa molar no comportamento de partição, a 25° C, nos flavonoides (a) Rutina, (b) Quercetina e (c) Naringina.



(a)



(b)



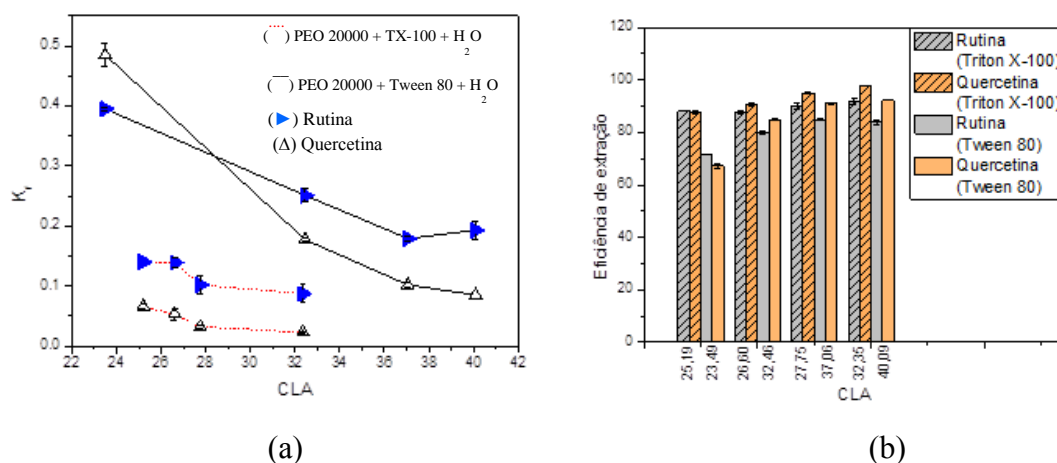
(c)

Fonte: do autor.

6.3.4 Influência do surfactante no coeficiente de partição dos flavonoides

Estudar a influência do surfactante no comportamento de partição em SABM é uma relevante opção para obter informações sobre a contribuição hidrofóbica entre os componentes do sistema e a partição dos flavonoides. A Figura 39 mostra o comportamento de partição dos flavonoides rutina e quercetina a 25 °C para os SABM formados por PEO 20000 + Triton X-100 ou Tween 80 + água. A naringina não pôde ser estudada aqui, pois sua banda de absorção no espectrofotômetro coincide com a banda de absorção do tween no SAB, impossibilitando a quantificação deste flavonoide no sistema por UV-Vis.

Figura 39 - Efeito do surfactante no comportamento de partição dos flavonoides naringina e quercetina à 25 °C.



Fonte: do autor

Os resultados, (Figura 39), mostram uma relação inversamente proporcional entre CLA e K_f para ambos os surfactantes. Os valores de K_f são menores para o SABM constituído pelo surfactante Triton X-100 do que para o Tween 80. Uma possível explicação para esse fato é que a molécula de Tween 80, quando comparada com a molécula de Triton X-100 tem um menor caráter hidrofóbico, isso faz com que ela provoque uma menor segregação entre as fases de um SAB para o mesmo polímero (LIU; FENG; ZHAO, 2013). Tal evento influenciará diretamente na partição do composto hidrofóbico como o flavonoide, que também será um menor tendência de se concentrar em uma das fase do sistema e consequentemente um maior valor de K_f .

Destaca-se também que nas duas fases micelares desses dois SABM, o número de agregação de micelas na fase rica em Triton X-100 é duas vezes maior que na fase rica em

Tween 80 para condições de composição semelhantes e o tamanho da micela de Triton X-100 é ligeiramente maior que o de Tween 80 com base no seu peso molecular de micela (SIVARS et al., 1996). A partir disso pode-se afirmar que a estrutura micelar do Triton X-100 seria menos sensível à concentração de surfactante do que a estrutura micelar de Tween 80 considerando a entropia configuracional do sistema.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O comportamento de fases para novos sistemas aquosos formados por Triton X-100 + PEO 10000 ou 35000 g mol⁻¹ + água nas temperaturas de (10, 25 e 40) °C foi estudado neste trabalho em três diferentes âmbitos: estudo microscópico, macroscópico e aplicação. O estudo macroscópico referente as características termodinâmicas do sistema em estudo avaliou os efeitos da alteração da massa molar do polímero e da temperatura no equilíbrio de fase para os sistemas citados. Observou-se que a elevação da temperatura, em ambos SABMs estudados, favoreceu significativamente a formação dos sistemas permitindo a separação de fases em menores concentrações dos constituintes do SABM. Ao aumentar a massa molar do polímero há um incremento no caráter hidrofóbico das moléculas de polímero, fator que também é favorável a formação dos SABM.

Os dados experimentais das curvas binodais para os diferentes SABMs também foram ajustados através das equações empíricas de Othmer-Tobias, Bancroft, Hand e Setschenow. Os ajustes foram satisfatórios e mostram a consistência com os resultados experimentais. Os dados de equilíbrio líquido-líquido foram então correlacionados teoricamente usando o modelo estendido de rede de Flory-Huggins para misturas ternárias. Os parâmetros de interação dos pares dos componentes PEO-Triton X100 (λ_{12}), água-PEO (λ_{13}) e água-Triton X100 (λ_{23}), nos SABMs investigados, foram estimados em diferentes temperaturas e em duas configurações diferentes de surfactantes (molécula única e agregados micelares). Embora não tenha sido possível associar o perfil dos valores obtidos para os parâmetros de interação de Flory-Huggins ao comportamento interacional envolvido entre os componentes nas respectivas fases dos SABMs avaliados, o modelo permitiu recuperar os dados de equilíbrio líquido-líquido satisfatoriamente.

Os aspectos microscópicos do equilíbrio de fases foi avaliado a partir do estudo de interação PEO-Triton por meio das técnicas de PN, DLS e RMN que possibilitaram a proposta de um modelo de formação dos agregados considerando as interações polímero/surfactante. Os dados de PN mostraram que a temperatura de PN sobre forte influência da concentração e massa molar do PEO no qual o aumento tanto da concentração quanto da massa molar do PEO leva a uma queda acentuada na temperatura de PN. Os dados de DLS apontaram aumento significativo no tamanho e possivelmente no formato dos agregados de PEO/Triton X-100 que se pronunciaram com o aumento da concentração tanto do polímero quanto do surfactante. Os agregados alcançaram tamanhos distintos ao variar a massa molar do polímero, no qual a média de tamanho dos agregados formados por PEO 10000 foram maiores comparando com o PEO

35000 para mesmas condições de temperatura e concentração dos componentes avaliados. Os deslocamentos químicos avaliados por RMN de ^1H mostraram que todos os grupamentos químicos da micela de Triton X-100 são afetados com a inserção do polímero em solução de surfactante mostrando que os segmentos EO do PEO interagem tanto com as partes hidrofóbicas como com as partes hidrofílicas da micela modificando seu tamanho e forma.

A partir dos diagramas obtidos, juntamente com diagramas reportados na literatura envolvendo surfactantes e PEO de diferentes massas molares foi possível realizar estudos de partição envolvendo os flavonoides narigina, quercetina e rutina. Foram avaliados os efeitos da temperatura, composição, da massa molar do PEO e da hidrofobicidade do surfactante sobre a partição dos flavonoides. Os resultados apontaram grande eficiência dos SABMs em extrair os flavonoides chegando a 99% de extração em alguns casos. O aumento da massa molar do PEO e da concentração dos componentes favoreceram a extração de todos os flavonoides. Os resultados apontaram SABM formados por Triton-PEO como uma metodologia promissora na extração de flavonoides apresentando vantagens com relação a técnicas tradicionalmente usadas para extração destes compostos.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, B. et al. Antioxidant activities, polyphenol, flavonoid, and amino acid contents in peanut shell. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 18, n. 4, p. 437–442, 2019.
- AKBAŞ, H.; BOZ, M.; BATIGÖÇ, Ç. Study on cloud points of Triton X-100-cationic gemini surfactants mixtures: A spectroscopic approach. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 75, n. 2, p. 671–677, 2010.
- ALBERTSSON, P. Å. Partition of cell particles and macromolecules in polymer two-phase systems. **Advances in Protein Chemistry**, v. 24, p. 309–341, 1970.
- ALINEJAD, B.; GHORBANI, A.; SADEGHNIA, H. R. Effects of combinations of curcumin, linalool, rutin, safranal, and thymoquinone on glucose/serum deprivation-induced cell death. v. 3, n. 4, p. 8, 2013.
- ÁLVAREZ, M. S. et al. On the phase behaviour of polyethoxylated sorbitan (Tween) surfactants in the presence of potassium inorganic salts. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 55, p. 151–158, 2012.
- ÁLVAREZ, M. S. et al. Non-ionic surfactants and ionic liquids are a suitable combination for aqueous two-phase systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 502, p. 112302, 2019.
- ALVES, J. G. L. F. et al. Partitioning of whey proteins, bovine serum albumin and porcine insulin in aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 743, n. 1–2, p. 235–239, 2000.
- ANAND, U.; JASH, C.; MUKHERJEE, S. Spectroscopic determination of Critical Micelle Concentration in aqueous and non-aqueous media using a non-invasive method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 364, n. 2, p. 400–406, 2011.
- ARCHERS, D. G.; WANG, P. The dielectric constant of water and debye-hockel limiting Law slopes. **Journal of physical and chemical reference data**, v. 19, p. 41, 1990.
- ARORA, A. et al. Predicting the phase behavior of ABAC tetrablock terpolymers: Sensitivity to Flory–Huggins interaction parameters. **Polymer**, v. 154, p. 305–314, 2018.
- ARSHAD, N. et al. Electrochemical investigations of antioxidant interactions with radical anion and dianion of 1,3-dinitrobenzene. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 26, p. 6184–6189, 2009.
- ARUNAN, E. et al. Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011). **Pure and Applied Chemistry**, v. 83, n. 8, p. 1637–1641, 2011.
- ASENJO, J. A.; CHAUDHURI, J. B. Innovative separation methods in bioprocessing. In: **Separation Processes in the Food and Biotechnology Industries**. Elsevier, p. 179–206, 1996.

BAKHSHI, H.; MOBALEGHOLESLAM, P. Phase equilibria calculations of electrolyte solutions containing water- polymer- salt using a new thermodynamic model, applicable in aqueous two phase systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 434, p. 222–232, 2017.

BARBOZA, J. C. S.; SERRA, A. A. Ultra-som (I): influência do ultra-som na química. **Química Nova**, v. 15, n. 4, p. 302-316, 1992.

BARRUETO, Y. et al. Aqueous two-phase system of poly(ethylene glycol) 4000 and sodium molybdate at different temperatures. **Fluid Phase Equilibria**, v. 399, p. 66–73, 2015.

BASKARAN, D. et al. Partitioning of crude protein from aqua waste using PEG 600-inorganic salt Aqueous Two-Phase Systems. **Chemical Data Collections**, v. 15–16, p. 143–152, 2018.

BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. DE O. RUTINA – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. v. 1, n. 1, p. 5, 2009.

BEHRING, J. L. et al. Adaptação no método do peso da gota para determinação da tensão superficial: um método simplificado para a quantificação da CMC de surfactantes no ensino da química. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 492–495, 2004.

BERNAL, M. A. et al. Track structure modeling in liquid water: A review of the Geant4-DNA very low energy extension of the Geant4 Monte Carlo simulation toolkit. **Physica Medica**, v. 31, n. 8, p. 861–874, 2015.

BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.

BLANCO, A. et al. Physicochemical characterization of aqueous two phase systems containing Triton X-102 and sodium salts in the range of temperature from 288.15k to 318.15k. **Journal of Molecular Liquids**, v. 195, p. 1–8, 2014.

BLANKSCHTEIN, D.; THURSTON, G. M.; BENEDEK, G. B. Theory of phase separation in micellar solutions. **Physical Review Letters**, v. 54, n. 9, p. 955–955, 1985.

BOOTH, C.; ATTWOOD, D. Effects of block architecture and composition on the association properties of poly(oxyalkylene) copolymers in aqueous solution. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 21, n. 9, p. 501–527, 2000.

BORDIER, C. Phase separation of integral membrane proteins in Triton X-114 solution. **Journal of Biological Chemistry**, v. 256, n. 4, p. 1604–1607, 1981.

BREITBACH, M.; BATHEN, D.; SCHMIDT-TRAUB, H. Effect of ultrasound on adsorption and desorption processes. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 42, n. 22, p. 5635-5646, 2003.

BURCHFIELD, T. E.; WOOLLEY, E. M. Model for thermodynamics of ionic surfactant solutions. 1. Osmotic and activity coefficients. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 88, n. 10, p. 2149–2155, 1984.

CABANE, B. Structure of some polymer-detergent aggregates in water. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 81, n. 17, p. 1639–1645, 1977.

- CARVALHO, C. P. et al. Equilibrium Data for PEG 4000 + Salt + Water Systems from (278.15 to 318.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 52, n. 2, p. 351–356, mar. 2007.
- CARVALHO, R. DE A. et al. Thermodynamic Investigation of the Aqueous Two-Phase Systems Formed by PEG 400 + Water + Either Sodium Carbonate or Potassium Carbonate at Different Temperatures: Experimental and Correlational Approaches. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 64, n. 2, p. 448–458, 2019.
- CHEMAT, F. et al. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813-835, 2011.
- CHEN, J.-P.; LEE, M.-S. Enhanced production of *Serratia marcescens* chitinase in PEG/dextran aqueous two-phase systems. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, n. 11, p. 1021–1027, 1995.
- CHOWDHURY, S. et al. Solubility and transfer solvation thermodynamics of l-isoleucine and l-serine in water to aqueous solution of Na₂SO₄ and K₂SO₄ from 288.15 K to 303.15 K. **Chemical Physics Letters**, v. 706, p. 432–439, 2018.
- COLE, A. L. et al. Synthesis and bioevaluation of substituted chalcones, coumaranones and other flavonoids as anti-HIV agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 2768–2776, 2016.
- CORDISCO, E. et al. Integrated extraction and purification of soy isoflavones by using aqueous micellar systems. **Food Chemistry**, v. 213, p. 514–520, 2016.
- CORKILL, J. M. et al. Thermodynamics of micellization of alkylsulphanylalkanols. **Transactions of the Faraday Society**, v. 62, p. 987, 1966.
- DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010.
- DAI, S.; TAM, K. C. Isothermal Titration Calorimetry Studies of Binding Interactions between Polyethylene Glycol and Ionic Surfactants. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 105, n. 44, p. 10759–10763, 2001.
- DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedade e aplicações**. São Paulo: Blucher, 2011.
- DAS DORES AGUIAR, C. et al. Phase behaviour at different temperatures of ionic liquid based aqueous two-phase systems containing {[Bmim]BF₄+salt sulfate (Zn²⁺ or Ni²⁺)+water}. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 108, p. 105–117, 2017.
- DAVIDSON, R. L. **Handbook of water-soluble gums and resins**. New York: McGraw-Hill, 1980. Disponível em: <<https://trove.nla.gov.au/version/10638860>>. Acesso em: 21 de maio 2020.
- DE LEMOS, L. R. et al. Phase compositions of aqueous two-phase systems formed by L35 and Salts at Different Temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 3, p. 1193–1199, 2010.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains — Characteristics, biosynthesis, processing and Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173–289, 2000.

DENKOVA, P. S. et al. Self-aggregation and supramolecular structure investigations of triton X-100 and SDP2S by NOESY and diffusion ordered NMR Spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 112, n. 35, p. 10935–10941, 2008.

DIAS, R. M. et al. Aqueous two-phase system formed by alkanolammonium-based Protic Ionic Liquids and acetone: Experimental data, thermodynamic modeling, and Kraft lignin partition. **Separation and Purification Technology**, v. 250, p. 117207, 2020.

DIMITRIESKA-STOJKOVIĆ, E; ZDRAVKOVSKI, Z. Supercritical fluid extraction of quercetin and rutin from Hyperici herba. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 26, n. 15, p. 2517-2533, 2003.

DING, P.; BAKALIS, S.; ZHANG, Z. Foamability in high viscous non-Newtonian aqueous two-phase systems composed of surfactant and polymer. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 582, p. 123817, 2019.

DURÁN, A.; CLAROS, M.; JIMENEZ, Y. P. Molybdate ion partition in the aqueous two-phase system formed by CuSO₄ + PEG 4000 + H₂O at different pH and temperatures. **Journal of Molecular Liquids**, v. 249, p. 562-572, 2018.

E SILVA, F. A. et al. Using Ionic Liquids To Tune the Performance of Aqueous Biphasic Systems Based on Pluronic L-35 for the Purification of Naringin and Rutin. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 8, p. 6409–6419, 2017.

ELIASSI, A.; MODARRESS, H.; MANSOORI, G. A. Measurement of Activity of Water in Aqueous Poly(ethylene glycol) Solutions (Effect of Excess Volume on the Flory–Huggins χ -Parameter). **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 44, n. 1, p. 52–55, 1999.

ERRINGTON, J. R.; DEBENEDETTI, P. G. Relationship between structural order and the anomalies of liquid water. **Nature**, v. 409, n. 6818, p. 318–321, 2001.

ESCUDERO, N. et al. Salting out potential of cholinium dihydrogen citrate in aqueous solution of Triton surfactants. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 118, p. 235–243, 2018.

EVANS, D. F.; WENNERSTRÖM, H. **The colloidal domain: where physics, chemistry, biology, and technology meet**. New York, Wiley, 1999.

FANG, T. et al. A rapid LC/MS/MS quantitation assay for naringin and its two metabolites in rats plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 40, n. 2, p. 454–459, 2006.

FLORY, P. J. **Principles of polymer chemistry**. New York: Cornell University Press, 1953.

FOROUTAN, M.; ZARRABI, M. Quaternary (liquid+liquid) equilibria of aqueous two-phase polyethylene glycol, poly-N-vinylcaprolactam, and KH₂PO₄: Experimental and the

generalized Flory–Huggins theory. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, n. 6, p. 935–941, 2008.

FROEHNER, S. J.; BELARMINO, A.; ZANETTE, D. The role of the counterion in poly(ethylene oxide)-dodecyl sulfate interactions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 137, n. 1, p. 131–139, 1998.

FU, H. et al. Quantifying hydrophobicity of natural organic matter using partition coefficients in aqueous two-phase systems. **Chemosphere**, v. 218, p. 922–929, 2019.

GE, L.; ZHANG, X.; GUO, R. Microstructure of Triton X-100/poly (ethylene glycol) complex investigated by fluorescence resonance energy transfer. **Polymer**, v. 48, n. 9, p. 2681–2691, 2007.

GÉCZY, I.; GYARMATHI TAMÁS, A. Quick determination of the molecular weight distribution of polyethylene glycol and p-nonyl-phenol-polyethylene glycol by turbidimetric titration. **Acta Polymerica**, v. 31, n. 4, p. 225–229, 1980.

GOMES, G. A. et al. Purification of plasmid DNA with aqueous two phase systems of PEG 600 and sodium citrate/ammonium sulfate. **Separation and Purification Technology**, v. 65, n. 1, p. 22–30, 2009.

GONZÁLEZ DE LA VARA, L. E.; ALFARO, B. L. Separation of membrane proteins according to their hydrophobicity by serial phase partitioning with Triton X-114. **Analytical Biochemistry**, v. 387, n. 2, p. 280–286, 2009.

GONZÁLEZ-AMADO, M. et al. The effect of temperature on polyethylene glycol (4000 or 8000)–(sodium or ammonium) sulfate Aqueous Two Phase Systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 428, p. 95–101, 2016.

GRABER, T. A. et al. Liquid–liquid equilibrium of the aqueous two-phase system water+ PEG 4000+ lithium sulfate at different temperatures. Experimental determination and correlation. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 49, n. 6, p. 1661–1664, 2004.

GUAN, Y.; LILLEY, T. H.; TREFFRY, T. E. A new excluded volume theory and its application to the coexistence curves of aqueous polymer two-phase systems. **Macromolecules**, v. 26, n. 15, p. 3971–3979, 1993.

GUZMÁN, E. et al. Polymer–surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, Clayton Radke Festschrift. v. 233, p. 38–64, 2016.

HAGHTALAB, A.; JODA, M. Modification of NRTL-NRF model for computation of liquid–liquid equilibria in aqueous two-phase polymer–salt systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 278, n. 1–2, p. 20–26, 2009.

HAIGH, S. D. A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. **Sci. Total Environment**. 185, p. 161–170, 1996.

HAND, D. B. Dimeric Distribution. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 34, n. 9, p. 1961–2000, 1930.

HAO, J. et al. Encapsulation of the flavonoid quercetin with chitosan-coated nano-liposomes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 37–44, 2017.

HE, Z.; ALEXANDRIDIS, P. Micellization Thermodynamics of Pluronic P123 (EO₂₀PO₇₀EO₂₀) Amphiphilic Block Copolymer in Aqueous Ethylammonium Nitrate (EAN) Solutions. **Polymers**, v. 10, n. 1, p. 32, 2017.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBAÑEZ, E. Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 136-148, 2006.

HINZE, W. L.; PRAMAURO, E. A Critical Review of Surfactant-Mediated Phase Separations (Cloud-Point Extractions): Theory and Applications. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 133–177, 1993.

HOMMA, A. K. O.; SE, D. **Sinergia de mercados como indicador dos recursos para aplicação do FNO na Amazônia**. Embrapa Amazônia Oriental-Capítulo em livro científico, 2001.

HOSTETTMANN, K. Partitioning in aqueous two-phase systems. Theory, methods, uses and applications to biotechnology. **Journal of Chromatography A**, v. 404, p. 295, 1987.

HSU, C. C.; PRAUSNITZ, J. M. Thermodynamics of polymer compatibility in ternary systems. **Macromolecules**, v. 7, n. 3, p. 320–324, 1974.

HUGGINS, M. L. Solutions of Long Chain Compounds. **The Journal of Chemical Physics**, v. 9, n. 5, p. 440–440, 1941.

HUGGINS, M. L. The thermodynamic properties of liquids, including solutions: Part 2. Polymer solutions considered as ditonic systems. **Polymer**, v. 12, n. 6, p. 389–399, 1971.

IKEDA, N. E. A. et al. Synthesis, characterization and biological evaluation of Rutin–zinc(II) flavonoid -metal complex. **Chemico-Biological Interactions**, v. 239, p. 184–191, 2015.

ISHII, K.; FURUTA, T.; KASUYA, Y. Determination of naringin and naringenin in human urine by high-performance liquid chromatography utilizing solid-phase extraction. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 704, n. 1, p. 299–305, 1997.

ISODA, H. et al. Analysis of the erythroid differentiation effect of flavonoid apigenin on K562 human chronic leukemia cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 220, p. 269–277, 2014.

ISRAELECHVILI, J. N. **Intermolecular and surface forces**. 3rd. ed. Santa Barbara: Academic Press, 2011.

JANBAZ, K. H.; SAEED, S. A.; GILANI, A. H. Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. **Fitoterapia**, v. 73, n. 7–8, p. 557–563, 2002.

JUNQUEIRA, C. M. et al. How does the use of surfactants in polymer-salt based aqueous two-phase systems affect the annatto dye (Bixa orellana L.) partitioning? **Fluid Phase Equilibria**, v. 478, p. 14–22, 2018.

- JUNQUEIRA, C. M. **Surfactantes como agentes moduladores da partição e formadores de novos sistemas aquosos bifasicos**. 2019.137f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, UNIFAL, Alfenas, 2019.
- KANG, C. H.; SANDLER, S. I. Phase behavior of aqueous two-polymer systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 38, n. 3, p. 245–272, 1987.
- KOBORI, M. et al. Chronic high intake of quercetin reduces oxidative stress and induces expression of the antioxidant enzymes in the liver and visceral adipose tissues in mice. **Journal of Functional Foods**, v. 15, p. 551–560, 2015.
- LANGEVIN, D. Complexation of oppositely charged polyelectrolytes and surfactants in aqueous solutions. A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, Colloids, polymers and surfactants. Special Issue in honour of Brian Vincent. v. 147–148, p. 170–177, 2009.
- LEE, S. Y. et al. Enhanced recovery of lipase derived from *Burkholderia cepacia* from fermentation broth using recyclable ionic liquid/polymer-based aqueous two-phase systems. **Separation and Purification Technology**, v. 179, p. 152–160, 2017.
- LEOPOLDINI, M.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 288–306, 2011.
- LEMOES, L. R. et al. Liquid–liquid equilibrium of aqueous two-phase systems composed of poly(ethylene oxide) 1500 and different electrolytes ((NH₄)₂SO₄, ZnSO₄ and K₂HPO₄): Experimental and correlation. **Fluid Phase Equilibria**, v. 305, n. 1, p. 19–24, 2011.
- LEWIS, G. N. et al. **Thermodynamics**. 2nd edition. New York: McGraw Hill, 1961.
- LI, B.; FU, J. Interfacial tensions of two-liquid-phase ternary systems. **J. Chem. Eng. Data**, v. 37, n. 2, p. 172–174, 1992.
- LI, C. J.; TROST, B. M. Green chemistry for chemical synthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 36, p. 13197–13202, 2008.
- LI, F.; LIU, Y.; LIN, W. Phase equilibrium and protein partitioning in aqueous two-phase systems containing imidazolium ionic liquids and surfactant at low voltage levels. **Journal of Molecular Liquids**, v. 256, p. 372–379, 2018.
- LIBARDI, P. L. (Ed.). **Dinâmica da água no solo**. São Paulo: EDUSP, 1995.
- LIN, D.Q. et al. Modeling the protein partitioning in aqueous polymer two-phase systems: influence of polymer concentration and molecular weight. **Chemical Engineering Science**, v. 58, n. 13, p. 2963–2972, 2003.
- LIN, J.; ZHOU, W. Role of quercetin in the physicochemical properties, antioxidant and antiglycation activities of bread. **Journal of Functional Foods**, v. 40, p. 299–306, 2018.
- LIU, J. et al. Recent advances in flavonoid-grafted polysaccharides: Synthesis, structural characterization, bioactivities and potential applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 1011–1025, 2018.

LIU, C. et al. Separation of proteins and viruses using two-phase aqueous micellar systems. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 711, n. 1-2, p. 127-138, 1998.

LIU, Y. et al. Effect of excluded-volume and hydrophobic interactions on the partition of proteins in aqueous micellar two-phase systems composed of polymer and nonionic surfactant. **Fluid Phase Equilibria**, v. 429, p. 1–8, 2016.

LIU, Y.; FENG, Y.; ZHAO, Y. Liquid–Liquid Equilibrium of Various Aqueous Two-Phase Systems: Experiment and Correlation. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 58, n. 10, p. 2775–2784, 2013.

LIU, Y.; WU, Z.; DAI, J. Phase equilibrium and protein partitioning in aqueous micellar two-phase system composed of surfactant and polymer. **Fluid Phase Equilibria**, v. 320, p. 60–64, 2012.

LIU, Y.; WU, Z.; ZHAO, Y. Liquid–liquid equilibrium correlation of aqueous two-phase systems composed of polyethylene glycol and nonionic surfactant. **Thermochimica Acta**, v. 602, p. 78–86, 2015.

LOPES, A. M. et al. Effect of electrolytes as adjuvants in GFP and LPS partitioning on aqueous two-phase systems: 1. Polymer-polymer systems. **Separation and Purification Technology**, v. 206, p. 39–49, 2018.

MACHADO, A. E. DA H. et al. Determination of the Critical Micelle Concentration of Triton X-100 Using the Compound 3-(benzoxazol-2-yl)-7-(N,N-diethylamino) chromen-2-one as Fluorescent Probe. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 329–334, 2016.

MADEIRA, P. P. et al. Solvent properties governing protein partitioning in polymer/polymer aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 10, p. 1379–1384, 2011.

MAGENDIRA MANI, V.; ASHA, S.; SADIQ, A. M. M. Pyrethroid deltamethrin-induced developmental neurodegenerative cerebral injury and ameliorating effect of dietary glycoside naringin in male wistar rats. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 4, n. 1, p. 1–8, 2014.

MARTINS, J. P. et al. Liquid-liquid equilibria of an aqueous two-phase system formed by a triblock copolymer and sodium salts at different temperatures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 54, p. 2891-2894, 2009.

MILANI, L. P. G. et al. Extract from byproduct *Psidium guajava* standardized in ellagic acid: additivation of the in vitro photoprotective efficacy of a cosmetic formulation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 6, p. 692–696, 2018.

MONTEIRO FILHO, E. Sistemas aquosos bifásicos: uma alternativa para purificação de biomoléculas e simulação de sistemas líquidos complexos. **Ciência & Tecnologia**, v. 1, p. 33–41, 2010.

MOON, K. M. et al. Swertiajaponin as an anti-browning and antioxidant flavonoid. **Food Chemistry**, v. 252, p. 207–214, 2018.

- MUNDAY, D. Surfaces, Interfaces and Colloids — Principles and Applications, Second Edition by D. Myers, Wiley-VCH, New York, 1999, xx+501 pp., ISBN 0-471-33060-4; £61.50. **Talanta**, v. 51, n. 3, p. 609, 2000.
- MURARI, G. F. et al. Phase diagrams of aqueous two-phase systems formed by polyethylene glycol+ammonium sulfate+water: equilibrium data and thermodynamic modeling. **Fluid Phase Equilibria**, v. 406, p. 61–69, 2015.
- NAGARAJAN, R. Thermodynamics of nonionic polymer-micelle association. **Colloids and Surfaces**, v. 13, p. 1–17, 1985.
- NARAYANAN, R. **Interfacial Processes and Molecular Aggregation of Surfactants**. Leipzig: Springer, 2008.
- NGAMWONGLUMLERT, L.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N. Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 15, p. 3243–3259, 2017.
- NIZRI, G. et al. Polymer–surfactant interactions: Binding mechanism of sodium dodecyl sulfate to poly(diallyldimethylammonium chloride). **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 320, n. 1, p. 74–81, 2008.
- OLIVEIRA, A. C. DE et al. Study of liquid-liquid equilibria in aqueous two-phase systems formed by poly (ethylene glycol) (PEG) and sodium thiosulfate pentahydrate (Na₂S₂O₃·5H₂O) at different temperatures. **Fluid Phase Equilibria**, v. 476, p. 118–125, 2018.
- OLOFSSON, G.; LOH, W. On the use of titration calorimetry to study the association of surfactants in aqueous solutions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 4, p. 577–593, 2009.
- OTHMER, D. F.; TOBIAS, P. E. Liquid -Liquid Extraction Data -Toluene and Acetaldehyde Systems. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 34, n. 6, p. 690–692, 1942.
- PADILHA, G. D., et al. Effects of polymer pH and molar mass on the PEG/phosphate aqueous two-phase system. **Acta Scientiarum-technology**, v. 33, , p. 101-113, 2011.
- PAN, T. et al. Stripping of nonionic surfactants from the coacervate phase of cloud point system for lipase separation by Winsor II microemulsion extraction with the direct addition of alcohols. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 5, p. 771–776, 2010.
- PATEL, R. V. et al. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 155, p. 889–904, 2018.
- PATEL, U. et al. Effect of amphiphilic and non-amphiphilic polymers on micellar behaviour of nonionic surfactant Triton X-100. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 481, p. 100–107, 2015.
- PATIL, B. S.; PIKE, L. M.; YOO, K. S. Variation in the quercetin content in different colored onions (*Allium cepa* L.). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 120, n. 6, p. 909-913, 1995.

PATRÍCIO, P. R. et al. Chromium speciation using aqueous biphasic systems: Development and mechanistic aspects. **Separation and Purification Technology**, v. 158, p. 144-154, 2016.

PEDRIALI, C. A. **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes.** Mestrado em Tecnologia Químico-Farmacêutica—São Paulo: Universidade de São Paulo, 27 jun. 2005.

PEREIRA, J. C. et al. Potencial alelopático e identificação dos metabólitos secundários em extratos de *Canavalia ensiformis* L. **Revista Ceres**, v. 65, n. 3, p. 243–252, 2018.

PESSÔA FILHO, P. A.; MOHAMED, R. S. Thermodynamic modeling of the partitioning of biomolecules in aqueous two-phase systems using a modified Flory–Huggins equation. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 12, p. 2075–2083, 2004.

PINCUS, P. Excluded Volume Effects and Stretched Polymer Chains. **Macromolecules**, v. 9, n. 3, p. 386–388, 1976.

PRAUSNITZ, J. M.; LICHTENTHALER, R. N.; DE AZEVEDO, E. G. Molecular Thermodynamics of Fluid-Phase Equilibria. Prentice-Hall Inc. **Englewood Cliffs, New Jersey**, 1986.

QIAO, L.; EASTEAL, A. J. The interaction between triton X series surfactants and poly (ethylene glycol) in aqueous solutions. **Colloid and Polymer Science**, v. 276, n. 4, p. 313–320, 1998.

RAJADURAI, M.; STANELY MAINZEN PRINCE, P. Preventive effect of naringin on cardiac markers, electrocardiographic patterns and lysosomal hydrolases in normal and isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. **Toxicology**, v. 230, n. 2–3, p. 178–188, 2007.

RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry: an overview. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 5, p. 269-284, 2002.

REISS-HUSSON, F.; LUZZATI, V. The Structure of the Micellar Solutions of Some Amphiphilic Compounds in Pure Water as Determined by Absolute Small-Angle X-Ray Scattering Techniques. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 68, n. 12, p. 3504–3511, 1964.

RENGIFO, A. F. C. et al. Phase diagrams, densities and refractive indexes of poly(ethylene oxide)+organic salts+water aqueous two-phase systems: Effect of temperature, anion and molar mass. **Fluid Phase Equilibria**, v. 406, p. 70–76, 2015.

RIBEIRO, M. Z. **Extração de glicose-6-fosfato desidrogenase em sistemas de duas fases aquosas.** Dissertação de mestrado—São Paulo: Universidade de São Paulo, 2001.

RILEY, S. L. Formulation of PEG-based hydrogels affects tissue-engineered cartilage construct characteristics. **Journal of materials science: materials in medicine**, p. 983-990, 2001.

ROSEN, M. J.; KUNJAPPU, J. T. **Surfactants and interfacial phenomena**. 4th ed ed. Hoboken, N.J: Wiley, 2012.

RUCKENSTEIN, E.; HUBER, G.; HOFFMANN, H. Surfactant aggregation in the presence of polymers. **Langmuir**, v. 3, n. 3, p. 382–387, 1987.

SADEGHI, A. et al. Predictive construction of phase diagram of ternary solutions containing polymer/solvent/nonsolvent using modified Flory-Huggins model. **Journal of Molecular Liquids**, v. 263, p. 282–287, 2018.

SADEGHNIA, H. R. et al. Protective effect of rutin on hexachlorobutadiene-induced nephrotoxicity. **Renal Failure**, v. 35, n. 8, p. 1151–1155, 2013.

SAITO, S.; YUKAWA, M. Interactions of polymers and cationic surfactants with thiocyanate as counterions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 30, n. 2, p. 211–218, 1969.

SANTOS, E. A. M. **Obtenção de rutina de *Dimorphandra sp.* : do processamento dos frutos à obtenção de extrato enriquecido**. Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2006.

SANTOS, V. C. et al. Liquid–liquid extraction by mixed micellar systems: A new approach for clavulanic acid recovery from fermented broth. **Biochemical Engineering Journal**, v. 56, n. 1–2, p. 75–83, 2011.

SANZ, E. et al. Phase Diagram of Water from Computer Simulation. **Physical Review Letters**, v. 92, n. 25, p. 255701, 2004.

SARMIENTO, F. et al. Thermodynamics of Micelle Formation of Chlorhexidine Digluconate. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 99, n. 49, p. 17628–17631, 1995.

SCIORTINO, F.; GEIGER, A.; STANLEY, H. E. Effect of defects on molecular mobility in liquid water. **Nature**, v. 354, n. 6350, p. 218–221, 1991.

SELLOUM, L. et al. Anti-inflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 54, n. 4, p. 313–318, 2003.

SETSCHENOW, J. Über die Konstitution der Salzlösungen auf Grund ihres Verhaltens zu Kohlensäure. **Zeitschrift für Physikalische Chemie**, v. 4U, n. 1, p. 117–125, 1889.

SILVA, L. H. M. DA; LOH, W. Sistemas aquosos bifásicos: fundamentos e aplicações para partição/purificação de proteínas. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1345–1351, 2006.

SILVA, M. DO C. H. DA et al. Sistema aquoso bifásico: uma alternativa eficiente para extração de íons. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1332–1339, 2006.

SILVA, M. DE S. C. et al. Dextran sulfate/Triton X two-phase micellar systems as an alternative first purification step for clavulanic acid. **Fluid Phase Equilibria**, v. 399, p. 80–86, 2015.

- SILVÉRIO, S. C. et al. Gibbs free energy of transfer of a methylene group on {UCON+(sodium or potassium) phosphate salts} aqueous two-phase systems: Hydrophobicity effects. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 42, n. 8, p. 1063–1069, 2010.
- SIVARS, U. et al. Protein partitioning in weakly charged polymer-surfactant aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 680, n. 1–2, p. 43–53, 1996.
- SOUZA, P. O. et al. Anticancer activity of flavonoids isolated from *Achyrocline satureioides* in gliomas cell lines. **Toxicology in Vitro**, v. 51, p. 23–33, 2018.
- SOUZA, I. N. et al. Aqueous two-phase systems formed by maltodextrin and acetonitrile: Phase diagrams and partitioning studies. **Fluid Phase Equilibria**, v. 476, p. 179–185, 2018.
- SPARR ESKILSSON, C.; BJÖRKLUND, E. Analytical-scale microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 902, n. 1, p. 227–250, 2000.
- SPITZER, M.; LOH, W. **Determinação de parâmetros de interação polímero e solvente.**, 2001.
- SRIVASTAVA, A.; MALIK, S.; DEBNATH, A. Heterogeneity in structure and dynamics of water near bilayers using TIP3P and TIP4P/2005 water models. **Chemical Physics**, v. 525, p. 110396, 2019.
- SUJA-THAUVIN, L. et al. Critical assessment of hydrodynamic load models for a monopile structure in finite water depth. **Marine Structures**, v. 72, p. 102743, 2020.
- TADROS, T. F. **Applied surfactants: principles and applications.** Weinheim: John Wiley & Sons, 2006.
- TAN, C. H.; HUANG, Z. J.; HUANG, X. G. Rapid determination of surfactant critical micelle concentration in aqueous solutions using fiber-optic refractive index sensing. **Analytical Biochemistry**, v. 401, n. 1, p. 144–147, 2010.
- TERAO, J. Factors modulating bioavailability of quercetin-related flavonoids and the consequences of their vascular function. **Biochemical Pharmacology**, v. 139, p. 15–23, 2017.
- TIMBOLA, A. K. et al. Electrochemical oxidation of quercetin in hydro-alcoholic solution. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 1, p. 139–148, 2006.
- ULLOA, G. et al. Sodium salt effect on aqueous solutions containing Tween 20 and Triton X-102. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 47, p. 62–67, 2012.
- VANINI, L. S. et al. Extraction and stability of anthocyanins from the Benitaka grape cultivar (*Vitis vinifera* L.). **BRAZILIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY**, v. 12, n. 03, p. 13–219, 2009.
- VICENTE, F. A. et al. Design of novel aqueous micellar two-phase systems using ionic liquids as co-surfactants for the selective extraction of (bio)molecules. **Separation and Purification Technology**, v. 135, p. 259–267, 2014.

- VIJAYA PANDIYAN, B.; KOLANDAIVEL, P.; DEEPA, P. A theoretical perspective of the nature of hydrogen-bond types – the atoms in molecules approach. **Molecular Physics**, v. 112, n. 12, p. 1609–1623, 2014.
- VIRTUOSO, L. S. **Aplicação de métodos numéricos avançados na resolução de problemas inversos relacionados a teoria de soluções**. 2005. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, UFMG, Belo Horizonte, 2005.
- WANG, X.-Q. et al. Negative-pressure cavitation coupled with aqueous two-phase extraction and enrichment of flavonoids and stilbenes from the pigeon pea leaves and the evaluation of antioxidant activities. **Separation and Purification Technology**, v. 156, p. 116–123, 2015.
- WANG, Y. et al. Aggregation behaviors of a series of anionic sulfonate gemini surfactants and their corresponding monomeric surfactant. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 319, n. 2, p. 534–541, 2008.
- WANG, Y. et al. Microwave-assisted extraction of flavonoids from Chinese herb Radix puerariae (Ge Gen). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 4, p. 304–308, 2010.
- WESSNER, M.; NOWACZYK, M.; BRANDENBUSCH, C. Rapid identification of tailor-made aqueous two-phase systems for the extractive purification of high-value biomolecules. **Journal of Molecular Liquids**, p. 113655, 2020.
- WOLF, B. A. Making Flory–Huggins practical: thermodynamics of polymer-containing mixtures. In: WOLF, B. A.; ENDERS, S. (Ed.). **Polymer Thermodynamics. Advances in Polymer Science**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2010. V. 238, p. 1–66.
- XIE, H.-G.; WANG, Y. J.; SUN, M. Modeling of the partitioning of membrane protein and phase equilibria for Triton X-100–salt aqueous two-phase systems using a modified generalized multicomponent osmotic virial equation. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 3, p. 689–696, 2006.
- XIE, X. et al. Microwave-assisted aqueous two-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography for simultaneous extraction and determination of four flavonoids in *Crotalaria sessiliflora* L. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 632–642, 2017.
- XUE, F. et al. Quercetin Inhibits LPS-Induced Inflammation and ox-LDL-Induced Lipid Deposition. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, 2017.
- YAN, B.; CAO, X. Phase diagram of novel recycling aqueous two-phase systems composed of two pH-response polymers: Experiment and modeling. **Fluid Phase Equilibria**, v. 364, p. 42–47, 2014.
- YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. In vitro antioxidant properties of rutin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1060–1066, 2008.
- YANG, X. et al. Ionic liquid-anionic surfactant based aqueous two-phase extraction for determination of antibiotics in honey by high-performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 124, p. 1–6, 2014.

YANG, Y.; ZHANG, F. Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 15, n. 4, p. 308-313, 2008.

YONGQIANG ZHANG et al. Extraction and separation of tungsten (VI) from aqueous media with Triton X-100-ammonium sulfate-water aqueous two-phase system without any extractant. **Journal of Chromatography A**, v. 1474, p. 40-46, 2016.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; SHEKAARI, H.; JAFARI, P. Aqueous two-phase system based on cholinium chloride and polyethylene glycol di-methyl ether 250 and its use for acetaminophen separation. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 107, p. 85-94, 2017.

ZHANG, D.Y. et al. Aqueous two-phase extraction and enrichment of two main flavonoids from pigeon pea roots and the antioxidant activity. **Separation and Purification Technology**, v. 102, p. 26-33, 2013.

ZHANG, R.; SOMASUNDARAN, P. Advances in adsorption of surfactants and their mixtures at solid/solution interfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123-126, p. 213-229, 2006.

ZHANG, W. et al. Separation and purification of alkaloids from *Sophora flavescens* Ait. by focused microwave-assisted aqueous two-phase extraction coupled with reversed micellar extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 231-238, 2016.

ZHANG, Y. et al. Decadal changes in emissions of volatile organic compounds (VOCs) from on-road vehicles with intensified automobile pollution control: Case study in a busy urban tunnel in south China. **Environmental Pollution**, v. 233, p. 806-819, 2018.

ZHOU, C. et al. Naringin attenuates alcoholic liver injury by reducing lipid accumulation and oxidative stress. **Life Sciences**, v. 216, p. 305-312, 2019.

ZHOU, H. et al. Thermodynamic modeling and phase diagram prediction of salt lake brine systems. I. Aqueous Mg^{2+} - Ca^{2+} - Cl^{-} binary and ternary systems. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, 2020.

ZHOU, J. et al. Application of mixed cloud point extraction for the analysis of six flavonoids in *Apocynum venetum* leaf samples by high performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 107, p. 273-279, 2015.

ZHOU, X. M. Preparation and characterization of PEG/MDI/PVA copolymer as solid-solid phase change heat storage material. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, n. 3, p. 2041-2045, 2009.

ZSILA, F.; BIKÁDI, Z.; SIMONYI, M. Probing the binding of the flavonoid, quercetin to human serum albumin by circular dichroism, electronic absorption spectroscopy and molecular modelling methods. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, n. 3, p. 447-456, 2003.

APÊNDICE A

Determinação dos parâmetros que correlacionam o índice de refração com as concentrações das soluções de Triton X-100 e PEO

Para obtenção dos parâmetros que definem a dependência da concentração de Triton X-100 e PEO com o índice de refração foram montadas várias misturas de PEO 10000 ou 35000 e Triton X-100 com diferentes concentrações, Tabela A1.1. Essas medidas possibilitaram construir a curva de calibração do índice de refração versus a concentração das misturas, Figura A1. A partir de uma correlação multilinear dos dados para o índice de refração total em termos da contribuição de cada um dos componentes encontrou-se os parâmetros (a_0 , a_1 , a_2), Tabela A1.2, que aparecem na Equação (48).

O desvio padrão do percentual de fração mássica do polímero foi da ordem de 1%, ressaltando que todas as medidas foram feitas em triplicata.

Tabela A1.1 - Parâmetros (a_0 , a_1 , a_2) do índice de refração introduzidos na Eq, (48), em que a_1 e a_2 são os parâmetros ajustados pelo método de regressão multilinear baseado no índice de refração experimental das misturas de PEO 10000 ou PEO 35000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ + Triton X-100 + água, a_0 corresponde ao índice de refração da água pura a 25 °C.

Componente	a_0	a_1	a_2	Sd
Água	1,3324			
Triton X-100		0,1346		
PEG 10.000			0,1480	0,0197
Triton X-100		0,1346		
PEG 35.000			0,1335	0,0152

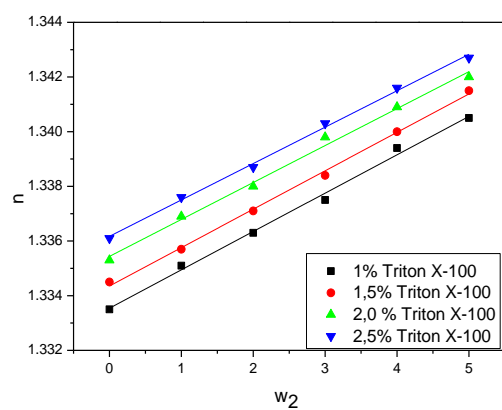
$(\sum_{i=1}^N (n^{calcd} - n^{exptl})^2 / N)^{0,5}$, onde n e N representa o índice de refração e o número de pontos experimentais, respectivamente.

Tabela A1.2 – Concentração das misturas formadas por Triton X-100 e PEO 10000 ou 35000 expressas em porcentagem de fração mássica e seus respectivos índices de refração.

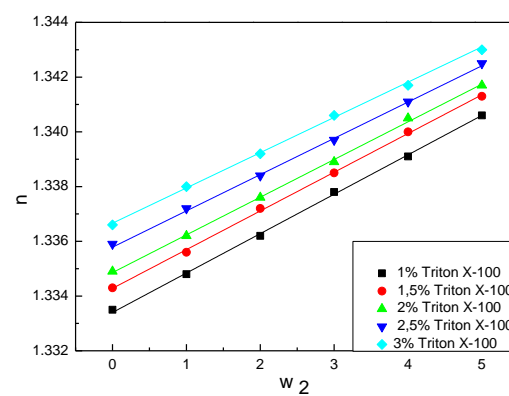
100w _{TX100}	100w _{PEO35000}	N	100w _{TX100}	100w _{PEO10000}	N
-	-	1,3324	-	-	1,3324
1	0	1,3335	1	0	1,3335
1	1	1,3348	1	1	1,3354
1	2	1,3362	1	2	1,3366
1	3	1,3378	1	3	1,3375
1	4	1,3391	1	4	1,3394
1	5	1,3406	1	5	1,3405
1,5	0	1,3343	1,5	0	1,3345
1,5	1	1,3356	1,5	1	1,3357
1,5	2	1,3372	1,5	2	1,3371
1,5	3	1,3385	1,5	3	1,3384
1,5	4	1,3400	1,5	4	1,3400
1,5	5	1,3413	1,5	5	1,3415
2	0	1,3349	2	0	1,3353
2	1	1,3362	2	1	1,3369
2	2	1,3376	2	2	1,3380
2	3	1,3389	2	3	1,3398
2	4	1,3405	2	4	1,3409
2	5	1,3417	2	5	1,3420
2,5	0	1,3359	2,5	0	1,3361
2,5	1	1,3372	2,5	1	1,3376
2,5	2	1,3384	2,5	2	1,3387
2,5	3	1,3397	2,5	3	1,3403
2,5	4	1,3411	2,5	4	1,3416
2,5	5	1,3425	2,5	5	1,3427
3	0	1,3366			
3	1	1,338			
3	2	1,3392			
3	3	1,3406			
3	4	1,3417			
3	5	1,3430			

Fonte: Do autor

Figura A1 - Índice de refração (n) da mistura formada por (a) PEG 10.000 ou (b) 35.000 g mol^{-1} + Triton X-100 + água em concentrações distintas.



(a)



(b)

Fonte: Do autor

APÊNDICE B

Parâmetros Termodinâmicos Das Transferências

O comportamento de particionamento de espécies envolvidas no equilíbrio de fases nos SABMs levantados foi avaliado calculando-se a razão de distribuição (D_i) de cada um dos constituintes entre as fases, definido como:

$$D_i = \frac{w_i^s}{w_i^i} \quad (1B)$$

Onde s e i correspondem às fases superior e inferior, respectivamente, e referem-se a um dos componentes da mistura. Os valores das razões de distribuição calculadas foram utilizados na determinação da variação da energia livre de transferência entre as fases dos componentes ($\Delta_{tr}G_i^o$), definida pela Equação (50), para cada equilíbrio líquido-líquido analisado.

$$\Delta_{tr}G_i^o = -n_iRT \ln D_i \quad (2B)$$

Onde n_i corresponde à quantidade total de matéria das espécies envolvidas na transferência, R é a constante do gás e T a temperatura. Esta equação é amplamente usada no estudo de solubilidade (CHOWDHURY et al., 2018).

O conceito acima se aplica quando mais de uma espécie é transferida, assumindo que a mudança de energia de Gibbs na transferência total de um sistema multicomponente, $\Delta_{tr}G_{total}^o$, que pode ser calculada como a soma das contribuições independentes de cada componente i, que é dado por

$$\Delta_{tr}G_{total}^o = \sum_i n_i \Delta_{tr}G_i^o = n \sum_i x_i \Delta_{tr}G_i^o = m \sum_i [w_i/100M_i] \Delta_{tr}G_i^o \quad (3B)$$

Como a quantidade de componente transferido é diferente para cada componente, a Equação (3) incluiu os pesos de contribuição de cada um para a transferência total de energia de Gibbs. Os valores de $\Delta_{tr}G_{total}^o$ foram calculados para uma massa total de 100g.

Obtenção dos parâmetros de transferência

Os valores de $\Delta_{tr}G^o$ de acordo com a equação (3) para os sistemas formados por Triton X-100 + PEO 10000 ou 20000 g mol⁻¹ + água em cinco pontos globais são mostrados na Tabela A1. Calculou-se o $\Delta_{tr}G^o$ dos componentes entre as fases, assumindo-se como

referência a transferência de material da fase inferior para superior. De acordo com a Tabela A1, para as três temperaturas em estudo, todos os valores apresentam saldo positivo indicando a transferência espontânea do material no sentido oposto ao adotado como referência, exceto para a primeira LA no sistema composto por PEO 35000 na temperatura de 10 °C. Os resultados mostram que, dentre as três razões de distribuição apresentadas (K_{Triton} , K_{PEO} , $K_{\text{água}}$), K_{PEG} e $K_{\text{água}}$ contribuem para um $\Delta_{\text{tr}}G^{\circ}$ negativo, indicando que as moléculas de PEG e de água tendem a migrar para a fase superior. Os valores associados ao termo K_{Triton} mostram que as moléculas de surfactante estão concentradas preferencialmente na fase inferior. O $\Delta_{\text{tr}}G^{\circ}$ se torna mais positivo ao aumentar a temperatura e também ao aumentar o CLA, indicando a transferência global das moléculas predominantemente para a fase superior do sistema.