

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL – MG
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

CRISTINA MAZZEU JUNQUEIRA

**SURFACTANTES COMO AGENTES MODULADORES DA PARTIÇÃO E
FORMADORES DE NOVOS SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS**

Orientador: Prof. Dr. Luciano Sindra Virtuoso

**ALFENAS/MG
2019**

CRISTINA MAZZEU JUNQUEIRA

**SURFACTANTES COMO AGENTES MODULADORES DA PARTIÇÃO E
FORMADORES DE NOVOS SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS**

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

**ALFENAS/MG
2019**

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

J95s Junqueira, Cristina Mazzeu.
Surfactantes como agentes moduladores da partição e formadores de novos sistemas aquosos bifásicos / Cristina Mazzeu Junqueira -- Alfenas/MG, 2019.
136 f. : il. --

Orientador: Luciano Sindra Virtuoso.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, 2019.
Bibliografia.

1. Tensoativos. 2. Fluxo de Trabalho. 3. Bixaceae. 4. Corantes. I. Virtuoso, Luciano Sindra. II. Título.

CDD-536.7

CRISTINA MAZZEU JUNQUEIRA

**"SURFACTANTES COMO AGENTES MODULADORES DA
PARTIÇÃO E FORMADORES DE NOVOS SISTEMAS AQUOSOS
BIFÁSICOS."**

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 Alfenas. Área de concentração: Química Analítica.

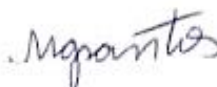
Aprovado em: 30/07/2019

Prof. Dr. Luciano Sindra Virtuoso



UNIFAL-MG

Profa. Dra. Mariane Gonçalves Santos



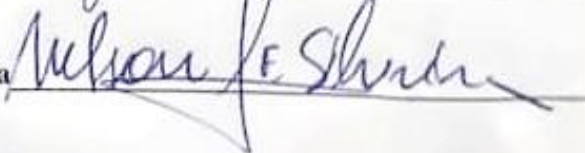
UNIFAL-MG

Prof. Dr. Rodrigo Corrêa Basso



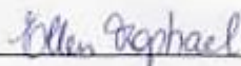
UNIFAL-MG

Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira



UNIFAL-MG

Profa. Dra. Ellen Raphael



UFAM

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas pela oportunidade oferecida.

Ao Prof^o Dr. Luciano Sindra Virtuoso, orientador, pela dedicação, conhecimentos transmitidos e confiança depositada na realização deste trabalho, pelo exemplo de vida e profissionalismo, apoio incondicional e constante presença ao longo deste trabalho que me ajudaram a me tornar uma pessoa mais forte e confiante.

Aos funcionários do Departamento de Química, em especial a Bernadete, pela atenção, prestatividade sempre.

Aos meus companheiros e amigos de trabalho no grupo de pesquisa de química de coloides pelo apoio fundamental na realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.*

(Chico Xavier)

RESUMO

Dentro do estudo de sistemas aquosos bifásicos (SABs) destaca-se os sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM) formados por surfactantes não iônicos, como os da classe Triton X. Esses são ideais para extração de biomoléculas com fortes características hidrofóbicas, devido a sua capacidade de gerar ambientes hidrofóbicos no interior das fases do sistema. Assim foram caracterizados novos SABM a partir de combinações de soluções aquosas de Triton X-114 com soluções aquosas de polímeros do tipo polietilenoglicol (PEG) em diferentes condições de composição e temperatura. A separação de fases leva à formação de fase superior enriquecida no polímero com cerca de 18,0 % de PEG, 0,50 % de Triton X-114 e 81,5 % de água enquanto que os valores observados para a fase inferior variam em torno de 15,73 % de PEG, 7,84 % de Triton X-114 e 76,43 % de água em porcentagem mássica. Observou-se que os novos sistemas não possuem forte dependência da temperatura dentro da faixa de temperatura de 278,15 a 293,15 K. Adicionalmente, 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 0,80. Corantes provenientes do extrato bruto das sementes de urucum (*Bixa orellana L.*) foram particionados em SABs formados por polietileno glicol (1500 ou 4000 ou 6000 g mol⁻¹) ou copolímero tribloco L35 (2000 g mol⁻¹) + citrato de sódio + água na presença de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio). A hipótese investigada foi de que o uso de surfactantes como aditivos em sistemas aquosos bifásicos tradicionais, podem melhorar a solubilidade do extrato de urucum nas fases desses sistemas através de um mecanismo de formação de micelas mistas, o que se mostrou viável pois os corantes bixina e norbixina se concentraram preferencialmente na fase inferior, mostrando uma forte dependência da temperatura e composição do sistema. Na presença do surfactante, os corantes se concentraram mais na fase inferior dos sistemas estudados, demonstrando o potencial dos sistemas aquosos bifásicos micelares como um novo método de extração e/ou purificação dos corantes do extrato de semente de urucum.

Palavras chave: Sistema aquoso bifásico micelar. Surfactantes. Diagrama de fases. Modelagem termodinâmica. Corantes do urucum.

ABSTRACT

In the study of aqueous biphasic systems, the micellar two-phase aqueous systems formed by non-ionic surfactants, such as those of the Triton X class, are ideal for extracting biomolecules with strong hydrophobic characteristics, due to their ability to generate hydrophobic environments in the interior of the system phases. Thus, new ATPSMs were characterized from combinations of aqueous solutions of Triton X-114 with aqueous solutions of polyethylene glycol (PEG) type polymers under different composition and temperature conditions. Phase separation leads to the formation of the polymer-enriched upper phase with about 18.0% PEG, 0.50% Triton X-114 and 81.5% water, while the values observed for the lower phase vary in around 15.73% of PEG, 7.84% of Triton X-114 and 76.43% of water in mass percentage. It was observed that the new systems do not have a strong temperature dependence within the temperature range of 278.15 to 293.15 K. In addition, the equilibrium data and the binodal curves were fitted with the linear expressions Othmer-Tobias, Bancroft, Hand and Setschenow and applied to the Flory-Huggins model. All models showed a significant correlation between the data at the 5% significance level with correlation coefficients higher than 0.80. Dyes from the crude extract of urucum (*Bixa orellana L.*) seeds were partitioned into SABs formed by polyethylene glycol (1500 or 4000 or 6000 g mol⁻¹) or triblock copolymer L35 (2000 g mol⁻¹) + sodium citrate + water in the presence of CTAB (cetyltrimethylammonium bromide). The hypothesis investigated was that the use of surfactants as additives in traditional biphasic aqueous systems can improve the solubility of urucum extract in the phases of these systems through a mechanism of formation of mixed micelles, which proved feasible, since the dyes bixin and norbixin were preferentially concentrated in the lower phase, showing a strong dependence on the temperature and composition of the system. In the presence of surfactant, the dyes were concentrated more in the inferior phase of the studied systems, demonstrating the potential of the micellar biphasic aqueous systems as a new method of extracting and / or purifying the dyes from the urucum seed extract.

Keywords: Aqueous micellar biphasic system. Surfactant. Phase diagram. Thermodynamic modeling. Urucum dyes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 -	Estrutura molecular da água.	25
Figura 1.2 -	Representação esquemática bidimensional da rede de ligações de hidrogênio da água na fase líquida.	26
Figura 1.3 -	Representação esquemática de uma cadeia polimérica em solução: (a) mal solvente, (b) bom solvente.	28
Figura 1.4 -	Intervalos de concentração: solução diluída ($c < c^*$), semidiluída ($c > c^*$) e concentrada ($c \gg c^*$).	29
Figura 1.5 -	Pseudo-rede assumida pelo 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.	31
Figura 1.6 -	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.	32
Figura 1.7 -	Modelo de Rede de Flory para a formação de uma solução binária a partir dos respectivos componentes líquidos puros.	35
Figura 1.8 -	Representação esquemática do modelo configuracional de <i>lattice</i> de Flory-Huggins estendido para misturas ternárias envolvendo surfactante (1) + polímero (2) + solvente (3).	37
Figura 1.9 -	Micela Triton X-114.	39
Figura 1.10 -	Forças motrizes envolvidas no processo de micelização. O aumento da concentração de Triton X-114 na mistura leva à formação de estruturas auto-organizados.	43
Figura 1.11 -	Processo de hidratação e dimerização da molécula de Triton X-114.	44
Figura 1.12 -	Micela direta e Micela inversa.	45
Figura 1.13 -	Representação esquemática dos agregados formados por surfactantes.	46
Figura 1.14 -	Diferentes morfologias de agregados formados em função do CPP.	47

Figura 1.15 -	Alguns dos principais tipos de SABs descritos na literatura obtidos através da combinação de dois diferentes componentes em meio aquoso.	50
Figura 1.16 -	Representação esquemática de um diagrama de fase para sistemas aquosos bifásicos expresso em coordenadas retangulares.	51
Figura 1.17 -	Estruturas formadas na mistura de PEG e surfactante.	57
Figura 1.18 -	Representação esquemática da formação de SABM em mistura binária surfactante-água induzida por aumento da temperatura.	58
Figura 1.19 -	Distribuição da produção mundial de sementes de urucum no mundo com ano base em 2015.	62
Figura 1.20 -	Estrutura dos carotenóides bixina e norbixina, cis e trans e do principal produto de degradação presente nas sementes.	64
Figura 1.21 -	Diferentes representações da estrutura química do surfactante não iônico Triton X-114 com destaques para suas características físico-químicas.	66
Figura 1.22 -	Curvas binodais, nas temperaturas de 278,15 K (●); 283,15 K (□); 288,15 K (■) e 293,15 K (○), para os SABs formados por PEG 400 g mol ⁻¹ (a); PEG 1500 g mol ⁻¹ (b); PEG 4000 g mol ⁻¹ (c) + Triton X-114 + H ₂ O.	71
Figura 1.23 -	Linhas de amarração, nas temperaturas de 278,15 K (●), 293,15 K (●), para os SAB formados por PEG 400 g mol ⁻¹ (a); PEG 1500 g mol ⁻¹ (b); PEG 4000 g mol ⁻¹ (c) + Triton X-114 + H ₂ O.	73
Figura 1.24 -	Curvas binodais e dados de equilíbrio líquido-líquido para os SABs formados por PEG 400 g mol ⁻¹ + Triton X-114 + H ₂ O nas temperaturas de (a) 278,15 K; (b) 283,15 K; (c) 288,15 K; (d) 293,15 K. Os pontos globais (●), linhas de amarração (□) e curva binodal (■) representados para cada diagrama.	76
Figura 1.25 -	Curvas binodais e dados de equilíbrio líquido-líquido para os SABs formados por PEG 1500 g mol ⁻¹ + Triton X-114 + H ₂ O nas temperaturas de (a) 278,15 K; (b) 283,15 K; (c) 288,15 K; (d) 293,15 K. Os pontos globais (●), linhas de amarração (□) e curva binodal (■) representados para cada diagrama.	77
Figura 1.26 -	Curvas binodais e dados de equilíbrio líquido-líquido para os SABs formados por PEG 4000 g mol ⁻¹ + Triton X-114 + H ₂ O nas temperaturas de (a) 278,15	78

	K; (b) 283,15 K; (c) 288,15 K; (d) 293,15 K. Os pontos globais (●), linhas de amarração (□) e curva binodal (■) representados para cada diagrama.	
Figura 1.27 -	Possível estrutura da micela com polímero intra-cadeia de surfactante. (a) uma única micela intra-cadeia (b) várias micelas intra-cadeia em soluções de polímeros.	79
Figura 1.28 -	Equilíbrio entre as fases formadas por TX114 + PEG + água.	81
Figura 1.29 -	Curvas binodais, nas temperaturas de 278,15 K (a) e 293,15 K (b), para os SABs formados por PEG + Triton X-114 + H ₂ O, nas massas moleculares de PEG 400 g mol ⁻¹ (■), PEG 1500 g mol ⁻¹ (○) e PEG 4000 g mol ⁻¹ (●).	81
Figura 1.30 -	Curva binodal experimental (●) e recuperada pelo modelo teórico (—) para o sistema formado por PEG 400 g mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente.	86
Figura 1.31 -	Curva binodal experimental (●) e recuperada pelo modelo teórico (—) para o sistema formado por PEG 1500 g mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente.	86
Figura 1.32 -	Curva binodal experimental (●) e recuperada pelo modelo teórico (—) para o sistema formado por PEG 4000 g mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente.	87
Figura 1.33 -	Correlação entre os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido do sistema PEG 400 g mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente, obtidos pelo modelo de Flory Huggins em que (---) experimental (—) teórico.	91
Figura 1.34 -	Correlação entre os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido do sistema PEG 1500 g mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente, obtidos pelo modelo de Flory Huggins em que (---) experimental (—) teórico.	92
Figura 1.35 -	Correlação entre os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido do sistema PEG 4000 g mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente, obtidos pelo modelo de Flory Huggins em que (---) experimental (—) teórico.	93

Figura 2.1 -	Estrutura química dos apocarotenoides: (a) bixina e (b) norbixina.	113
Figura 2.2 -	Partição do EA nos SABs (a) PEG 6000 g mol ⁻¹ + citrato de sódio + água, e (b) PEG 6000 g mol ⁻¹ + citrato de sódio + água + CTAB, a 298,15 K.	120
Figura 2.3 -	(a) Espectros de absorção de norbixina a 0,05% (m/v) na presença de concentrações de CTAB de (1) 0 mol kg ⁻¹ , (2) 1 x 10 ⁻⁵ mol kg ⁻¹ , (3) 2 x 10 ⁻⁵ mol kg ⁻¹ , (4) 2 x 10 ⁻⁴ mol kg ⁻¹ , (5) 4 x 10 ⁻⁴ mol kg ⁻¹ , (6) 6 x 10 ⁻⁴ mol kg ⁻¹ , (7) 8 x 10 ⁻⁴ mol kg ⁻¹ e (8) 1 x 10 ⁻³ mol kg ⁻¹ . (b) Alterações na tensão superficial de acordo com a concentração de CTAB em água, com norbixina a 0,05% (m/v), a 298,15 K.	123
Figura 2.4 -	(a) Espectros de absorção de norbixina a 0,05% (m/v) na presença de diferentes concentrações de SDS. (b) Alterações na tensão superficial de acordo com a concentração de SDS em água, com norbixina a 0,05% (m/v), a 298,15 K.	123
Figura 2.5 -	Efeito da concentração de CTAB na razão de distribuição do extrato de urucum em diferentes sistemas, a 298,15 K: (■) PEG 1500 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, (●) PEG 4000 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, (▲) PEG 6000 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água.	126
Figura 2.6 -	Variação na concentração de CTAB nos SABs (a) PEG 1500 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, (b) PEG 4000 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, e (c) PEG 6000 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, contendo extrato de urucum, a 298,15 K. Para todos os sistemas, a concentração de CTAB variou de 4,5 x 10 ⁻⁴ a 8,5 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	126
Figura 2.7 -	Efeito da massa molecular do polímero na KEA para diferentes CLA no sistema PEG + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, a 298,15 K: (■) 1500 g mol ⁻¹ , (●) 4000 g mol ⁻¹ , (▲) 6000 g mol ⁻¹	127
Figura 2.8 -	Partição do extrato de urucum utilizando CTAB a 8,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ no sistema L35 1900 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, a 298,15 K.	128
Figura 2.9 -	Efeito do pH na razão de distribuição do extrato de urucum para o sistema PEG 1500 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, com CTAB 8,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , a 298,15 K.	129

Figura 2.10 - Efeito da temperatura na partição do extrato de urucum no sistema PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, 8,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB em diferentes CLA: (a) 273,15 K, (b) 298,15 K, (c) 308,15 K, (d) 318,15 K. 130

Figura 2.11 - (a) Efeito da temperatura no razão de distribuição do extrato de urucum para o sistema PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, com 8,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB: (■) 273,15 K, (●) 298,15 K, (▲) 308,15 K, (▼) 318,15 K. (b) Efeito da temperatura no Δ_{tr}G° para o sistema PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, com 8,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB: (■) 273,15 K, (●) 298,15 K, (▲) 308,15 K, (▼) 318,15 K. 131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 -	Exemplos de surfactantes.	38
Tabela 1.2-	Lista de Produtos Químicos.	68
Tabela 1.3-	Valores dos parâmetros ajustados para as equações 33, 34, 35 e 36 para o SAB formado por PEG 400 g.mol ⁻¹	84
Tabela 1.3-	Valores dos parâmetros ajustados para as equações 33, 34, 35 e 36 para o SAB formado por PEG 1500 g.mol ⁻¹	84
Tabela 1.3-	Valores dos parâmetros ajustados para as equações 33, 34, 35 e 36 para o SAB formado por PEG 4000 g.mol ⁻¹	85
Tabela 1.4-	Valores dos Parâmetros da Equação (40) para os sistemas formados por PEG 400 (1), Triton X-114 (2) e água (3).	88
Tabela 1.5 -	Valores dos Parâmetros da Equação (40) para os sistemas formados por PEG 1500 g.mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3).	88
Tabela 1.6-	Valores dos Parâmetros da Equação (40) para os sistemas formados por PEG 4000 g.mol ⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3).	88
Tabela 1.7-	Parâmetros de Flory-Huggins para o sistema PEG 400 g.mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + água (3).	89
Tabela 1.8-	Parâmetros de Flory-Huggins para o sistema PEG 1500 g.mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + água (3).	90
Tabela 1.9-	Parâmetros de Flory-Huggins para o sistema PEG 4000 g.mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + água (3).	90
Tabela A1 -	Dados de composição de mistura no equilíbrio para o SAB formado por PEG 400 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H ₂ O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.	106

Tabela A2 -	Dados de composição de mistura da curva binodal para o sistema formado por PEG 400 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H ₂ O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.	107
Tabela A3 -	Dados de composição de mistura no equilíbrio para o SAB formado por PEG 1500 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H ₂ O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.	108
Tabela A4 -	Dados de composição de mistura da curva binodal para o sistema formado por PEG 1500 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H ₂ O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.	109
Tabela A5 -	Dados de composição de mistura no equilíbrio para o SAB formado por PEG 4000 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H ₂ O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.	110
Tabela A6 -	Dados da curva binodal para o sistema formado por PEG 4000 g mol ⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H ₂ O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.	111
Tabela 2.1 -	Lista de Produtos Químicos.	116
Tabela B1-	Efeito da massa molecular no K _{AE} em diferentes CLAs nos sistemas formados PEG + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, a 298,15 K.	137
Tabela B2-	Efeito do pH na separação do extrato de anato no sistema CLA 21,39 % PEG 1500 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, com 8,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ CTAB, a 298,15 K.	137
Tabela B3-	Efeito da temperatura, valores de Δ _{tr} G ^o e razão de distribuição do extrato de anato no sistema formado por PEG 1500 g mol ⁻¹ + NaH ₂ C ₆ H ₅ O ₇ + água, com 8,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ CTAB: 273,15 K, 298,15 K, 308,15 K, 318,15 K.	138

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

[Bmin] Cl	Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio
[C1min] Cl	Cloreto 1,3-dimetilimidazólio
[C2min] Cl	Cloreto de 1-etil-3-metilimidazólio
[C8min] Cl	Cloreto de 1-metil-3-octilimidazólio
[Emin] Cl	Cloreto de 1-etil-3-metilimidazólio
AT	Ácidos taninos
BLIS	Substância inibitória do tipo bactericida
BSA	Albumina sérica bovina
CGA	Microbolhas encapsuladas com multicamadas de surfactantes
CLA	Comprimento da linha de amarração
cmc	Concentração micelar crítica
CPP	Parâmetro crítico de empacotamento
CTAB	Brometo Cetiltrimetilamônio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EA	Extrato de anato
FI	Fase inferior
FS	Fase superior
HLB	Balanco hidrofílico-lipofílico
ILA	Inclinação da linha de amarração
KEA	Fator de distribuição do extrato de urucum
Kp	Fator de distribuição
L35	Copolímero de Blocos de oxido de etileno/óxido de propileno
L81	Copolímero de Blocos de oxido de etileno/óxido de propileno
LA	linha de amarração
LI	Líquido iônico
NO	Norbixina
PDS	Polidiaxonona
PEG	Poli (etileno glicol)
PPO	Poli (propileno glicol)
SAB	Sistemas aquosos bifásicos
SABM	Sistemas aquosos bifásicos micelares

SDS	Dodecil sulfato de sódio
SDS-PAGE	Separação proteica em gel de poliacrilamida
Triton X-100	Polietileno glicol terc-octilfenil éter
Triton X-102	Polietileno glicol terc-octilfenil éter
Triton X-114	Polioxietileno p-t-octil fenol
Triton X-165	4 -(1,1,3,3-Tetrametilbutil) fenil-polietileno glicol
Triton X-45	Éter 4-terc-octilfenílico de polietileno glicol
TTAB	Brometo Tetratrimetilamônio
Tween 80	Polissorbato 80

SUMÁRIO

1	CAPITULO 1.....	20
1.1	INTRODUÇÃO GERAL.....	20
1.2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E ESTADO DA ARTE.....	23
1.2.1	Água um líquido altamente estruturado.....	24
1.2.2	Água como solvente.....	26
1.2.3	Surfactantes.....	38
1.3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	49
1.3.1	Sistemas aquosos bifásicos.....	49
1.3.2	Interações polímero com surfactante.....	56
1.3.3	Sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM).....	57
1.3.4	Corantes de <i>bixa orellana l.</i> (urucum).....	62
1.3.5	Aplicação dos sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM) na partição de corantes.....	65
1.3.6	Obtenção de novos diagramas de fase para sistemas aquosos bifásicos micelares.....	66
1.4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	67
1.4.1	Materiais.....	68
1.4.2	Métodos.....	68
1.4.2.1	Titulação turbidimétrica.....	68
1.4.2.2	Estudo do equilíbrio líquido-líquido.....	69
1.4.2.3	Modelagem termodinâmica.....	70
1.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
1.5.1	Estudo do equilíbrio líquido-líquido dos novos sistemas aquosos bifásicos micelares formados por PEG e Triton X-114.....	70
1.5.2	Efeito da massa molecular do PEG.....	81
1.5.3	Correlação das linhas de amarração.....	83
1.5.4	Correlação das curvas binodais.....	85
1.5.5	Modelo Flory-Huggins.....	89
1.6	CONCLUSÕES.....	93
	REFERÊNCIAS.....	94

	APÊNDICE A.....	106
2	CAPITULO 2 - COMO O USO DE SURFACTANTES AFETA A PARTIÇÃO DO CORANTE DE URUCUM (<i>BIXA ORELLANA L.</i>) EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS FORMADOS POR SAL E POLÍMERO?.....	112
2.1	INTRODUÇÃO.....	113
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	115
2.2.1	Materiais.....	115
2.2.2	Métodos.....	116
2.2.2.1	Preparação do extrato bruto de urucum (EA).....	116
2.2.2.2	Preparação da partição nos SAB do EA.....	116
2.2.2.3	Agentes moduladores de transferência do EA.....	117
2.2.2.4	CTAB como agente modulador da transferência de EA.....	117
2.2.2.5	Interações entre CTAB e os carotenóides do EA.....	118
2.2.2.5.1	<i>Medidas de tensão superficial.....</i>	118
2.2.2.5.2	<i>Medidas de espectrometria UV-visível.....</i>	118
2.2.2.6	Efeito do comprimento da linha de amarração na partição do EA.....	119
2.2.2.7	Efeito da hidrofobicidade.....	119
2.2.2.8	Influência do pH na partição do EA.....	119
2.2.2.9	Influência da temperatura na partição do EA.....	119
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	120
2.3.1	Avaliação da partição de EA em diferentes SAB.....	120
2.3.2	Avaliação dos compostos que possam atuar como agente de modulação da transferência do EA entre as fases do SAB.....	121
2.3.3	Efeitos da massa molecular do polímero e concentração de CTAB na partição do EA.....	125
2.3.4	Influência da hidrofobicidade no comportamento de partição do EA no SAB com CTAB.....	128
2.3.5	Influência do pH do SAB no comportamento de partição do EA.....	129
2.3.6	Efeito da temperatura na partição do EA nos SAB.....	130
2.4	CONCLUSÕES.....	132
	REFERÊNCIAS.....	133
	APENDICE B	137

CAPITULO 1

Abordagem teórica e experimental sobre sistemas aquosos bifásicos micelares.

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

Processos de extração, purificação e/ou pré-concentração de substâncias são largamente empregados tanto em escala laboratorial quanto industrial em empresas de diversos setores como o químico, o farmacêutico, o de petróleo, o de alimentos, o biotecnológico entre outros. O grande interesse nos processos de extração pode ser percebido através da movimentação financeira relacionada aos setores da indústria que empregam esses processos. Para se ter uma ideia, apenas no setor da indústria química brasileira o faturamento líquido em 2018 foi de R\$ 238,6 bilhões, o que colocou o Brasil na sexta posição do ranking mundial. A liderança é da China, com faturamento de US\$ 1,597 trilhão em 2018, seguida por Estados Unidos, com US\$ 768 bilhões.¹ Uma parte significativa desse faturamento está atrelado ao uso de processos de separação.

A enorme movimentação financeira aliada às crescentes demandas por produtos tem impulsionado pesquisas que buscam desenvolver e/ou melhorar métodos de separação. Encontrar técnicas de extração/purificação mais eficientes, econômicas, que permitam atingir elevado grau pureza e rendimento, mantendo a integridade do produto final constituem, em geral, o foco dessas pesquisas.² Como resultado, novas técnicas vêm surgido para substituir ou aprimorar as técnicas corriqueiramente utilizadas no atual cenário, como a cromatografia de afinidade, troca iônica, eletroforese, arraste de vapor, cristalização e sistemas de extração líquido-líquido. Estas técnicas apresentam variados empregos e enorme importância nos processos de separação e por isso, o interesse em inovar nesse setor buscando resolver desafios relacionados ao custo dos processos, complexidade de execução, utilização de solventes orgânicos tóxicos e inflamáveis e limitações para o emprego da técnica em maior escala.³

Nesse cenário de busca por novas metodologias surgem os chamados sistemas aquosos bifásicos (SABs) como uma alternativa com grande potencial de inovação em processos de extração/purificação. O interesse nesses sistemas é devido a existência de duas fases aquosas em equilíbrio contendo elevado teor de água em cada uma delas, que em alguns SABs chegam a atingir de 80 a 90 % em fração mássica. Tal fato permite extrair moléculas biológicas mantendo sua atividade. Ainda, a baixa tensão interfacial desses sistemas, da ordem de 10^{-4} N m^{-1} , quando comparado a sistemas bifásicos formados pela mistura de solventes orgânicos e

água em que a tensão interfacial é da ordem de 10^{-2} N m^{-1} , como exemplo o sistema formado por clorofórmio + água + ácido propanoico com $0,0163 \text{ N m}^{-1}$,⁴ que facilita a transferência de solutos entre as fases com manutenção da sua integridade. Este método de separação também oferece outras vantagens como curto tempo de processamento quando se compara com métodos cromatográficos. Um exemplo são os SABs formados por PEG/fosfato. Nestes, o tempo de separação entre as fases é inferior a 5 minutos, enquanto em métodos cromatográficos é necessário um longo preparo da amostra, onde se gasta cerca de 60 % do tempo da análise para a pré concentração da amostra.⁵ O baixo investimento energético e relativo baixo custo de produção, devido ao fato dos materiais constituintes dos SABs serem recicláveis, a facilidade de aplicação tanto em escala piloto como em escala industrial, pois não é necessária a compra e instalação de equipamentos de alto custo,⁶ são outras características que tornam esses sistemas bastante atrativos.

De forma geral, os SABs são formados por misturas aquosas ternárias ou pseudo-ternárias que em determinadas faixas de composição e temperatura de controle apresentam um equilíbrio monofásico-bifásico. Os componentes formadores são considerados de baixa toxicidade pois, em geral, são biologicamente inertes (polímeros sintéticos) ou biodegradáveis, no caso dos carboidratos.² Em meio aquoso esses componentes, que não são reativos, apresentam algum grau de incompatibilidade entre eles que, sob adequado controle de variáveis, provoca o aparecimento de duas fases. Dessa forma são encontrados diversos relatos na literatura especializada de SABs formados por misturas aquosas de polímero e sal,⁷ líquido iônico e sal,⁸ polímero e polímero,² surfactante e surfactante⁹ e surfactante e polímero.¹⁰ A distinção entre os tipos é feita quanto à aplicabilidade em termos das substâncias a serem purificadas e às necessidades operacionais: os primeiros tendem a ser menos viscosos, facilitando a separação das fases, enquanto os demais podem ser aplicáveis a determinadas substâncias que não toleram a presença de sais em concentrações maiores, mas todos têm em comum a água como componente majoritário em ambas as fases.¹¹

Tem sido relatada a utilização desses sistemas para diminuir ou até mesmo extinguir impactos ambientais causados pelos métodos tradicionais de separação. Tais métodos fazem uso de solventes orgânicos que apresentam muitos riscos envolvidos, seja na sua manipulação no setor produtivo, por afetar a qualidade do produto final, ou pelos impactos ao meio ambiente.¹² Nesse sentido, os SABs são considerados uma tecnologia de separação mais limpa, que pode ser utilizada tanto nas atividades industriais e de outros setores, sendo relacionados à ciência da chamada Química Verde (*Green Chemistry*), introduzida nos Estados Unidos na

década de 1980 por Mark Harrison. Esta nova concepção coloca em perspectiva a necessidade de uma crescente atenção aos problemas de poluição química e esgotamento de recursos.^{7,13}

Apesar da intensa aplicação dos SABs em escala laboratorial para purificação de enzimas e proteínas, esses não alcançaram ampla utilização industrial, pois embora seja relativamente fácil montar um SAB, pois envolve poucas e simples operações unitárias, o grande número de variáveis que devem ser controladas no processo tornam complexa a implementação desses sistemas. Além disso, cada soluto comporta-se de maneira diferente nesses sistemas, adicionando um grau de complexidade à mais no processo de separação.¹² A principal limitação da utilização em escala industrial é o controle rigoroso do método utilizado, sobre as condições de aplicação, o que só é possível com base no conhecimento do comportamento de fases do sistema, a partir do entendimento como diversas variáveis como: composição de mistura, temperatura, pH, massa molar dos polímeros, características particulares dos surfactantes, etc, que afetam o equilíbrio. Sabe-se que há emprego em operações industriais; porém, dado seu caráter sigiloso, tais aplicações não são descritas em publicações especializadas. A viabilidade econômica já é bem estabelecida e os SABs são considerados no meio científico como tecnologia suficientemente madura para uso na indústria.¹⁴

Dentre os diversos tipos de SAB os chamados sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM), que contem surfactantes que se auto organizam em estruturas dinâmicas chamadas micelas, têm demonstrado resultados promissores com relação à recuperação de biomoléculas ativas. Na última década, os SABM formados por surfactantes não iônicos, como os da classe Triton X, tem despertado a atenção da comunidade acadêmica devido ao interesse em processos de separação com vistas a recuperação de biomoléculas com fortes características hidrofóbicas, como por exemplo proteínas presentes em membranas celulares. A capacidade de gerar ambientes hidrofóbicos no interior das fases de um SAB tem atraído a atenção de pesquisadores envolvidos com essa área nos últimos anos.¹⁵

As linhas de pesquisa em SABs se dividem em três: 1º pesquisar novas misturas que levam a segregação de fase (caracterização dos novos diagramas de fase, incluindo a modelagem termodinâmica); 2º aplicação dos SAB conhecidos em processos de purificação e/ou extração de solutos de interesse e 3º compreensão de como esses sistemas se comportam.

Particularmente, em relação à segunda linha de pesquisa, existe, atualmente, nas indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos, uma forte tendência pela substituição de corantes e aditivos sintéticos por produtos naturais, por serem estes considerados seguros e menos susceptíveis a causar efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente. Os processos

atuais, de extração de corantes da semente do urucum levam a obtenção de produto final que se encontra misturado a outros componentes, resultando em produto final de baixo valor agregado. O desenvolvimento de tecnologia que conduza não só a extração do pigmento bruto, mas principalmente que leve à obtenção de um corante de elevada pureza é de fundamental importância para agregar valor ao produto final.¹⁵

Para o estudo de extração e/ou purificação do extrato do corante das sementes de urucum, foram utilizados os SABMs, dentro da segunda linha de pesquisa de SABs. Os pigmentos extraídos do extrato das sementes de urucum foram os carotenóides cis-bixina e cis-norbixina. A bixina é um corante solúvel em gordura que é encontrado sob a forma de suspensões oleosas ou solventes orgânicos. Já a norbixina é um corante solúvel em água e, portanto, encontrado principalmente sob a forma de soluções alcalinas.¹⁶

Assim o presente trabalho teve como objetivos: primeiro, a aplicação de um surfactante, o CTAB, como agente modulador da partição do extrato do anato (urucum) em SABM formado pela mistura de PEG 1500 + citrato de sódio + água em diferentes condições de temperatura, pH, hidrofobicidade, etc.; segundo obter novos diagramas de fases de sistemas aquosos bifásicos micelares inéditos na literatura formados por polietileno glicol + Triton X-114 + água em diferentes temperaturas. A adição de surfactantes para melhorar o desempenho dos sistemas aquosos bifásicos vem sendo estudado tanto para sistemas formados por misturas de surfactantes, quanto para sistemas formados por polímero e sal.¹⁷

A formação de SABM formados pela mistura de Triton X-114 e PEG, e sua influência na segregação das fases, foi relatada pela primeira vez neste trabalho. A importância de se conhecer o comportamento de fase de um SAB deve ser destacada, pois, qualquer tentativa de aplicação desses sistemas, seja em escala laboratorial ou industrial, passa pela necessidade do conhecimento do diagrama de fase.

1.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E ESTADO DA ARTE

Nesta seção, informações sobre os componentes formadores dos SABs e SABMs investigados no presente trabalho são abordadas numa perspectiva das suas características e complexidades enquanto componentes puros e, na sequência, do comportamento que apresentam em misturas de surfactante + água, polímero + surfactante, e polímero + água. A seção inicia com uma abordagem do componente principal e que é comum a todos os tipos de SABs: a água. Na sequência características, fenômenos e desafios atuais envolvidos no estudo de soluções aquosas de polímeros e de surfactantes são brevemente abordados.

1.2.1 Água um líquido altamente estruturado

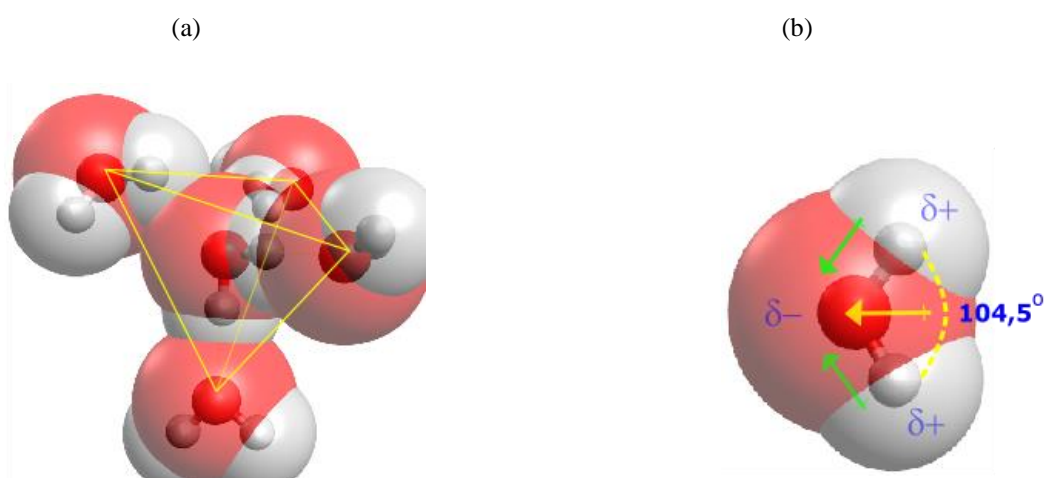
Neste trabalho é necessário a compreensão do comportamento físico-químico da água como substância, pois o componente principal dos chamados sistemas aquosos bifásicos (SABs) é a água. Em diversas situações a investigação científica o papel da água é negligenciada. Talvez em parte isso possa ser explicado pela complexidade que envolve essa substância, visto que ainda é um desafio nos dias de hoje compreender o comportamento de fase da água, sob diferentes condições de controle, correlacionando modelos teóricos para o macro e o microestado desse sistema. Sob o ponto de vista macroscópico, podemos afirmar que o comportamento de fase da água, correlaciona várias situações de controle de temperatura e pressão, em que a substância água pode coexistir em diversos estados de agregação. No estado sólido a água comporta várias fases de agregação com variado polimorfismo, que reflete a diversidade de tipos de estruturas em que as moléculas podem ser empacotadas.¹⁸ Já no estado líquido e gasoso apresentam apenas uma fase.

Possuidora de uma das menores moléculas encontradas na natureza, a água é formada por dois átomos de hidrogênio ligados a um de oxigênio por uma ligação covalente, conforme mostra a figura 1.1. O comprimento médio da ligação O-H é de 0,957 Å e os dois pares de elétrons não ligantes sobre átomo de oxigênio, com hibridização sp^3 , forçam as ligações covalentes na tríade H-O-H formarem um ângulo de aproximadamente 104,5°. O oxigênio mais eletronegativo carrega uma carga negativa parcial e os átomos de hidrogênio carregam cargas positivas parciais.¹⁹

A água possui suas características ditadas não apenas pelas propriedades individuais das suas moléculas como sua geometria e polaridade, mas também pelas interações que essas moléculas de água fazem entre si propagadas ao longo de toda a extensão do seu volume. As

interações dipolo-dipolo entre as moléculas de água são de natureza eletrostática e recebem a denominação de ligação de hidrogênio.¹⁹ A ligação de hidrogênio é caracterizada por dois átomos de oxigênio atraindo um átomo de hidrogênio, através do compartilhamento de seu elétron, que resulta em uma ligação entre os oxigênios. A energia que une dois átomos de hidrogênio e um de oxigênio, formando uma molécula de água, é aproximadamente de 492 kJ/mol. Além disso, cada hidrogênio apresenta uma força atrativa de 23,3 kJ/mol com relação ao oxigênio de uma molécula vizinha.

Figura 1.1 – Estrutura química da molécula de água



Fonte: Do autor

Nota: (a) Ligações de hidrogênio tetraedricamente dirigidas ao redor de uma molécula de água central. A ligação de hidrogênio é direcional e cooperativa, ou seja, uma vez que uma molécula de água faz uma ligação de hidrogênio o dímero formado fica ainda mais propício a receber uma nova ligação.

(b) Molécula de água em destaque. O oxigênio, mais eletronegativo que os átomos de hidrogênio, apresenta uma densidade de carga negativa enquanto que os hidrogênios apresentam carga positiva. Dois pares de elétrons não ligantes sobre o átomo de oxigênio forçam a molécula assumir um ângulo de 104,5°. As setas em verde representam os momentos dipolares das ligações OH e o momento dipolar total está representado pela seta em amarelo. Por essas características, a molécula de água apresenta um caráter anfótero, ou seja, age tanto como receptor quanto um doador de hidrogênio.

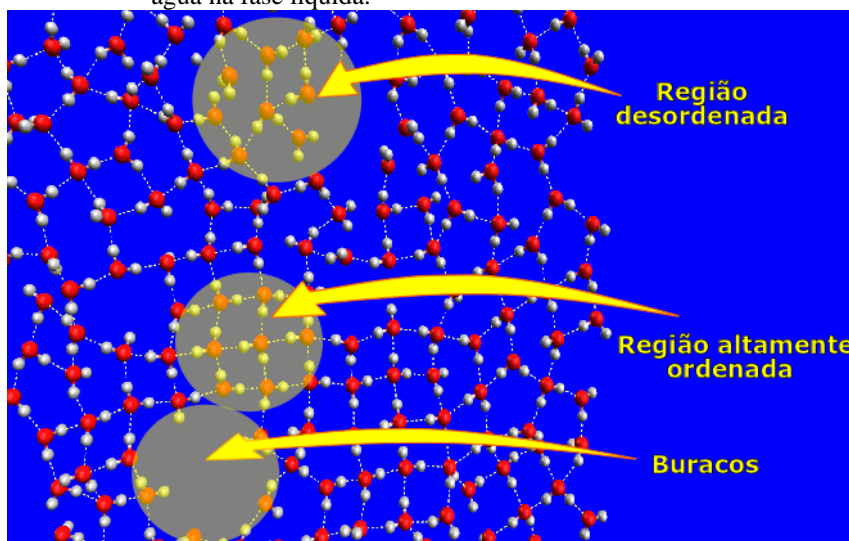
As ligações de hidrogênio apresentam caráter cooperativo. Após a formação de uma primeira ligação de hidrogênio, a distribuição de carga dentro do par de moléculas é alterada de tal maneira que a molécula receptora de hidrogênio se torna potencialmente um doador de hidrogênio ainda melhor do que antes. Assim, a água como substância, apresenta uma série de propriedades anômalas, ou seja, por anômalas entende-se comportamentos bem distintos dos apresentados por outras substâncias, como densidade, ponto de fusão, constante dielétrica, viscosidade, momento de dipolo e ponto de ebulição. Essas propriedades anômalas da água

resultam, de alguma maneira, da capacidade das moléculas de água se envolverem numa intrincada rede de ligações de hidrogênio²⁰ (Figura 1.2).

As moléculas de água não ficam tão próximas quanto as partículas de um líquido simples, porque as ligações de hidrogênio impõem restrições geométricas nas posições moleculares. A ligação de hidrogênio é linear e se for “dobrada”, a sobreposição orbital fica mais fraca, e o vínculo é enfraquecido. Portanto as ligações de hidrogênio são altamente direcionais, ou seja, elas ligam as moléculas de água em orientações espaciais específicas, impedindo-as de empacotar-se de modo mais próximo, como ocorre num líquido simples. Apesar disso as taxas de difusão e rotação das moléculas de água à temperatura ambiente são comparáveis às dos líquidos simples não associados.²⁰

Sciortino *et al.* (1991) propôs que este comportamento se deve ao fato da rede de interações intermoleculares da água líquida conter muitos defeitos. Esses defeitos são caracterizados geometricamente por aproximações de uma quinta molécula de água na primeira camada de coordenação, em que um hidrogênio pode ser disputado por dois átomos de oxigênio em moléculas diferentes.²¹ A Figura 1.2 apresenta a existências de regiões de maior e menor regularidade de arranjos moleculares e a existência de defeitos.

Figura 1.2 – Representação esquemática bidimensional da rede de ligações de hidrogênio da água na fase líquida.



Fonte: Do autor

1.2.2 Água como solvente

A água é capaz de solubilizar um número enorme de substâncias polares e os processos de solvatação estão intimamente relacionados à forma como diferentes substâncias afetam a

estrutura da água. Em particular, por sua elevada permissividade relativa (constante dielétrica) e pequeno tamanho das moléculas, a água é um excelente solvente para espécies polares e eletrólitos. A água é chamada de solvente universal porque dissolve muitas substâncias devido a fortes interações que as moléculas de água fazem com substâncias consideradas hidrofílicas.²²

A solubilidade dos hidrocarbonetos em água dependerá da capacidade da molécula de hidrocarboneto vencer as forças de atração entre as moléculas de água. Como o hidrocarboneto não apresenta interações fortes com a água, ele é “expulso” pelas moléculas desse solvente de forma a manterem suas ligações de hidrogênio. Mas, se aplicada a agitação às moléculas de água, estas penetram entre as moléculas de hidrocarbonetos. Assim a solubilidade ocorre, pois existem forças de Van der Waals entre a água e o hidrocarboneto, o que estabiliza a mistura. A existência de grandes forças de atração entre as moléculas de água dissolvidas no hidrocarboneto tende a fazer com que estas se agrupem novamente, cessada a ação externa.^{23,24}

Dentre as moléculas com cadeias de hidrocarbonetos, destacam-se os surfactantes. Esses são agentes superficiais ativos (tensoativos), conhecidos popularmente como sabões e detergentes. São moléculas anfifílicas, cujas estruturas moleculares caracterizam-se por apresentar, no mínimo, duas regiões distintas, uma hidrofílica (polar) que tem afinidade com a água e outra parte hidrofóbica (apolar), formada por segmentos de hidrocarbonetos, que tem afinidade com moléculas de gordura.²³

A solubilidade em água dos surfactantes ocorre devido a existência de cargas na sua estrutura. Quanto maior a carga presente em um surfactante, mais solúvel ele será em água, não importando se as cargas são negativas ou positivas.²⁴ Mas a diluição de um surfactante em água promove o surgimento de interações desfavoráveis entre a parte hidrofóbica e a água. Isso acontece devido à alta tensão interfacial água/monômeros e diminuição dos graus de liberdade da cadeia hidrofóbica.

Os surfactantes não iônicos são solúveis em água devido a substituição das forças de dipolo forte entre as moléculas de água por novas forças de dipolo, formadas entre os átomos de oxigênio da cadeia etoxilada do surfactante e as moléculas de água vizinhas. Quanto maior o número de moléculas de óxido de eteno, maior a solubilidade em água. Enquanto nos surfactantes aniônicos e catiônicos, as cargas responsáveis pela solubilidade em água estão concentradas em poucos átomos, nos surfactantes não iônicos essas cargas estão dispersas por vários átomos de oxigênio espalhados por uma cadeia polimérica.²⁴

Quando se aquece uma solução de surfactante não iônico, a agitação provocada pelo aquecimento consegue vencer as forças de atração do surfactante com as moléculas de água, já que são forças fracas. Quanto mais se aquece a solução, mais moléculas de água deixam de

estabilizar o surfactante, até o ponto em que ele se torna insolúvel e precipita na forma de uma névoa ou turvação, essa temperatura é conhecida como ponto de névoa ou turvação e é uma característica dos surfactantes não iônicos derivados de óxido de eteno. Assim as propriedades físico-químicas dos surfactantes etoxilados são fortemente dependentes da temperatura. Diferente dos surfactantes aniônicos ou catiônicos. Na maioria dos surfactantes não iônicos a solubilidade decresce com o aumento da temperatura.²⁴

Os polímeros são formados por segmentos de hidrocarbonetos, esses para que sejam solubilizados, as forças intermoleculares devem ser vencidas, já que tais forças provocam o enovelamento entre as longas cadeias poliméricas. As cadeias poliméricas, são macromoléculas formadas de unidades de repetição (monômeros) contendo geralmente segmentos de cadeia que se atraem por forças intermoleculares, Van der Waals (interação dipolo-dipolo e interação dipolo-dipolo induzido) e ligação de hidrogênio, que aumentam com a presença de grupos polares.²⁵

Em soluções poliméricas a conformação da cadeia polimérica pode sofrer mudanças, desde que a geometria tetraédrica do carbono seja mantida. A Figura 1.3 mostra representações esquemáticas de uma cadeia polimérica em solução com diferentes solventes. A conformação mais estável em solução é a conformação em novelo. Se o solvente interage pouco com o molécula polimérica (mal solvente), o novelo se encolhe (Figura 1.3a). Se o solvente interage bem com a molécula polimérica (bom solvente), o novelo se expande (Figura 1.3b).²⁶

Figura 1.3 - Representação esquemática de uma cadeia polimérica em solução de um mau solvente e bom solvente.



Fonte: Do autor

Canevarolo Jr. (2010), afirma que a estabilidade da conformação enovelada deve-se à distância entre as duas extremidades da cadeia polimérica, quanto mais afastadas estão as extremidades, maior a energia da conformação. Assim, para a cadeia ficar em um estado de baixa energia, a mesma deve adquirir uma conformação em novelo. Na presença de um bom solvente ou em altas temperaturas, o volume hidrodinâmico da cadeia tende a aumentar, da

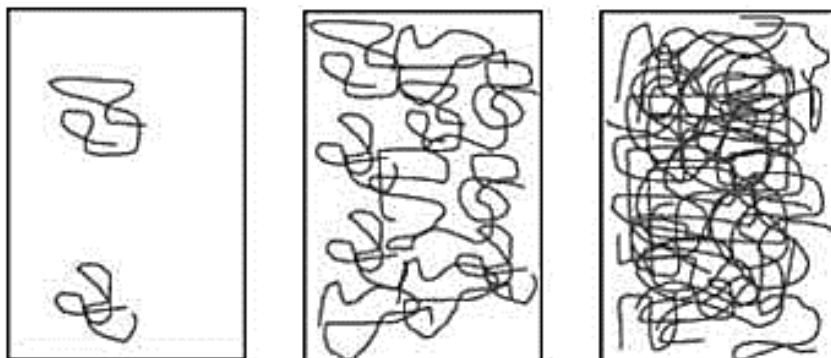
mesma forma que na presença de um solvente pobre ou em baixas temperaturas, o volume ocupado pela molécula em solução tende a diminuir.²⁶

Koenig e Miller-Chou (2003), propuseram que durante o processo de solubilização de um polímero em um solvente puro formam-se 4 camadas distintas: camada de infiltração, camada de *swelling* (inchaço), camada de gel e a camada de líquido. A camada de infiltração é a camada adjacente ao polímero puro, é a partir desta camada que as moléculas de solvente se difundem para outras partes do sólido. A segunda camada, camada de *swelling*, é a zona de transição entre a parte sólida e líquida do sistema. Seguidamente a camada de gel que é um material gelatinoso semelhante a goma, e por fim tem-se a camada de líquido que é a camada mais externa, que está em contato direto com o solvente puro. Inicialmente, a água irá se infiltrar através do polímero, preenchendo inicialmente os espaços vazios, acarretando em um inchaço do sistema polímero-água. Nas camadas iniciais, o polímero apresenta um aspecto vítreo, enquanto que ao passar para a fase gelificada, seguida da líquida, o polímero possui propriedades elásticas. Quando todas as camadas mencionadas são formadas durante a dissolução, esta se denomina dissolução normal.²⁷

Após a dissolução o comportamento das moléculas poliméricas em solução depende da concentração do polímero (c). O intervalo de concentração do polímero pode ser dividido em três regimes: diluído, semidiluído e concentrado (Figura 1.4).

No regime diluído, as moléculas estão separadas e comportam-se independentemente uma das outras. Quando a concentração de polímero é aumentada, a distância média entre as moléculas poliméricas diminui e as interações intermoleculares aumentam, surgem entrelaçamentos. Assim, quando as macromoléculas se tocam umas nas outras, atinge-se um novo regime, o regime semidiluído. No regime semidiluído há uma sobreposição das moléculas e quando isto acontece diz-se que a solução atingiu a concentração crítica (c^*). Dessa maneira, quando se atinge a concentração crítica, ocorre a formação de uma rede polimérica transitória que pode ser identificada pelo aumento considerável da viscosidade da solução polimérica. No regime semidiluído, há a possibilidade de formação de um gel se houver uma forte interação física ou química entre as moléculas. O regime concentrado é caracterizado pela elevada concentração de polímero em solução, o que resulta em entrelaçamento das cadeias, no qual os segmentos das cadeias poliméricas têm maior restrição ao movimento.²⁷

Figura 1.4 - Intervalos de concentração: solução diluída ($c < c^*$), semidiluída ($c > c^*$) e concentrada ($c \gg c^*$).



Fonte: MILLER-CHOU, B. A. KOENIG, J. L., 2003.

A dissolução de um polímero também depende da massa molecular, sendo mais fácil dissolver polímeros de massa molecular baixa. Quanto maior for a massa molecular, maior será a energia necessária para fazer com que as cadeias se dispersem no solvente, ou seja, quanto maior for o tamanho das moléculas de polímero maiores serão as forças que mantêm as cadeias unidas.²⁹

O primeiro tratado teórico de físico-química de polímeros, na tentativa de explicar o comportamento de polímeros em solução, foi apresentado por P.J. Flory³⁰ e M.L.Huggins,³¹ em 1941. Como moléculas poliméricas possuem uma grande diferença de tamanho quando comparadas as moléculas do solvente, não pode-se imaginar como em soluções ideais, mistura de dois líquidos puros em que as moléculas são imaginadas ocupando de maneira completamente aleatória um retículo (model *lattice*). Nas soluções ideais uma molécula que está num determinado sítio do retículo pode ser trocada por uma outra molécula sem afetar as circunstâncias das moléculas vizinhas, pois considera-se que cada molécula tem tamanho e forma idênticas. Devido a diferença de tamanho entre as moléculas de solvente e polímero, considera-se que cada segmento da macromolécula esta em um sítio do retículo, mudando a entropia configuracional. Ela será menor, pois a ligação entre os segmentos da macromolécula restringe as possíveis combinações do retículo.³²

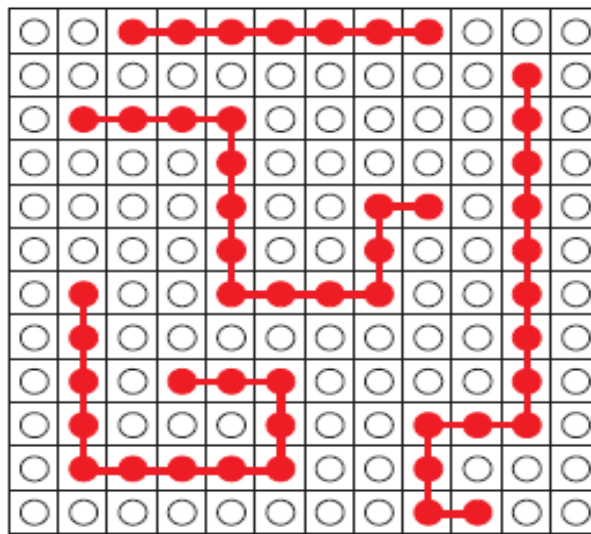
Para compreender o comportamento da mistura de polímero e solvente (água) Flory propôs um modelo molecular, que considera a molécula de polímero composta por x segmentos consecutivos, cada um deles com volume igual àquele ocupado por uma molécula do solvente.³⁰ Portanto,

$$x = \frac{\bar{V}_2}{\bar{V}_1} \quad (1)$$

onde os subscritos 1 e 2 referem-se ao solvente e ao polímero, respectivamente. A mistura solvente/polímero é então acomodada numa pseudo-rede contendo N_0 sítios que estão sempre ocupados ou por uma molécula do solvente ou por um segmento do polímero, como mostrado na Figura 1.5. Onde,

$$N_0 = N_1 + xN_2 \quad (2)$$

Figura 1.5 - Pseudo-rede assumida pelo 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.

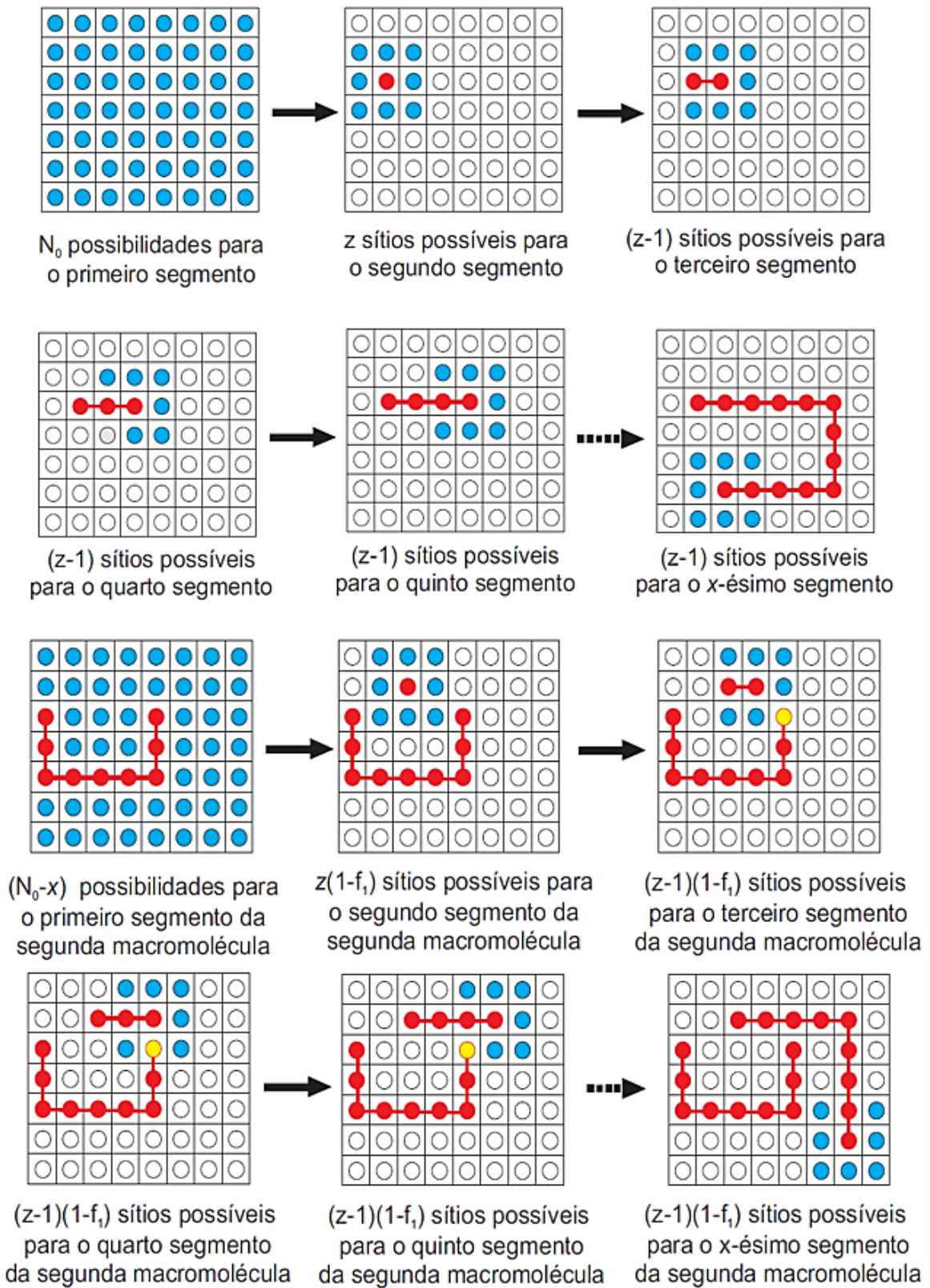


Fonte: VIRTUOSO, L.S., 2005.

Considere uma rede com N_0 sítios ocupados por moléculas de solvente e polímero no processo de mistura. Se considerarmos o tamanho da molécula de soluto igual à do solvente e ainda que as interações solvente-solvente, soluto-soluto e solvente-soluto tem a mesma magnitude, o número de arranjos possíveis para as moléculas de soluto e de solvente na rede seria o máximo possível. Mas como as macromoléculas são divididas em x segmentos, cada qual ocupando uma cela da rede, o número de arranjos possíveis diminui. 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.^{32,33}

A Figura 1.6 esquematiza passo-a-passo o processo de adição dos x segmentos de polímeros a rede com N_0 sítios.

Figura 1.6 – 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, L.S., 2005.

Note que uma vez que o primeiro segmento é adicionado, o segundo fica restrito as z celas adjacentes, em relação a 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. 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. Portanto, 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,

$$v_1 = N_0 z (z - 1)(z - 1) \dots (z - 1) = N_0 z (z - 1)^{x-2} \quad (3)$$

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 se 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 1.6). 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 ,

$$\begin{aligned} v_2 &= (N_0 - x)z(1 - f_i)(z - 1)(1 - f_i)(z - 1)(1 - f_i) \dots (z - 1)(1 - f_i) \\ &= (N_0 - x)z(1 - f_i)^{x-1}(z - 1)^{x-2} \end{aligned} \quad (4)$$

Seguindo esta linha de raciocínio na adição da terceira molécula de polímero estando as duas primeiras inclusas na rede e assim sucessivamente é possível, depois de uma complexa argumentação matemática que foge ao escopo do presente trabalho, generalizar uma expressão para v_i que se refere ao número de diferentes arranjos para se adicionar o i -ésimo polímero numa rede estando presentes nela $i - 1$ polímeros.

$$v_i = \frac{(N_0 - xi + x)!}{(N_0 - xi)!} \left[\frac{(z - 1)}{N_0} \right]^{x-1} \quad (5)$$

A equação acima contabiliza todas as possíveis configurações obtidas pela simples permutação de moléculas no sistema inclusive entre as moléculas de solvente que, ao permutarem, não contribuem com configurações distintas. Dessa forma, de modo a obter o número total de configurações, Ω_{sol} , que representam diferentes estados da solução temos,

$$\Omega_{sol} = \frac{1}{N_2!} \prod_{i=1}^{n_2} v_i \quad (6)$$

Onde o termo $\frac{1}{N_2!}$ inclui todas as possibilidades de permutar espaços dentro da rede que causam modificações. Note que o produtório refere-se as diferentes formas de arranjar n_2 mols de moléculas do polímero na solução.³³

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

$$S = k \ln \Omega \quad (7)$$

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

$$\Delta_{mis}S = k \ln \Omega_{sol} \quad (8)$$

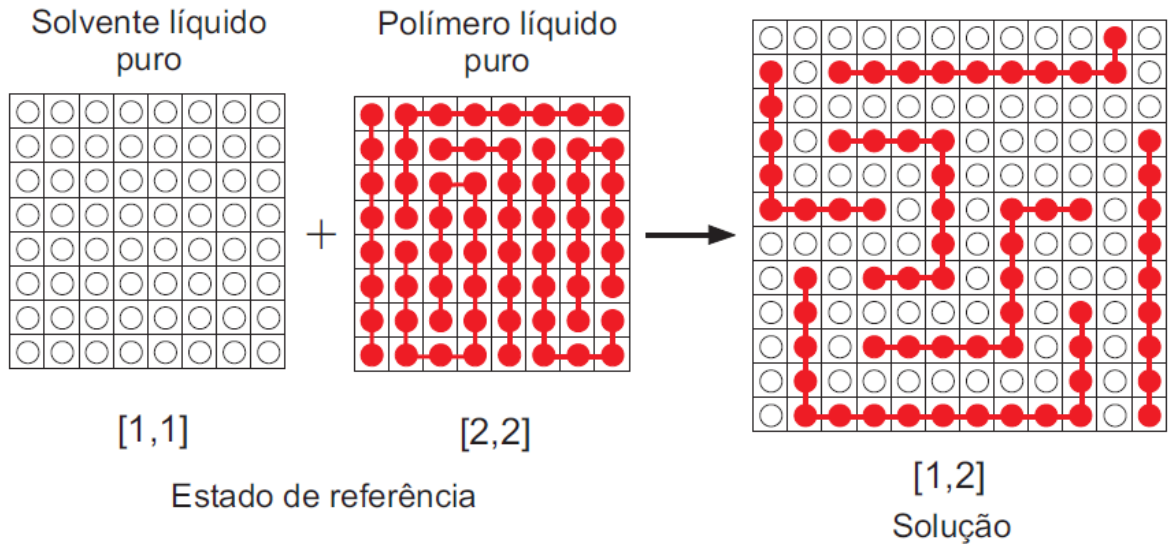
Substituindo na equação (9) as expressões obtidas anteriormente para φ_i e para Ω_{sol} após algum esforço matemático, é possível obter a expressão do modelo de Flory Huggins para o termo entrópico da mistura dada por,

$$\Delta_{mis}S = k [N_1 \ln \varphi_1 + N_2 \ln \varphi_2] \quad (9)$$

onde φ_1 e φ_2 correspondem as frações volumétricas do solvente e do polímero em solução, respectivamente.³³

Posteriormente, considerando as atrações intermoleculares entre as moléculas, Flory propôs a inclusão de um novo termo. Esse refere-se à contribuição da energia de atração ou energia potencial. A modificação dessas é diretamente responsável pela variação da entalpia do sistema. 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 1.7).³³

Figura 1.7 - Modelo de Rede de Flory para a formação de uma solução binária a partir dos respectivos componentes líquidos puros.



Fonte: VIRTUOSO, L.S., 2005.

Para determinar o termo entálpico do modelo de Flory Huggins, $\Delta_{mis}H$, tem-se que considerar 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] mostrados na Figura 1.7. Outra importante consideração, é que a força de interação diminui rapidamente com a distância. Assim considera-se somente as interações entre as moléculas vizinhas. Para cada par de interação formado em solução, tem-se que destruir 1/2 interação do tipo [1,1], [2,2]. A magnitude do $\Delta_{mis}H$ dependerá 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:

$$\Delta_{mis}H = z\Delta w_{12}x_1n_1\varphi_2 \quad (10)$$

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 (a energia térmica do sistema), pode ser introduzido segundo a equação (11).

$$\lambda_1 = \frac{(z\Delta w_{12}x_1)}{kT} \quad (11)$$

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 (11) pode ser reescrita como,

$$\Delta_{mis}H = kT\lambda_1 n_1 \varphi_2 \quad (12)$$

Spitzer determinou para a miscibilidade de um polímero em um solvente, que quando o valor λ_1 são maiores que 0,5 é estabelecido, o solvente é um mau solvente, enquanto para valores menores que 0,5 é dito que o solvente é um bom solvente.³²

Utilizando as equações (6) e (9) e substituindo na equação (14),

$$\Delta_{mis}G = \Delta_{mis}H - T\Delta_{mis}S \quad (13)$$

obtem-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:

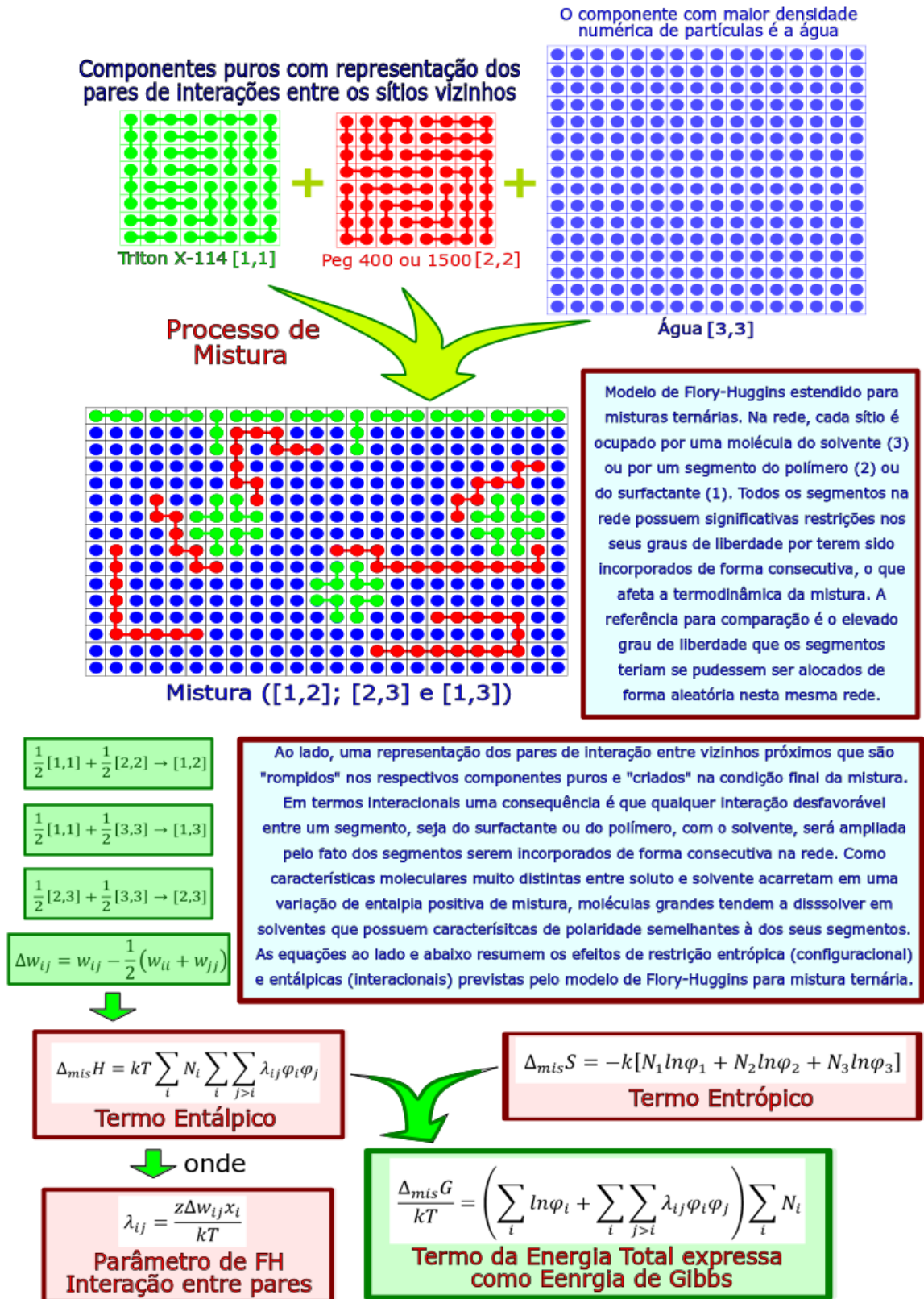
$$\Delta_{mis}G = kT\lambda_1 n_1 \varphi_2 + kT(n_1 \ln \varphi_1 + n_2 \ln \varphi_2) \quad (14)$$

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.

O modelo de Flory Huggins, embora tenha contribuído de forma substancial para o entendimento do comportamento de macromoléculas em solução, apresenta sérias limitações para sua aplicação. A de maior destaque refere-se ao fato de que neste modelo não são permitidos sítios vazios, em outras palavras, todos os sítios da rede estão ocupados seja com moléculas do solvente ou com consecutivos segmentos da molécula do polímero. Essa imposição impede que o modelo seja aplicado para situações em que, com a formação da solução a partir da mistura dos componentes puros, ocorre significativa variação de volume de mistura. Sabendo-se que o modelo de Flory é restrito para sistemas em que não há variação de volume dos componentes da mistura, quanto maior for a diferença de interação entre as moléculas do solvente e os segmentos dos polímeros, maiores serão os desvios para do modelo, pois o volume é sensível à natureza dessas interações.³³ Outra questão de difícil avaliação no modelo é o parâmetro interacional de Flory que deve ser adequadamente estimado para adequada aplicação no modelo.

Por fim, uma generalização do modelo de Flory ampliado para uma mistura ternária, formada por surfactante, polímero e água, é apresentada na Figura 1.8.

Figura 1.8 – Representação esquemática do modelo configuracional de *lattice* de Flory-Huggins estendido para misturas ternárias envolvendo surfactante (1) + polímero (2) + solvente (3).



Fonte: Do autor

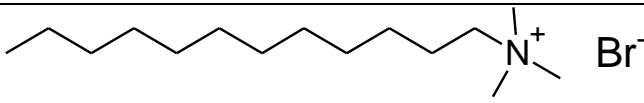
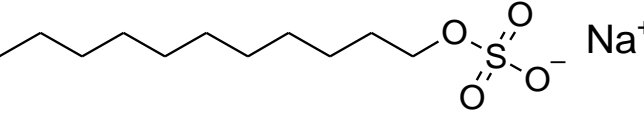
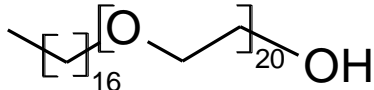
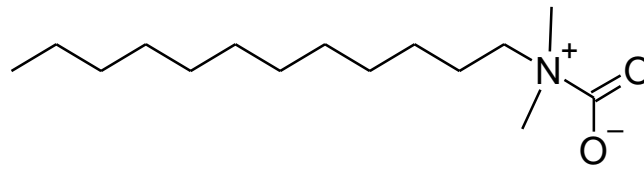
1.2.3 Surfactantes

Os surfactantes são substâncias que, pela sua estrutura química e propriedades, se adsorvem nas interfaces líquido-líquido, líquido-gás e sólido-líquido, reduzindo a tensão interfacial na interface líquido-vapor. Em um sistema, as moléculas do fluido sofrem atração das moléculas vizinhas e, uma vez que no interior do fluido há moléculas por todos os lados, a soma vetorial das forças de atração tem resultante nula. Por outro lado, nas moléculas que se encontram na superfície ou na interface ocorre um desbalanceamento e a força resultante de atração é perpendicular à interface e voltada para o interior do fluido, denominada de tensão interfacial.²⁴

Apresentam-se como moléculas anfifílicas, moléculas que possuem em sua estrutura tanto uma cabeça polar quanto uma cadeia carbônica. Estas substâncias possuem, grupos polares (hidrofílicos), com afinidade pela água, e grupos baixa polaridade (hidrofóbicos) com afinidade por compostos orgânicos de baixa polaridade (entre eles, óleo).²⁵ Dependendo da característica do grupo polar, os surfactantes podem ser classificados como não-iônicos (neutros), catiônicos, aniônicos ou anfóteros (dipolar iônico) (TABELA 1.1).

Também existem os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes, isto é, diminuem a tensão superficial e possuem alta capacidade emulsificante, são denominados biosurfactantes e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras.

Tabela 1.1 – Exemplos de alguns surfactantes.

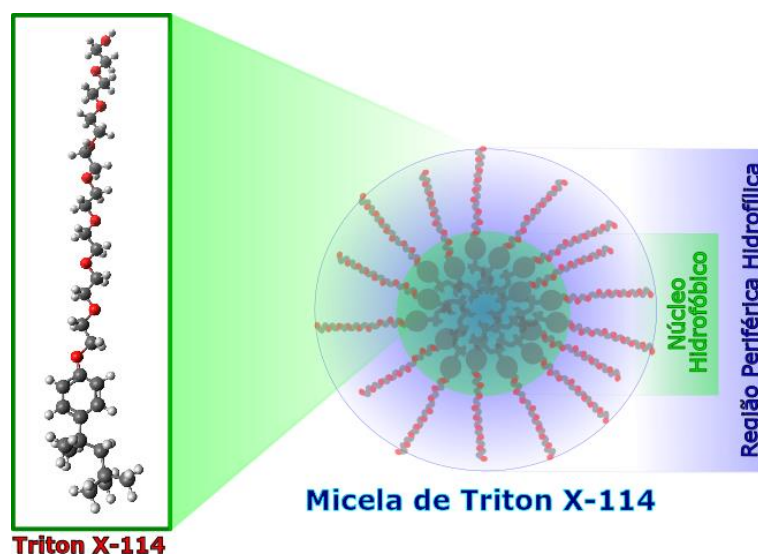
Classificação	Nomenclatura	Formula química
Catiônico	Brometo de dodecil trimetilamônio (DTAB)	
Aniônico	Dodecil sulfato de sódio (SDS)	
Não-iônico	Éter hexadecil (20) - Polioxietilênico (Brij 58®)	
Anfótero	Betaína	

Fonte: Do autor

Os surfactantes alteram as propriedades interfaciais de misturas e soluções, gerando fenômenos macroscópicos como a formação de espuma, a molhabilidade, a emulsificação, a dispersão, a adesão, a solubilização, a viscosidade e a detergência (processo mais complexo onde várias destas propriedades ocorrem juntas).³⁵

Os monômeros de surfactantes em meio aquoso, acima de uma determinada concentração, a concentração micelar crítica (cmc), formam micelas e outros agregados, nos quais a porção hidrofóbica das moléculas fica orientada para o interior da micela enquanto os grupos hidrofílicos ficam na parte externa da micela em contato com a solução³⁶ (Figura 1.9).

Figura 1.9 – Micela Triton X-114.



Fonte: Do autor

A dissolução de um surfactante em água provoca o surgimento de interações desfavoráveis entre a cauda pouco polar e o solvente polar, devido à tensão interfacial água-cadeia carbônica. Dessa forma, os monômeros tendem a se adsorver nas interfaces (líquido-vapor, líquido-sólido ou líquido-líquido), reduzindo a energia livre do sistema.^{37,38}

Outra forma de explicar este fenômeno é que, as moléculas de solvente localizadas nas superfícies apresentam maior energia do que as moléculas similares localizadas no interior do líquido, devido ao fato de que a densidade de interações entre as moléculas na superfície é menor do que no interior da fase líquida. Assim, do ponto de vista termodinâmico, é menos favorável a presença de moléculas nestas interfaces e a presença de moléculas de surfactante nestas regiões, substituindo moléculas de água, o que leva a redução da tensão superficial ou interfacial.³⁹

Vários modelos têm sido usados no tratamento termodinâmico da micelização. Os modelos da *separação de fase* e da lei de *ação das massas* são os mais simples e os mais frequentemente usados.⁴⁰⁻⁴³

O modelo mais simples é modelo da *separação de fase*, considerada a formação da micela como se fosse 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 separada. Acima da cmc existe um equilíbrio de fases entre moléculas de surfactantes em solução e a fase micelar. 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 .

Consideremos um surfactante aniônico, no qual n ânions do surfactante, S^- e n contra-íons M^+ , associam-se para formar uma micela, S_n , em um equilíbrio dinâmico:



Considerando que o potencial químico é igual para ambas as fases, μ_1 é o potencial químico por mol de surfactante dissociado. Quando as fases monoméricas e micelares estão em equilíbrio, o potencial químico padrão para o surfactante em seu estado micelar, é dada por,

$$\mu_m^0 = \mu_1 + RT \ln \alpha_1 \quad (16)$$

Onde, μ_m^0 é o potencial químico padrão do monômero em solução e α_1 sua atividade, que é igual a $f_1 x_1$, onde f_1 é o coeficiente de atividade e x_1 é a fração molar do monômero. Se ΔG_m^0 é a energia livre padrão para a transferência de um mol de monômero da solução para a fase micelar, e considerando que f_1 é aproximadamente 1, tem-se:

$$\begin{aligned} \Delta G_m^0 &= \mu_m - \mu_1 \\ &= RT \ln \alpha_1 \\ &= RT \ln x_1 \end{aligned} \quad (18a)$$

Para surfactantes iônicos, também precisa ser considerado a transferência de $(1-a)$ moles de contra-íon da solução para a fase micelar.⁴⁴ Assim, a Equação 14a toma a forma,

$$\Delta G_m^0 = RT \ln x_1 + (1-a)RT \ln x_c \quad (18b)$$

Sabe-se que a concentração de contra-íon é igual a concentração de monômeros de surfactantes, que a concentração de surfactante na forma monomérica na presença de micelas é

constante e igual ao valor da cmc. Para surfactantes não iônicos a energia livre de micelização será:⁴⁴

$$\Delta G_m^o = RT \ln \chi cmc \quad (19)$$

Onde χcmc é a cmc expressa como uma fração molar, e é definida por:

$$\chi cmc = \frac{ns}{ns+nH_2O} \quad (20)$$

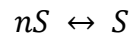
Pode-se determinar a entalpia e a entropia pelas equações:

$$\Delta H_m^o = -RT \frac{\delta}{\delta T} \ln \alpha cmc \quad (21)$$

$$\Delta S_m^o = (\Delta H_m^o - \Delta G_m^o)/T \quad (22)$$

Já o modelo de **ação das massas** considera que as moléculas e micelas de surfactantes ou íons estão em um equilíbrio de associação-dissociação, e uma simples constante de equilíbrio é usada para tratar o processo de micelização. A cmc é meramente a concentração acima da qual ocorre a formação de micelas. A solubilidade do surfactante como um todo não terá grandes variações com a temperatura até alcançar a região de cmc.

Em surfactantes não iônicos onde os efeitos de cargas estão ausentes, este equilíbrio é representado pela equação,



e a constante de equilíbrio Km é dada por $Km = \frac{[S]}{[S]^n}$. A energia livre de micelização, por monômero é dada por:

$$\Delta G_m^o = -RT \ln Km \quad (23)$$

$$\Delta G_m^o = \frac{RT}{n} \ln [S] - RT \ln [S]$$

Para surfactantes iônicos, em que as micelas são formadas por n íons de surfactantes, (onde n-p cargas estão associadas com contra-íons, com uma carga residual p e um grau de dissociação p/n), que leva à seguinte equação para a energia livre de micelização [44]:

$$\Delta G_m^o = (2 - \frac{p}{n}) RT \ln cmc \quad (24)$$

A entalpia padrão de micelização por mol de monômeros é dada por:

$$\Delta H_m^o = (2 - \alpha) \frac{R (\delta \ln cmc)_p}{\delta (1/T)} \quad (25)$$

Tanto o modelo de ação das massas, como o da separação de fases tem suas limitações, mas são representações úteis de processos micelares e podem ser usados para derivar equações que relacionam a cmc com vários fatores que a determinam. Há ainda outros modelos que descrevem o processo de micelização, como o modelo do múltiplo equilíbrio e modelos eletrostáticos usados para descrever o comportamento de surfactantes iônicos. Estes são menos utilizados.^{44,45}

O contínuo aumento da concentração de surfactante promove a formação de agregados, diminuindo a energia livre de Gibbs do sistema devido à desidratação das cadeias hidrocarbônicas, sendo este mecanismo de natureza entrópica chamado de efeito hidrofóbico, na Figura 1.10 mostra todo o processo de micelização do surfactante Triton X-114.^{37,46}

Uma explicação para o efeito hidrofóbico foi apresentada por Frank e Evans em 1945,⁴⁷ eles atribuíram a redução de entropia, que ocorre ao solubilizar um composto apolar em água, à maior estruturação das ligações de hidrogênio da água ao redor do soluto, a fim de evitar a quebra de ligações. Eles usaram o termo iceberg, para descrever a estrutura da água ao redor do soluto, uma vez que essa estaria mais organizada, em analogia com o que ocorre ao solidificar. Desse modo, ao invés de interpretar o efeito hidrofóbico como resultante da atração entre moléculas de óleo, Frank e Evans o interpretaram como resultante da aversão da água pelas moléculas de óleo.

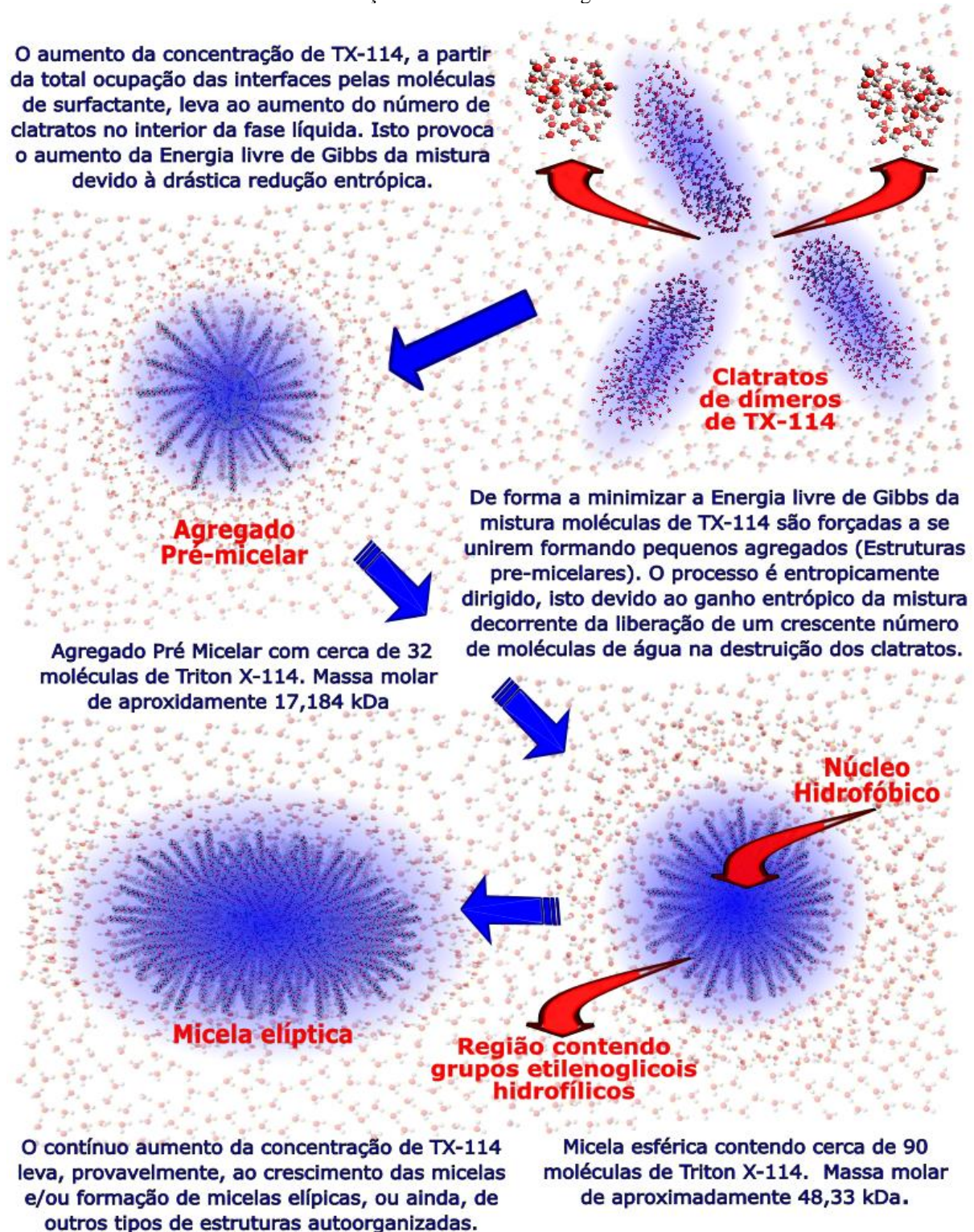
Medos e Bester-Rogac (2017) estudaram por titulação calorimétrica a agregação de carboxilatos de diferentes tamanhos formando micelas e concluíram que a entalpia é desfavorável à agregação em temperaturas inferiores a aproximadamente 320 K, sendo a força motriz para a agregação, portanto, entrópica, mas em temperaturas superiores, a micelização se torna exotérmica. A entropia desfavorável é a principal causa do efeito hidrofóbico.⁴⁸

Atualmente entende-se que o efeito hidrofóbico está diretamente relacionado com mudanças na rede de ligações de hidrogênio da água na presença de um soluto. Próximo a um soluto muito volumoso, a quebra de ligações de hidrogênio é inevitável e há uma perda entálpica.

A Figura 1.11 demonstra a formação do clatrato quando adicionado uma molécula de Triton X-114 em água e a disposição das moléculas de água. Quando duas moléculas ou grupos hidrofóbicos no caso duas moléculas do surfactante Triton X-114 entram em contato em solução, o número de moléculas de água em contato com os mesmos diminui, resultando então

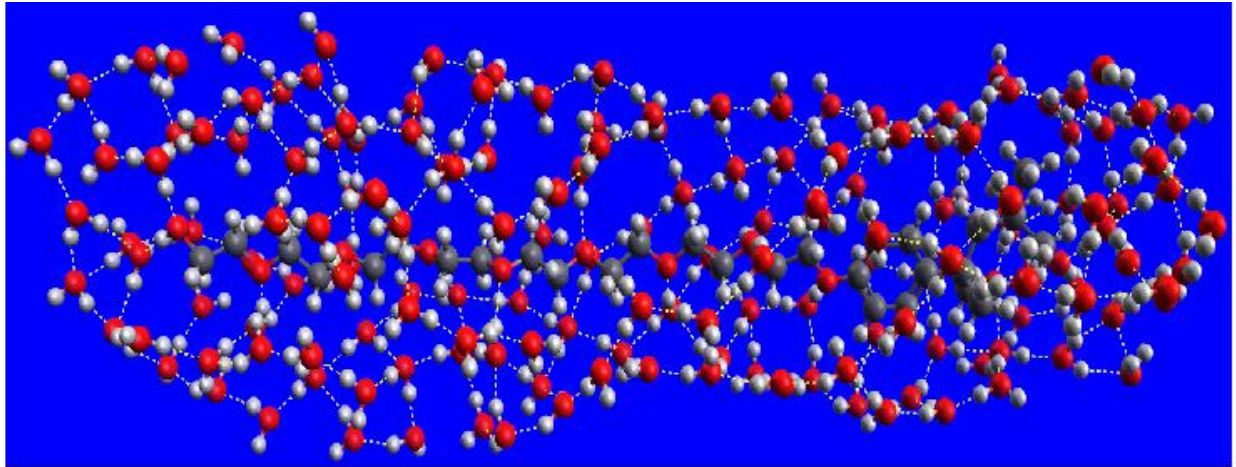
em ganho de entropia e diminuição de energia livre de Gibbs, efeito produzido pela liberação das moléculas de água antes presas na estrutura de clatratos, solubilizando as moléculas de Triton X-114.

Figura 1.10 – Forças motrizes envolvidas no processo de micelização. O aumento da concentração de Triton X-114 na mistura leva à formação de estruturas auto-organizadas.



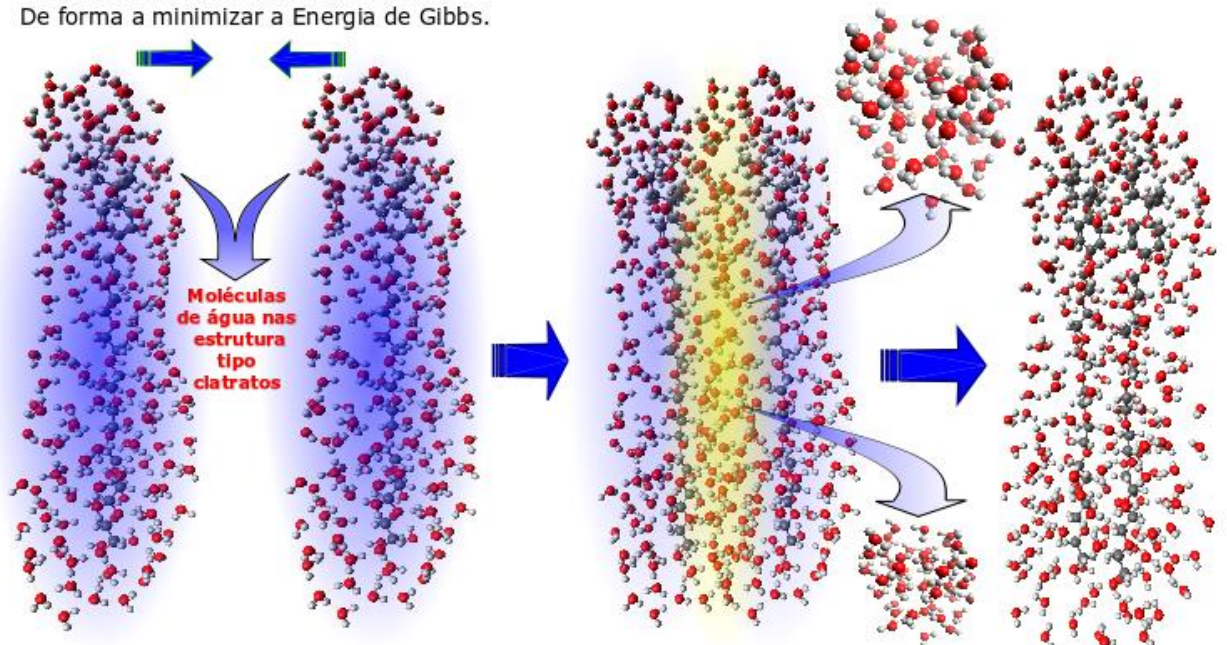
Fonte: Do autor

Figura 1.11 – Processo de hidratação e dimerização da molécula de Triton X-114.



Representação de uma estrutura tipo clatrato contendo 168 moléculas de água ao redor de uma molécula de Triton X-114. A rede de ligações de hidrogênio ente as moléculas de água aparece em amarelo e permite visualizar uma espécie de gaiola formadas por essas moléculas no processo de hidratação de uma única molécula do surfactante.

Com o aumento da concentração de TX-114 na solução aumenta-se o número de clatratos que reduzem drasticamente a entropia da solução. De forma a minimizar a Energia de Gibbs.



Dois Clatratos com 168 moléculas de água cada.

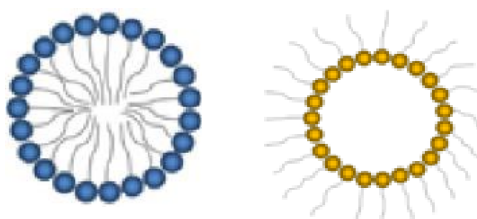
Dois clatratos com 336 águas e duas moléculas de TX-114 no total. Destaque, em amarelo, para as águas entre as duas estruturas clatratos.

A perda de cerca de 111 águas força a interação entre as moléculas de TX-114 e leva à minimização da energia livre de Gibbs da mistura por causa do ganho entrópico produzido pela liberação das moléculas de água antes presas nas estruturas dos 2 clatratos.

Analiticamente a formação destes agregados dentro da solução leva a uma variação de suas propriedades. Em soluções diluídas, os surfactantes atuam como eletrólitos fortes, porém quando a concentração de surfactante é aumentada, o início da formação do agregado é detectado através da variação brusca da propriedade analisada, pois as micelas atuam como eletrólitos fracos. Assim a cmc pode ser determinada através de mudanças bruscas no comportamento de algumas de suas propriedades físicas em solução, tais como: espalhamento de luz, viscosidade, condutividade elétrica, tensão superficial, pressão osmótica e capacidade de solubilização de solutos.²⁴

A natureza do solvente em que os surfactantes estão presentes caracteriza a existência de dois tipos de micelas: as micelas diretas e as micelas inversas (Figura 1.12). As micelas diretas se formam na presença de solventes polares, onde a parte hidrofílica do surfactante fica orientada para o meio polar, enquanto que a cauda hidrofóbica se agrupa no interior da micela, evitando o contato com o diluente. As cadeias apolares do surfactante se arranjam dinamicamente em configurações de máxima entropia, não permanecendo esticadas no interior da micela. Em relação às micelas reversas, estas apresentam comportamento inverso, ou seja, são formadas em solventes de baixa polaridade com as cabeças hidrofílicas voltadas para o centro, formando centros aquosos capazes de solubilizar biomoléculas, e cercadas pelas caudas hidrofóbicas.⁴⁹

Figura 1.12 - Micela direta e Micela inversa.



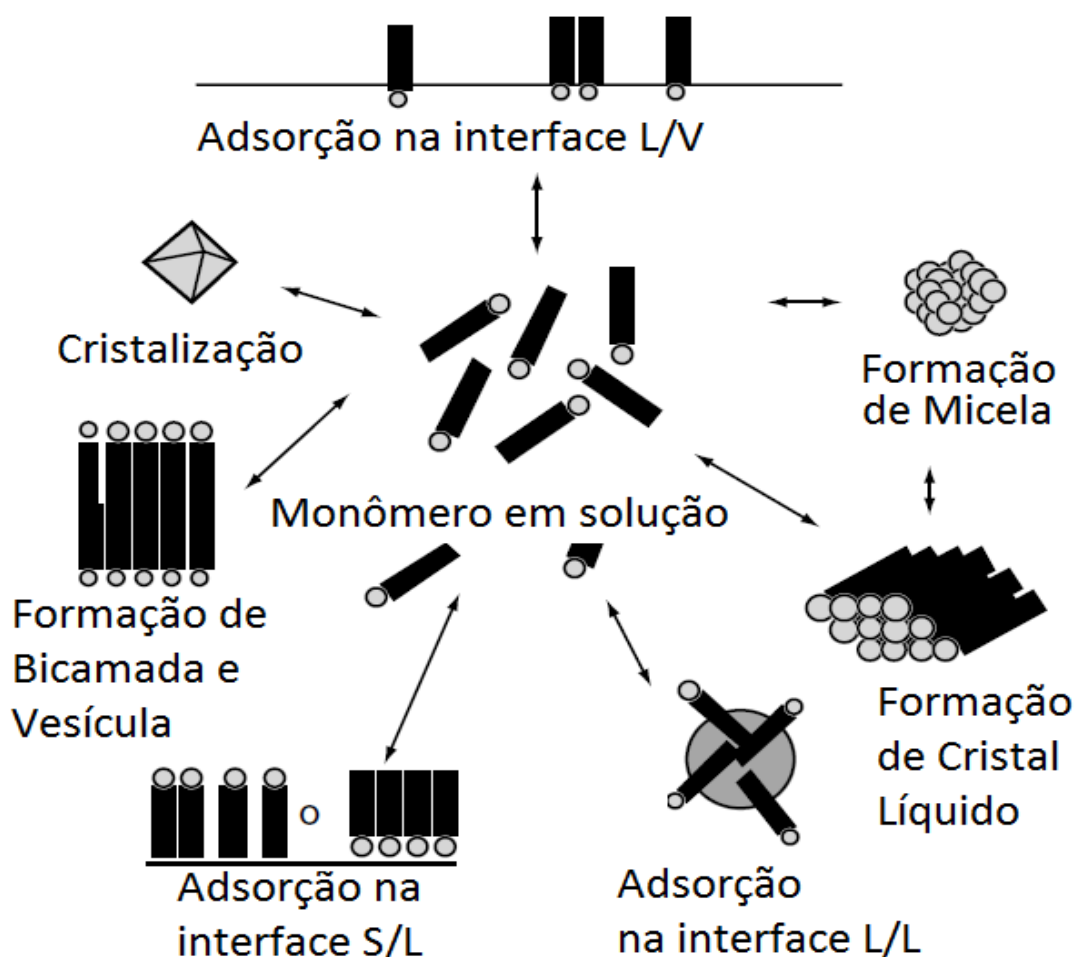
Fonte: Do autor

O balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) é uma das propriedades usadas para caracterização de surfactantes. Esse número indica, relativamente, a sua tendência de solubilização em óleo ou água e, assim, a tendência de formar emulsões água-óleo ou óleo-água. Baixos valores de HLB são observados em surfactantes que tendem a ser mais solúveis em óleo e formar emulsões água-óleo. Onde HLB entre 0 a 20 para surfactantes não-iônicos e $HLB > 20$ para surfactantes iônicos.⁵⁰

Uma característica importante dos sistemas micelares é a existência de um equilíbrio dinâmico entre o agregado e moléculas livres de surfactante em solução. Portanto, a micela não é uma estrutura estática. Uma vez que a estrutura da micela não é estática, sua forma e seu

tamanho variam com o tipo de surfactante utilizado, além da temperatura, concentração e composição do surfactante, força iônica e pH, podendo adquirir configuração esférica, cilíndrica ou planar (discos ou bicamadas) (Figura 1.13).³⁹

Figura 1.13 - Representação esquemática dos agregados formados por surfactantes.



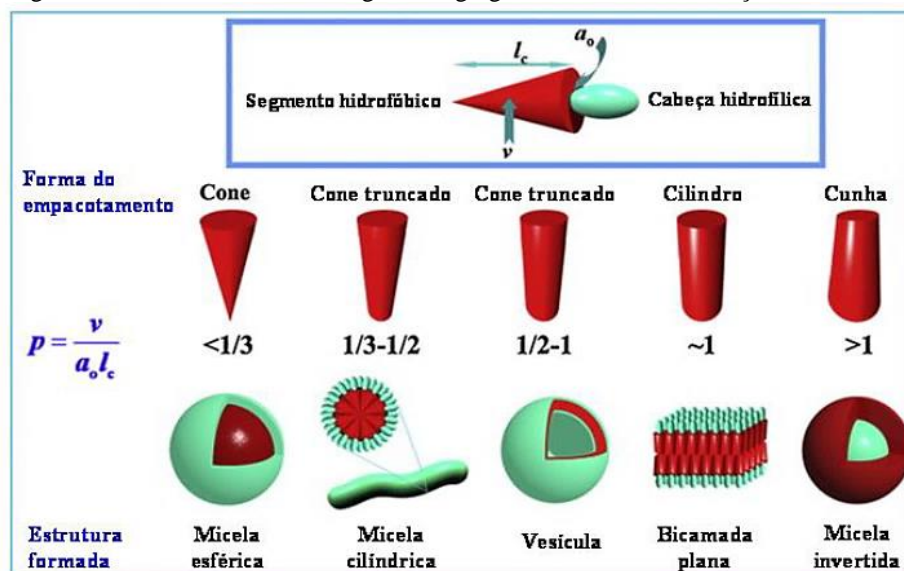
Fonte: Baseado em Myers de Galgano, 2012.

A associação de surfactantes em solução aquosa é amplamente explicada usando o conceito de parâmetro crítico de empacotamento (do inglês, *Critical Packing Parameter, CPP*) equação 4. Moléculas com valor de CPP menor que $\frac{1}{3}$ apresentam forte tendência a formar micelas esféricas (Figura 1.14), enquanto que moléculas com $\frac{1}{3} < CPP < \frac{1}{2}$ formam estruturas cilíndricas ou em forma de bastão (Microemulsões óleo em água). Se $\frac{1}{2} < CPP < 1$, as moléculas de surfactante formam estruturas lamelares, bicamadas flexíveis ou vesículas e quando os valores de $CPP \sim 1$ ocorre a formação de bicamadas planas. Se $CPP > 1$, ocorrerá a formação de micelas reversas ou microemulsões água em óleo.^{51,52}

$$CPP = \frac{\left(\frac{V}{l}\right)}{a} \quad (24)$$

O parâmetro de empacotamento é calculado com base nos parâmetros geométricos dos monômeros, sendo V - volume da cadeia apolar (região hidrofóbica); l - comprimento efetivo da cadeia e a - área da cabeça hidrofílica. Enquanto este conceito é conveniente para explicar um comportamento de agregação, ele tem pouco poder de predição, pois a pode assumir valores extensamente diferentes dependendo das condições de solução tais como temperatura, concentração salina, aditivos presentes.

Figura 1.14 – Diferentes morfologias de agregados formados em função do CPP.



Fonte: Adaptado de Lindman *et al.*, 2003.

Filipa A. Vicente, *et al.* (2017) avaliou como a adição de líquidos iônicos em soluções de surfactantes podem modificar o CPP e o ponto nuvem. No estudo utilizaram Tergitol 15 (surfactante não-iônico) como surfactante e diferentes tipos de líquidos iônicos (LI). Concluíram que LI com um caráter hidrofílico e parâmetro de empacotamento crítico inferior ($CPP < 1/2$), quando misturados ao surfactante, levam à formação de micelas menores e, concomitantemente, aumentam os pontos de turvação; em contraste, LI de caráter mais hidrofóbico e maior CPP ($CPP \geq 1$) induzem a um significativo crescimento micelar e uma diminuição nos pontos de nuvens.⁵⁴

A formação dos agregados pode ser discutida em termos do Modelo de Separação de Fases, no qual considera-se este fenômeno como uma separação de fase, com os agregados

sendo uma pseudo-fase separada e a cmc a concentração de saturação de surfactantes (concentração de surfactante não-agregado). A adição de surfactante acima da cmc afeta apenas a quantidade de agregados formados, sem alterar a concentração no meio.³⁹

Os copolímeros como o L35, utilizado no estudo de hidrofobicidade da partição do extrato de urucum, também se auto-organizam formando micelas. O copolímero é uma macromolécula formada por mais de um tipo de monômero ou repetições distintas que se juntam por meio de ligações químicas, sendo que um copolímero em bloco é formado pela união de dois ou mais, por meio de interações químicas, onde um bloco é uma porção da macromolécula que contém várias unidades monoméricas iguais. Cada uma dessas macromoléculas será denominada de unímero, os quais podem apresentar diferentes estruturas dependendo da disposição dos blocos. Os SABs formado por copolímeros tribloco são excelentes opções na extração de soluto hidrofóbico, pois este tipo de copolímero, em solução aquosa e sob condições críticas de temperatura e de concentração, passa por um processo de agregação formando micelas com um núcleo dominado por unidades hidrofóbicas de poli(óxido de propileno), rodeado por uma coroa de unidades hidrofílicas de poli(etileno glicol).⁵⁵

O CTAB, Brometo de cetiltrimetilamônio ou Cetrimida (do inglês *cetyltrimethylammonium bromide*) é um surfactante catiônico bactericida. Sua atividade é neutralizada por surfactantes aniônicos, como o SDS. É usado para determinação do peso molecular de proteínas em sistemas eletroforéticos e para determinação da concentração micelar crítica (cmc) de surfactantes. Possui uma massa molecular de 364,45 g, cmc de $\sim 1\text{m mol L}^{-1}$. Utilizamos o CTAB na partição do extrato de urucum, como agente modulador da partição por ter carga positiva e ser capaz de interagir com o corante estudado.⁵⁶

Dodecil sulfato de sódio (SDS, do inglês *sodium dodecyl sulfate*) ou lauril sulfato de sódio (SLS, do inglês *sodium lauryl sulfate*) é um surfactante aniônico, utilizado nos testes para determinar o melhor agente modulador na partição do extrato de urucum. O SDS é utilizado na lise celular para extração de DNA e também no desenovelamento de proteínas na técnica de eletroforese SDS-PAGE (separação proteica em gel de poliacrilamida). O composto age rompendo as ligações não-covalentes das proteínas, causando sua desnaturação, deste modo a separação por gel de poliacrilamida não é influenciado pelas formas estruturais distintas entre as proteínas. É o composto surfactante aniônico mais pesquisado. Possui massa molar 288,38 g mol^{-1} e cmc $2,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.⁵⁷

1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção um levantamento bibliográfico sobre Sistemas Aquosos Bifásicos, tema central do trabalho, será apresentado. Aspectos relacionados à definição, descoberta e evolução histórica do desenvolvimento de pesquisa envolvendo esta temática, destacando os sistemas aquosos bifásicos micelares aplicados a partição de corantes, em especial os corantes da semente de urucum.

1.3.1 Sistemas aquosos bifásicos

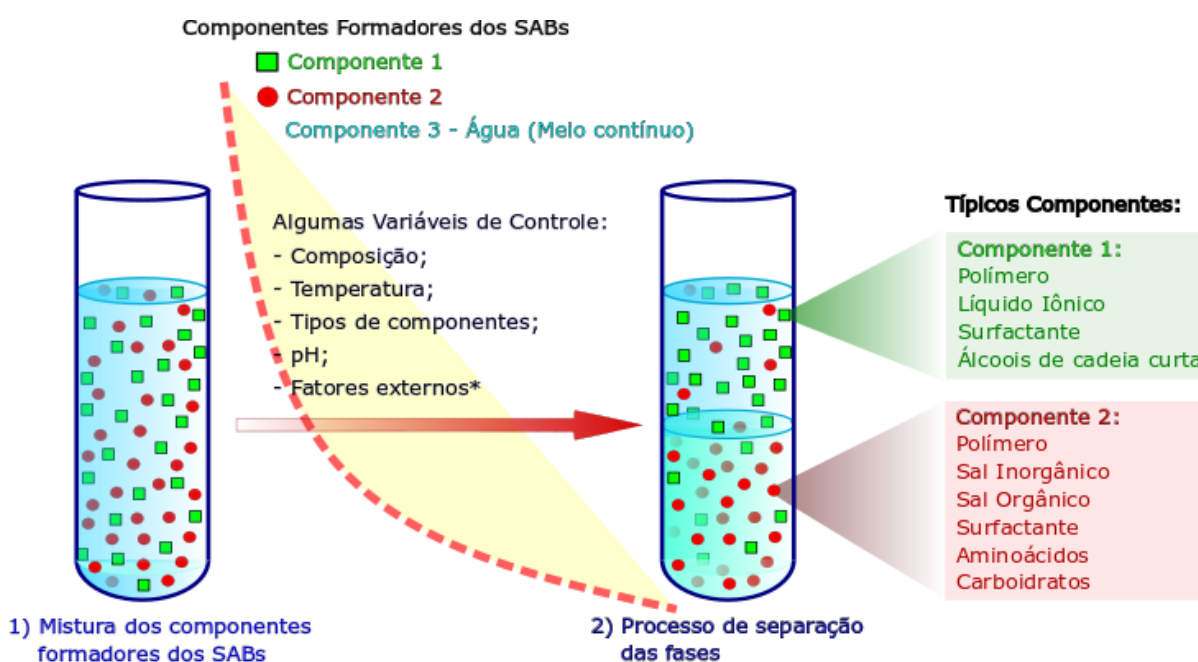
Os SAB foram descobertos no fim do século XIX pelo microbiologista Beijerinck, quando o mesmo observou na preparação de meios de culturas, que da mistura de soluções de gelatina e ágar ou gelatina e amido solúvel em determinadas faixas de temperatura e composição, havia a formação de misturas turvas que após o repouso separavam-se espontaneamente em duas fases. Beijerinck descobriu que a fase mais densa era enriquecida com ágar ou amido e a fase superior em gelatina, sendo a água o componente majoritário em ambas as fases.⁵⁸ Na época não foi dada importância ao fenômeno, relatado apenas como mera curiosidade. Posteriormente, em 1928, Ostwald e seu orientado de doutorado Hertel, conduziram diversos experimentos com misturas de diferentes tipos de amido e verificaram que a segregação de fases ocorria em todos os casos. Em 1938, Dobry e Kawenok, voltaram a realizar experimentos em que misturaram 38 tipos de polímeros com 9 diferentes tipos de solventes e verificaram que apenas quatro combinações não apresentaram equilíbrio líquido-líquido e concluíram que em misturas de pares de macromoléculas e solventes a segregação de fases é um fenômeno mais comum do que a formação de um sistema homogêneo.⁵⁹

Porém, foi somente nos anos de 1950 que os trabalhos de Albertsson deram ao SAB a importância no âmbito de sua aplicação para processos de partição e extração de biomoléculas, devido aos SABs serem constituídos majoritariamente por água.⁶⁰ Mais tarde, precisamente nos anos de 1980, estudos dos SABs mostraram também a sua eficiência para uso na extração não só de compostos orgânicos e inorgânicos, como também de íons. Nestes casos, a extração por meio de SAB é adequada para substituir a extração convencional por solventes orgânicos. Pelo fato do solvente ser a água, são ambientalmente seguros e permitem a separação de partículas sensíveis à desnaturação em outros solventes.^{61,62}

Várias combinações de substâncias químicas são capazes de originar os SAB, como mostra a Figura 1.15. Estas combinações foram descobertas experimentalmente por tentativa e

erro como com Beijerinck.⁶² Hoje em dia temos um maior conhecimento, por exemplo, de como alguns solutos afetam a estrutura da água e com isso podemos inferir se o processo irá ou não acontecer antes mesmo de ir para o laboratório. Existe toda uma área de design de polímeros em que se pode construir polímeros através de um planejamento prévio (o mesmo com Líquidos iônicos e surfactantes).

Figura 1.15 – Alguns dos principais tipos de SABs descritos na literatura obtidos através da combinação de dois diferentes componentes em meio aquoso.



Fonte: Do autor

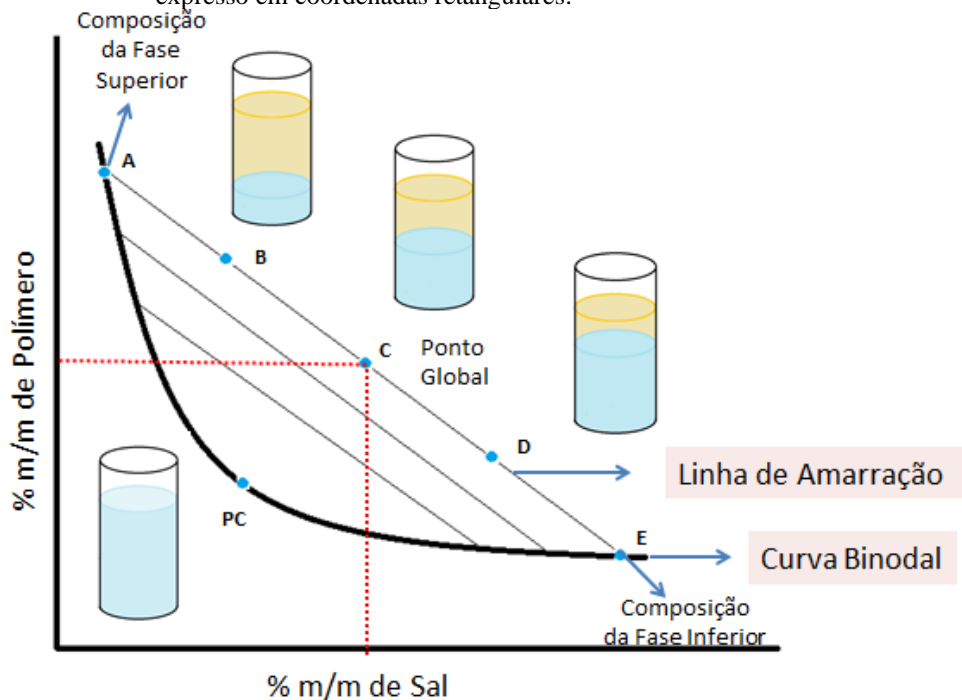
A formação dos SABs envolve um complexo equilíbrio líquido-líquido que é ditado predominantemente por aspectos relacionados aos efeitos entrópicos e entálpicos de hidratação dos diferentes componentes formadores do sistema, sob determinadas condições de controle. São inúmeros os fatores que podem afetar o equilíbrio das fases em um SAB, por exemplo, temperatura, composição, pH, massa molar de um constituinte, adição de eletrólitos.³ A temperatura pode afetar diretamente a distribuição dos constituintes entre as fases em equilíbrio do sistema, pois dependendo do sistema pode levar a um deslocamento da curva binodal na direção de concentrações mais altas ou menores, afetando o comprimento da linha de amarração e o tamanho da região bifásica.^{3,63}

O nível de controle requerido para a implementação de novos métodos de separação utilizando SABs em substituição aos tradicionais solventes orgânicos requer muito esforço científico. As naturezas distintas dos componentes formadores permitem uma miríade de

combinações que resultam em SABs com diferentes características físico-químicas que se mostram mais ou menos apropriados para diferentes aplicações de separação. Outro fator importante é estudar o efeito do aumento da massa molar do polímero, esse pode promover grandes variações na região bifásica. 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.⁶⁴

Para a utilização dos SABs é necessário o conhecimento do comportamento das fases nos sistemas, representado pelos diagramas de fases. Esses diagramas correspondem aos esforços de representar através de figuras geométricas regiões de comportamento que um dado material (mistura ou não) apresenta sobre determinadas situações de controle de temperatura, pressão e/ou composição de mistura, como mostrado na Figura 1.16. Diagramas de fase são extensivamente representados na literatura tanto em formato retangular, como na forma triangular.³

Figura 1.16 - Representação esquemática de um diagrama de fase para sistemas aquosos bifásicos, expresso em coordenadas retangulares.



Fonte: Do autor

A revisão da literatura envolvendo o equilíbrio líquido-líquido em SABs mostra que os diagramas de fase nesta área são principalmente obtidos através de métodos tradicionais da química analítica aplicados na quantificação dos componentes em cada fase envolvida no equilíbrio.⁷

Convencionalmente, os componentes da mistura são representados nos eixos do diagrama. Nos diagramas retangulares dois dos componentes da mistura são representados e a quantidade de água é calculada por diferença. Na apresentação ternária todos componentes do sistema são representados no diagrama, assim a concentração é lida diretamente, portanto os diagramas bidimensionais (retangulares ou ternários), expressam a dependência entre duas ou três variáveis em condições que as demais fiquem determinadas.⁶⁴

O uso da chamada regra das fases de Gibbs é essencial neste tipo de estudo. Esta regra informa sobre o número mínimo de variáveis intensivas independentes (chamado de grau de liberdade ou variância) necessárias para especificar completamente 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.⁶⁵ A equação 25 apresenta a regra de Gibbs na sua forma matemática.

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

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 as variáveis intensivas, temperatura e pressão que também são importantes para a descrição do comportamento de fases.⁶⁵ Portanto, através do uso dessa regra é possível estabelecer às variáveis que devem ser correlacionadas para construção do diagrama de fases. A caracterização do comportamento de fases em SABs é feita através de diagramas de fase expresso como dependência das composições de mistura em condições de pressão e temperatura controlada.⁷ Isto porque a regra das fases estabelece que para sistemas contendo 3 componentes e situações que envolvem uma ou duas fases em equilíbrio o grau de liberdade é de 4 e 3, respectivamente. No caso em que são necessárias 4 variáveis intensivas para caracterizar completamente o comportamento termodinâmico de uma fase contendo 3 componentes, as escolhas sobre as variáveis independentes de controle a serem utilizadas recaem na temperatura, pressão e 2 variáveis de composição.^{64,65}

A curva binodal apresentada no diagrama, mostra a separação das composições de mistura que geram sistemas homogêneos e que levam à formação de sistemas heterogêneos (duas fases líquidas em equilíbrio), portanto informa sobre a transição de sistemas monofásico para bifásico. Assim a região acima da curva binodal é chamada de bifásica e a abaixo, monofásica. A curva binodal é representada por uma linha que conecta vários pontos de composição de misturas homogêneas.⁶³

As linhas de amarração (LA) são segmentos de reta que passam pelo ponto global e ligam os pontos que representam a composição das fases em equilíbrio. A linha de amarração informa exatamente sobre a relação entre as variáveis intensivas de composição que cada fase estabelece no equilíbrio, a partir de uma composição de mistura global.³ Deslocamentos da posição do ponto global sobre a linha de amarração, embora afetem a composição total de mistura, não causam mudanças na composição de mistura das fases inferior e superior, respectivamente. Isso só é possível se considerarmos que, embora as variáveis intensivas (composição de mistura, densidade, etc) das fases não se alterem, as variáveis extensivas mudam. Essa mudança possibilita a aplicação controlada desse equilíbrio líquido-líquido em processos de pré-concentração de analitos.⁶⁶

A comprimento da linha de amarração (CLA) é determinada considerando, simplesmente a relação pitagórica para o triângulo retângulo, sendo calculado por:

$$CLA = \sqrt{[w_1^{FS} - w_1^{FI}]^2 + [w_2^{FS} - w_2^{FI}]^2} \quad (26)$$

em que $w_1^{FS} - w_1^{FI}$ correspondem à diferença de concentração nas fases superior e inferior expressa em porcentagem da fração mássica respectivamente. A CLA permite inferir sobre quais propriedades intensivas das fases superior e inferior em equilíbrio.⁶⁷

Outra característica dos diagramas de fases é a inclinação da linha de amarração (ILA). A ILA é uma medida de como a composição das fases pode variar com a alteração de uma propriedade físico-química, como, por exemplo, a temperatura e a massa molar.⁶⁷ Para uma elevada ILA, por exemplo, menores quantidades do componente expresso no eixo das abcissas é capaz de induzir separação de fases para uma dada quantidade do componente expresso no eixo das ordenadas. O valor da inclinação pode ser calculado por:

$$ILA = \frac{w_1^{FS} - w_1^{FI}}{w_2^{FS} - w_2^{FI}} \quad (27)$$

em que $w_1^{FS} - w_1^{FI}$ correspondem à diferença de concentração nas fases superior e inferior expressa em porcentagem da fração mássica respectivamente.³

A distribuição de compostos entre as duas fases aquosas dos SABs é caracterizada por um parâmetro denominado razão de distribuição K_p , definido como:

$$K_p = \frac{a_{FS}}{a_{FI}} \approx \frac{W_{FS}}{W_{FI}} \quad (28)$$

Onde a_{PS} , a_{PI} , W_{PS} e W_{PI} são as atividades e as concentrações dos componentes do sistema nas fases superiores e inferiores, em regime de diluição, respectivamente.⁶⁶

Utiliza-se modelos termodinâmicos para tratar dados do equilíbrio. Vários modelos específicos aplicados ao tratamento de misturas binárias têm sido modificados para tratar dados de experimentos relacionados aos diferentes tipos de SABs. Sendo que as primeiras abordagens desenvolvidas para este propósito incluem a equação de Othmer-Tobias e a equação de Bancroft. As equações de Othmer-Tobias e de Bancroft realizam uma correlação teórica dos dados experimentais de equilíbrio (linha de amarração) através de expressões paramétricas dependentes de dois parâmetros ajustáveis por SABs. Essas expressões permitem, avaliar o balanço de massa expresso pelos dados experimentais, também permitem prever outras linhas de amarração que não foram determinadas experimentalmente e com isso amplia o conhecimento sobre o comportamento de fases dos SABs avaliados.

A termodinâmica aplicada a SABs, primeiramente, deve-se obter uma expressão para a variação da energia de Gibbs molar padrão de mistura ($\Delta_{mis}G^0$)³ a partir da análise do processo de mistura. De fato, como o processo de mistura é realizado sob condições de pressão e temperatura controlados esse é o parâmetro de energia a ser usado para representar o comportamento de fases do sistema.

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 puro (G_i^*):

$$\Delta_{mis}G = G_{sol} - \sum_{i=3}^3 G_i \quad (29)$$

Assim, neste trabalho, para os constituintes formadores do SAB a Equação 29 pode ser reescrita de acordo com a Equação:

$$\Delta_{mis}G = G_{sol} - (G_{PEG}^* + G_{Triton}^* + G_{\acute{a}gua}^*) \quad (30)$$

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 também interferem na variação da energia livre de mistura. Assim deve ser incluído um termo a esta equação referente ao equilíbrio material, chamado potencial químico, representado pela letra grega μ .⁶⁸ Como SABs são obtidos à pressão e temperatura constante, a energia livre de mistura passa a ser expressa

apenas em função do equilíbrio material, de acordo com a Equação 33, que exemplifica diferentes formas de equacionar esse fenômeno.⁶⁸

$$\Delta_{mis}G = \mu \Delta n \quad (31)$$

$$\Delta_{mis}G = G_{sol} - \sum_{i=3}^3 G_i^* = \sum_{i=3}^3 n_i \mu_i - \sum_{i=3}^3 n_i \mu_i^* \quad (32)$$

$$\Delta_{mis}G = n_i \sum_{i=3}^3 (\mu_i - \mu_i^*) = \quad (33)$$

$$n_{PEG} (\mu_{PEG} - \mu_{PEG}^*) + n_{triton} (\mu_{triton} - \mu_{triton}^*) + n_{\acute{a}gua} (\mu_{\acute{a}gua} - \mu_{\acute{a}gua}^*)$$

onde n_i é a quantidade de substância e μ_i e μ_i^* são os potenciais químicos de cada componente em solução e puro, respectivamente.

Como o potencial químico de um componente na solução pode ser expresso como função da composição de mistura ($\mu_i = \mu_i^* + RT \ln a_i$), pode-se reescrever a equação na forma,

$$\Delta_{mis}G = nRT (\sum_i^3 x_i \ln a_i) \quad (34)$$

Ou ainda, considerando o termo de atividade a_i , expresso como $a_i = \gamma_i x_i$ tem-se,

$$\Delta_{mis}G = nRT (\sum_i^3 x_i \ln x_i) + nRT (\sum_i^3 x_i \ln \gamma_i) \quad (35)$$

O primeiro termo à direita da equação 35 faz referência ao comportamento de mistura da referência tomada (por exemplo, solução ideal ou solução diluída ideal), enquanto que o segundo termo à direita refere-se aos desvios apresentados pela solução real em relação à referência. Dada a complexidade da mistura considerada e os diferentes tipos de interações envolvidas, bem como a elevada concentração em que os componentes aparecem na mistura, é fácil perceber que a origem de toda a dificuldade de modelar o comportamento de SABs reside no segundo termo. É sobre ele que recaem os modelos que tentam correlacionar teoricamente os dados de misturas desses sistemas, como por exemplo, os modelos de coeficiente de atividade.⁶⁸

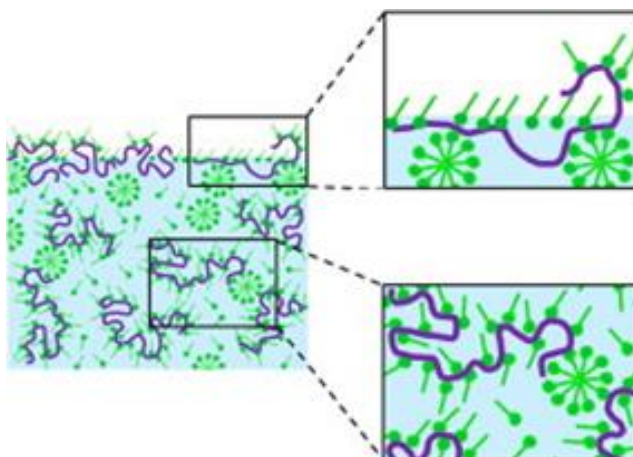
O critério termodinâmico para formação dos SABs será sempre a minimização da energia livre de Gibbs do sistema, ou seja, $\Delta_{mis}G < 0$. Dessa forma quando o sistema se encontra em apenas uma fase é porque neste estado sua energia livre é mínima. Ao ocorrerem alterações no sistema, sejam elas de origem entálpicas ou entrópicas, o sistema procurará uma

nova configuração com menor energia livre, como por exemplo a formação de duas fases em equilíbrio. Sabe-se que o termo entálpico está associado às diferentes interações que podem ocorrer na mistura, essas associadas à formação e rompimento de diferentes interações durante a troca de matéria entre as fases do SAB. Já o termo entrópico está relacionado às 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.

1.3.2 Interações polímero com surfactante

Polímeros e surfactantes, em solução aquosa, associam-se para formar complexos termodinamicamente estáveis, com propriedades físico-químicas diferentes daquelas observadas em soluções micelares. Segundo alguns autores⁶⁹⁻⁷⁰, sabemos que em soluções de polímero/surfactante, os surfactantes podem ser adsorvidos junto das cadeias do polímero. Quando o polímero e o surfactante são colocados juntos em solução, em baixas concentrações do surfactante, moléculas individuais de surfactantes começam a ser adsorvidas ao longo do polímero, e a concentração em que se inicia esse processo determina a cac (concentração de agregação crítica). Para valores intermediários de concentrações, moléculas de surfactantes se agregam próximas à cadeia de macromoléculas poliméricas. Depois da saturação das moléculas do polímero, a adição de mais surfactante promove a formação de micelas em água, em equilíbrio com a associação polímero/surfactante Figura 1.17.

Figura 1.17 - Estruturas formadas na mistura de PEG e surfactante.



Fonte: GUSMAN *et. al.*, 2016.

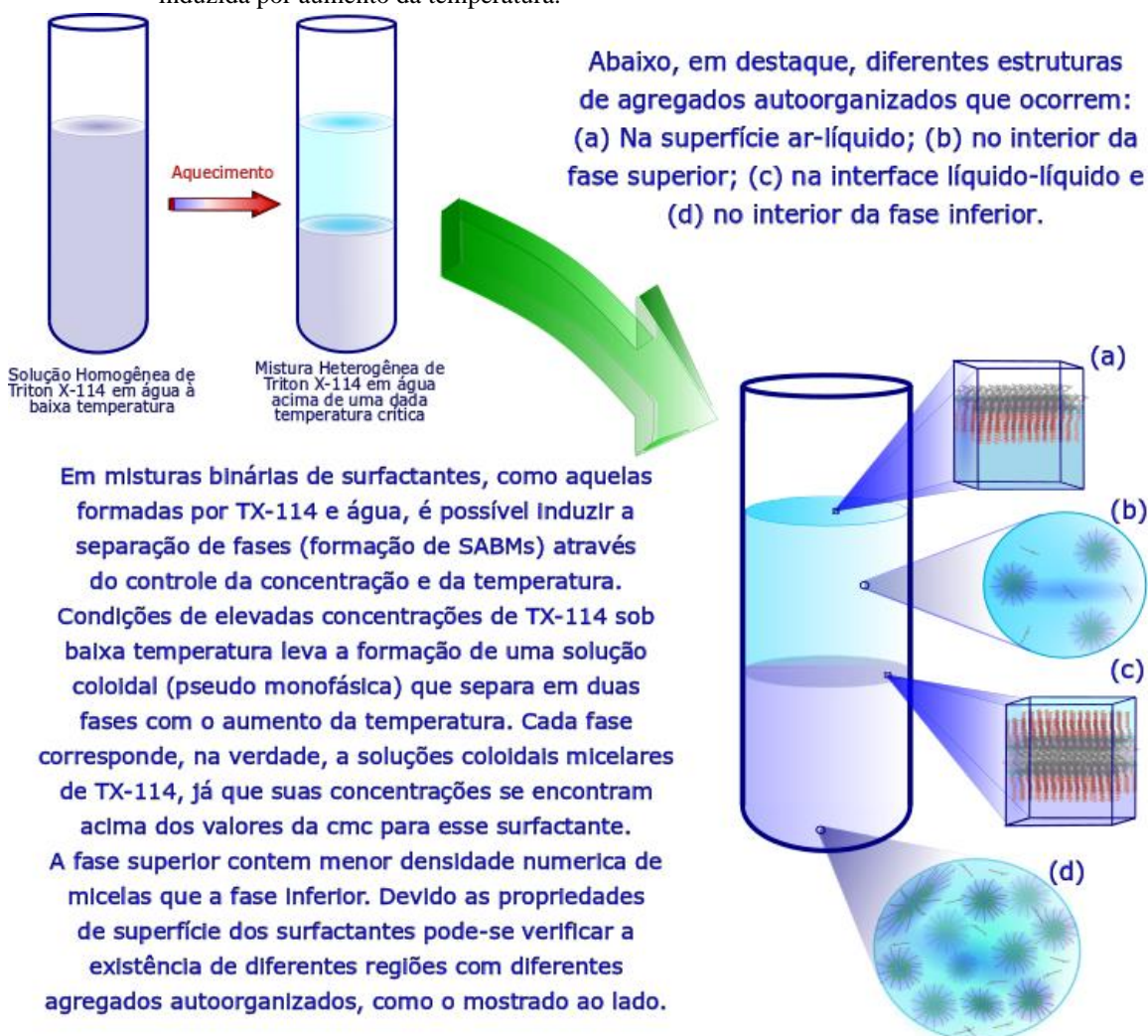
As interações de polímero com surfactante iônico são dirigidas primeiro por forças de Van Der Waals e efeito hidrofóbico, a adsorção do surfactante iônico certamente produz alterações na conformação da cadeia do polímero, expandindo seu emaranhado como resultado da repulsão entre as cabeças carregadas do surfactante iônico. Já os surfactantes aniônicos interagem mais fortemente com polímeros do que os surfactantes catiônicos, devido as cargas opostas, levando a compactação da configuração do polieletrólito.⁷²

Surfactantes não iônicos associam-se, fortemente, com polímeros e, geralmente, o fenômeno inicia em concentrações menores do que quando na ausência do polímero. A associação é vista como sendo um fenômeno induzido pelo polímero.⁷²

1.3.3 Sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM)

Dentro dos sistemas aquosos micelares (SABM) existem dois tipos, os formados somente pela mistura de um surfactante com um solvente (água), que sofrem a separação de fase com alterações da temperatura; e sistemas formados pela mistura de três componentes, surfactante + água + componente (onde o outro componente utilizado geralmente é um polímero, sal, líquido iônico), adicionado para mudar a segregação de fase do surfactante.⁷³ Os SABM se separam em duas fases aquosas, uma com maior concentração de surfactante e micelas e outra com menor concentração do surfactante (Figura 1.18). Em alguns casos esse tipo de sistema, forma fases com algum tipo de turvação e viscosidade e quando comparados a sistemas formados por polímero e sal demoram mais tempo para entrar em equilíbrio termodinâmico.

Figura 1.18 – Representação esquemática da formação de SABM em mistura binária surfactante-água induzida por aumento da temperatura.



Fonte: Do autor

Recentemente os SABM formados por surfactantes não-iônicos tem despertado a atenção da comunidade acadêmica devido a características de interesse em processo de separação, como a facilidade de formação de ponto nuvem.^{74,75} Surfactantes não-iônicos etoxilados com o aumento da temperatura sofrem ponto nuvem devido a diminuição da solubilidade do grupo EO presentes na estrutura destes compostos e a cmc desses surfactantes ocorre em concentrações mais baixas. Este efeito é aplicado na partição de íons,⁷⁶ proteínas,⁷⁷ compostos hidrofóbicos⁷⁸ e corantes.⁷⁹

A descrição dos SABM surge na literatura especializada em 2006 com o trabalho de Hong-Guo Xie *et al.* sobre a separação seletiva de proteínas por membrana, onde é utilizado o surfactante Triton X-100 em sistemas com sulfato de sódio e carbonato de sódio⁸⁰

Em 2012, Yang Liu *et al.* relatou o uso de SABM formado por Triton X-100 e PEG 20.000 g mol⁻¹ para a separação de albumina de soro bovino (BSA) e lisozima. Determinaram os diagramas de fase em várias massas molares de PEG, variações de concentração de sal e valores de pH a 298 K. O trabalho mostrou que a variação do massa molar de PEG ou a concentração de sal, aumenta a area bifásica dos sistemas, o trabalho relatou sistemas formados por PEG 2000, 4000, 6000 e 8000 g mol⁻¹ + Triton X-100 na temperatura de 298 K.⁸¹

Também 2012, Yang Liu *et al.* estudou a partição de vários aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos em SABM compostos por polietileno glicol (PEG) e tensioativo não iônico (Triton X-100 e Tween 80).⁸² Além disso, verificam-se dois trabalhos de aplicação de SABM formados por Triton X-114 + bissulfato de sódio + água e por Triton X100/X114 + PDS + água, respectivamente, que foram utilizados para extração do caldo fermentativo e purificação, respectivamente, do ácido clavulânico, um dos principais antibióticos clínicos existentes.^{83,84}

Um grupo localizado em Brasília em 2013 relatou extração líquido-líquido de pectinase produzida por *Aspergillus oryzae* EA por sistema aquoso bifásico micelar, utilizando sistemas formados por Triton X-114/fosfato de sódio.⁸⁵ Milosevic *et al.*, realizou estudos com misturas de surfactantes, dentre eles o TX144, com diferentes concentrações de sais. E formação de sistema aquoso bifásico micelar, com diferentes misturas de surfactantes com polímeros e líquidos-iônicos.⁸⁶

Blanco *et al.*,(2004) utilizou SABM formado por Triton X-102 para realizar estudos sobre a região do diagrama de fases onde o sistema se apresenta em duas fases de misturas de sulfato de sódio/tiosulfato de sódio + Triton X-102 + água, nas temperaturas entre 288,15 K e 318,15 K e a influência da natureza do ânion que compunha o sal sob a formação do SABM.⁸⁷

Em 2015 Yang Liu *et al.*, determinaram diagramas de fases de sistemas compostos PEG 20.000 g mol⁻¹ + Triton X-100 em 273,15; 293,15 e 313,15 K. Os dados experimentais foram correlacionados utilizando o modelo de Flory-Huggins. Dois resultados do ajuste foram obtidos, um quando as moléculas de surfactante são consideradas moléculas individuais e outro como micelas. O melhor ajuste pode ser observado quando as moléculas de tensioativo foram consideradas como micelas.⁸⁸

Em 2016 Liling Liu *et al.* determinou os diagramas de fases de sistemas formados por TX100 + sulfato de sódio + água em quatro temperaturas diferentes e observou que o aumento da temperatura aumentou a área bifásica do diagrama de fase e um efeito de salting-out do Na₂SO₄ aumentou com base no efeito do volume de exclusão.⁸⁹ No mesmo ano Yang Liu *et al.* estudaram o comportamento de partição de várias proteínas em SABM composto por polietilenoglicol (PEG) com diferentes pesos moleculares (4.000, 8.000 e 20.000) e surfactante

não iônico (TX100). Foi avaliado como o tamanho molecular das proteínas, a hidrofobicidade, o comprimento da linha de amarração, concentrações e peso molecular dos componentes afetam a partição das proteínas.⁹⁰

Em 2016 Eric Ritter *et al.* estudou SABM ternários formados TX114 + sais inorgânicos + água. Avaliaram o impacto salino de cinco diferentes sais de sódio (NaCl, NaBr, NaI, Na₂SO₄ e Na₂HPO₄) e quatro diferentes cloretos (NaCl, KCl, LiCl, NH₄Cl). A influência da adição do sal inorgânico foi estudada a 30 °C. Concluíram que todos os sais, exceto NaI, levam a um aumento da concentração de Triton X-114 na fase micelar e diminuição da fração de surfactante na fase aquosa, afetando o equilíbrio líquido-líquido.⁹¹

Em 2016 Halima Ghouas *et al.* utilizou para a extração de ácidos taninos (AT) dois surfactantes comerciais não iônicos, separadamente: Lutensol ON 30 e Triton X-114 pelo método de ponto nuvem. Recuperou-se 95 e 87% de ácido tanino usando TX114 e Lutensol ON 30 respectivamente.⁹²

Em 2016 Estefanía Cordisco *et al.* utilizaram uma integração de extrações sólido-líquido e líquido-líquido, utilizando-se SABM como uma potencial ferramenta para purificar isoflavonas de soja. Os ensaios extrativos foram realizados em SABM formado por Triton X-114 e tartarato de sódio. Realizaram otimização do processo, onde a temperatura e o tempo foram avaliados como variáveis independentes. Os melhores resultados foram no tempo de 100 min e temperatura de 33 °C com uma percentagem de recuperação de 93%.⁹³

Em 2016 Yongqiang Zhang *et al.* avaliou um SABM formado por TX100 + (NH₄)₂SO₄ + H₂O sem o uso de qualquer extrator para a separaram de molibdênio (VI) de meio aquoso. Os efeitos do pH, concentração inicial de molibdênio, concentração de sulfato de amônio e TX100, temperatura sob a extração foram investigados. Os resultados experimentais indicam que a taxa de extração e o coeficiente de distribuição do molibdênio atingiu o máximo de 97%. O mecanismo de extração revela que não há interação significativa entre o ânion polimolibdato e a unidade de óxido de etileno da molécula TX100 por espectroscopia de infravermelho (FT-IR) e potencial zeta, assim a separação foi devido as cargas presentes do sal.⁹⁴

Em 2017 Fábio Aurélio Esteves Torres *et al.* para purificar novos biocorantes presentes no caldo fermentado obtido. Eles descobriram novos SABM formados pela mistura de TX114 e líquidos iônicos da família de imidazólio ([C₈mim] Cl, [C1mim] Cl, e [C1₂mim] Cl) na presença e ausência de uma fração do caldo fermentado. Em todas as condições que estudaram, os corantes vermelhos foram divididos principalmente na fase rica em micelas.⁷⁹

Em 2017 Lihong Zhao *et al.* determinaram a curva binodal pelo método de ponto nuvem do sistema formado por TX114 + [Bmim]Cl + água. Os experimentos mostraram que o valor

do ponto nuvem do surfactante varia com a variação da concentração do líquido iônico presente a cada temperatura.⁹⁵

Em 2017 Eric Ritter *et al.* estudou a adição de D-glicose no comportamento de fase de SABM contendo os surfactantes não-iônicos Tergitol 15-S-7 e Triton X-114, a fim de projetar sistemas micelares para extração líquido-líquido. Os resultados demonstram que os açúcares como aditivos nas soluções de surfactante foram benéficos para os processos de separação.⁹⁶

Em 2017 Grace Yin Tze Tan *et al.* Utilizaram sistemas aquosos bifásicos micelares simples termo induzidos para recuperar α - e γ -mangostina de cascas de *Garcinia mangostana*, compostos por surfactantes não-iônicos como Triton X-114, Triton X-45 e tribloco Pluronic L-81. Alguns efeitos sobre a partição foram avaliados como, tipo de surfactante não-iônico, sua concentração, carga da amostra, pH e temperatura de equilíbrio. A condição ótima para a recuperação de α e γ -mangostina foi obtida com 3% (m/m) de Pluronic L-81 e 0,5% (m/m) de extrato da casca, na temperatura de equilíbrio de 40 °C.⁹⁷

Em 2018 Feifei Li *et al.* obtiveram os dados binodais do sistema aquoso bifásico micelar contendo líquidos iônicos baseados em imidazólio (cloretos 1-etil-3-metilimidazol, [Emim]Cl), e um surfactante não iônico (octilfenol polietoxileno, Triton X-100) os dados foram obtidos por meio do método de ponto nuvem nos intervalos de temperatura $T=(288,15-308,15)K$. Verificou-se que o [Emim]Cl/Triton X-100 SABM era sensível à temperatura e teve um tempo de segregação de fase longo.⁹⁸

Em 2018 Noel Escudero, *et al.* adicionou citrato de di-hidrogenio de colinio ($N_{1112OH}DHC$) em soluções de TX100 e TX102 para formar novos sistemas aquosos bifásicos micelares. Foi avaliada a faixa de temperatura de $T = (293,15, 303,15, 313,15 \text{ e } 323,15) K$. Os dados binodais foram modelados por um polinômio e três equações exponenciais e os dados da linha de amarração adequadamente correlacionados por meio dos modelos empíricos de Othmer-Tobias, Bancroft.⁹⁹

Em 2019 Norfariza Jamaluddin *et al.* extraíram a substância inibitória do tipo bactericida (*Bacteriocin-Like Inhibitory Substance*, BLIS) produzida por *Pediococcus acidilactici* Kp10 com SABM formado por TX100 com aumento da temperatura. As condições ótimas para o particionamento de BLIS usando o SABM baseado em TX100 foram: concentração de TX100 de 22,5% m/m, carga de CFCS de 50% m/m, tempo de 30 min a 75 °C.¹⁰⁰

Em 2019 Qi Cui *et al.* estudou o SABM formulado com 2% (m/v) de Triton X-114 e 0,03% (m/v) Gemini 16-5-16 acoplado a um ultrassom para a extração e pré-concentração de cinco principais compostos de saponina na raiz de *Panax notoginseng*. O método proporcionou maior eficiência de extração, maior fator de melhoria, bem como excelente desempenho

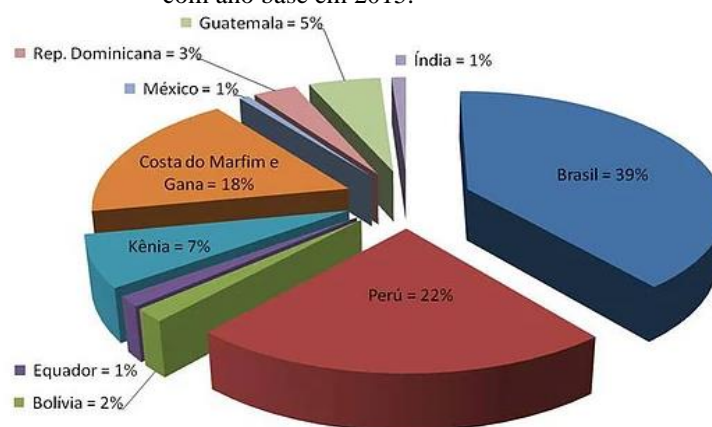
cromatográfico, superior aos solventes convencionais, para as cinco principais saponinas estudadas em *Panax notoginseng*.¹⁰¹

Em 2019 Sílvia Juliana Barros *et al.* obtiveram SABM compostos por Triton X (Triton X-100, Triton X-165 e Triton X-305), cloreto de colina (LI) e água, em T=298,15, 313,15 e 328,15 K. Em geral, esses sistemas apresentaram uma fase superior rica em cloreto de colina e uma fase inferior rica em surfactante, embora o fenômeno de inversão de fase foi observado para uma condição específica do sistema formado por Triton X-165.¹⁰²

1.3.4 Corantes de *Bixa orellana* L. (urucum)

Urucum é uma palavra originada do tupi “uru-ku”, significa “vermelho”. Nome científico *Bixa orellana* L. (Bixaceae) (urucum) foi dado pelo espanhol Francisco Orellana, após uma expedição na região na Amazônia Setentrional, onde conheceu muitas plantas cujos extratos eram empregados pelos Maias e Astecas. O urucum, era usado para tingir tecidos, pintar o corpo e em bebidas. A *Bixa orellana* L. (urucum) é uma espécie nativa do Brasil e de outras regiões tropicais do planeta. O Brasil produzia 1.200 toneladas de sementes de urucum em 1987. Em 1990 já produzia 6.400 toneladas e em 2015 a produção nacional de sementes de urucum chegou a mais de 14.000 toneladas, tornando o Brasil o maior produtor, consumidor e exportador mundial de corantes e sementes de urucum, o Brasil representa 39% da produção mundial, seguido pelo Peru com 22%, Costa do Marfim e Gana com 18% e Quênia com 7%. Veja a Figura 1.19 dessa produção a seguir.¹⁰³

Figura 1.19 – Distribuição da produção mundial de sementes de urucum no mundo com ano base em 2015.



Fonte: MANSIN, *et.al.*2015.

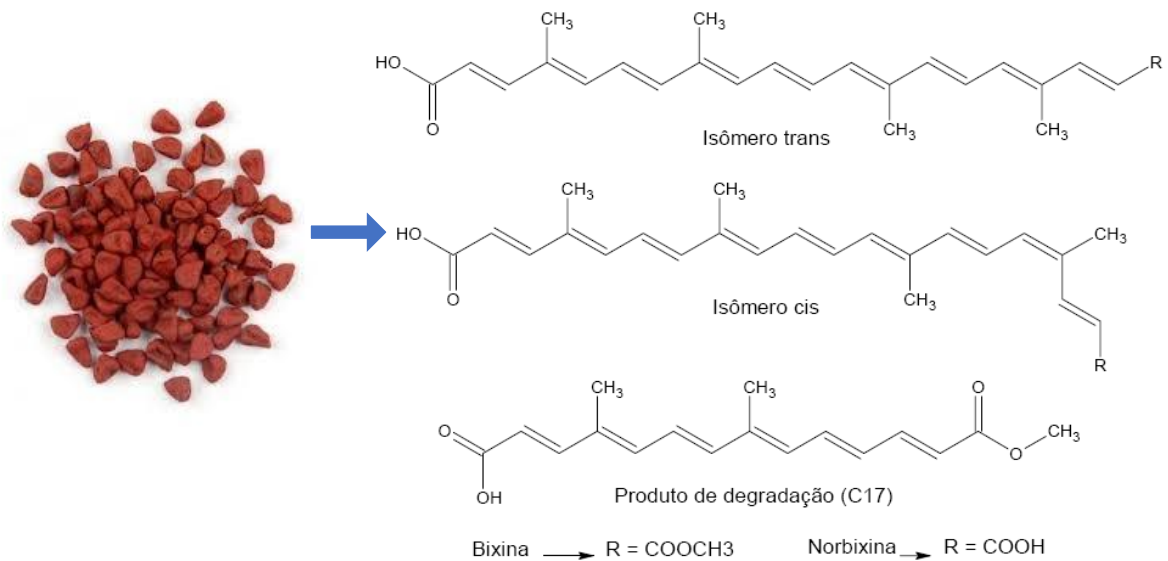
O *Bixa orellana* L. é um arbusto que sintetiza, no pericarpo da semente, pigmentos naturais derivados dos carotenóides, tais como bixina e norbixina. Os pigmentos encontrados nas sementes de urucum pertencem a uma classe de substâncias denominadas carotenóides. Os carotenóides foram reconhecidos como compostos químicos por volta de 1831 com a separação dos pigmentos da cenoura. A esses pigmentos foi dado o nome de “carotin”, por sua relação com a cenoura (carrot em inglês). Atualmente são conhecidas mais de 600 estruturas diferentes de carotenóides que estão amplamente distribuídas no reino vegetal e animal. Em média, 2,5% do peso das sementes desidratadas se trata da bixina que é um apocarotenoide, composto originado pela clivagem de carotenos, sendo essa ruptura mediada por enzimas que atuam em pontos específicos originando dois novos carotenoides.¹⁰⁵

Recentemente determinaram que as sementes brutas de urucum apresentam 40 a 45% de celulose, 3,5 a 5,5% de açúcar, 0,3 a 0,9% de óleo essencial, 3% de lipídios, 1 a 4,5% de pigmento, 11 a 16% de proteína, resíduos minerais e 5% de alfa e beta caroteno, taninos e saponinas.¹⁰⁶

Estudos toxicológicos demonstraram que a norbixina é destituída de efeitos prejudiciais significativos sobre células hepáticas, renais e da medula óssea de camundongos e ratos e, embora nenhum efeito embriológico tenha sido demonstrado em ratos, um grau considerável de interferência com o controle metabólico da glicose nestes roedores foi percebido. Além disso há relatos de uso popular da planta para tratamento do Diabetes.¹⁰⁷ Quanto a bixina, estudos demonstraram as propriedades biológicas e médicas deste pigmento natural. Este carotenóide solúvel em óleo é um dos protetores biológicos mais eficazes contra o oxigênio molecular singlete ($^1\text{O}_2$), um exterminador de radicais livres.¹⁰⁸ Dados recentes usando bixina em culturas de linfócitos humanos sugerem que este carotenóide possa atuar como um agente protetor de agentes antitumorais.¹⁰⁹ Em geral, as atividades biológicas são devido a concentração de carotenóides, apocarotenoïdes, terpenos, terpenóides, esteróis e compostos alifáticos encontrados em todas as partes desta planta, como folha, raiz, semente, broto e até mesmo a planta inteira.¹¹⁰

A bixina é um pigmento natural laranja-avermelhado usado primariamente como agente de coloração em produtos derivados do leite, em alimentos cozidos, nos óleos vegetais e nas bebidas.^{112,113} Quando submetida à hidrólise em meio alcalino, a bixina perde uma molécula de CH_3 e se converte em um isômero trans mais estável com cor vermelho intenso e um produto de degradação amarelo, são descritos também a presença de carotenóides menores e compostos da porção lipídica Figura 1.20.

Figura 1.20 - Estrutura dos carotenóides bixina e norbixina, cis e trans e do principal produto de degradação presente nas sementes.



Fonte: SCOTTER *et.al.*, 2000.

A cis-bixina é o constituinte que ocorre em maior concentração no arilo da semente da *Bixa orellana* L. representando cerca de 80% da bixina presente. Além do isômero *cis*, também está presente a forma *trans*, sendo este mais estável que o isômero *cis*. A *trans*-isomerização acontece parcialmente quando o pigmento é submetido a processo de aquecimento, aumentando a cor avermelhada do extrato.

Tanto as sementes, quanto os extratos processados são comercializados com base no teor de bixina ou norbixina. As sementes da Jamaica, por exemplo, apresentam teores normalmente mais elevados de bixina, 3% em média, contra menos de 2% daquelas produzidas na Índia. Por outro lado, sementes provenientes do Caribe são intensamente vermelhas, o que eleva o seu valor no mercado. A composição do extrato varia segundo o método empregado no processo de extração e concentração, visto que a bixina isomeriza com o calor, aumentando o percentual de trans-bixina, como também, hidrolisa em meio alcalino dando lugar a norbixina.^{114,115} A reação de hidrólise da bixina para formar a norbixina é dependente da concentração do solvente alcalino utilizado e da temperatura empregada no processo. Tanto o aumento da concentração da base quanto a elevação da temperatura de extração levaram a uma maior conversão da bixina em norbixina.¹¹⁶

1.3.5 Aplicação dos sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM) na partição de corantes

Existem na literatura poucos relatos sobre a utilização de SAB no estudo de partição/purificação de corantes seja de origem natural ou sintética. Porém, na última década, estudos têm aplicado SAB na extração/purificação de corantes naturais.¹¹⁷⁻¹¹⁹ Entender os parâmetros termodinâmicos que governam esses processos ainda é um desafio.

A primeira partição em SAB é conhecida desde 1954, quando Albertsson particionou cloroplastos em poli(óxido) de etileno. Durante as décadas seguintes de 1970 e 1980, muitas moléculas que não são pigmentos, mas possuem anéis conjugados em sua estrutura, foram particionadas em SAB e se concentraram preferencialmente na fase superior.^{120,121}

Segundo Preston e Rickard 1980 três processos comerciais principais são usados para extrair o pigmento das sementes secas do urucum. São eles: (i) extração em óleo, (ii) extração com solventes orgânicos e (iii) extração em solução aquosa alcalina.¹²²

Preparações de corantes comerciais de urucum com solventes orgânicos (acetona, diclorometano, dicloroetano, etanol e 2-propanol e solução alcalina) têm desvantagens pelo fato das pequenas concentrações obtidas e resíduos tóxicos do solvente no produto final. Suspensões de corantes de urucum em óleo vegetal são mais concentradas, mas podem conter diversos produtos de degradação devido ao fato das altas temperaturas (>100°C) serem usadas no processo de extração.¹²³

A extração com CO₂ supercrítico tem sido uma alternativa estudada para evitar estes problemas. Estudos da extração do pigmento do urucum foram realizados usando o CO₂ supercrítico e CO₂ modificado com diversos extratores (metanol, clorofórmio e acetonitrila) que mostraram aumentar a eficiência da extração.¹²⁴

Existem estudos da solubilidade da bixina em diferentes solventes, assim como a avaliação das melhores condições de armazenamento para conservação de um padrão de bixina, tendo em vista a reduzida estabilidade apresentada por esta substância. O estudo envolveu ainda o desenvolvimento e otimização de um processo de extração, separação e purificação da bixina, com menor consumo de solventes.¹²⁵

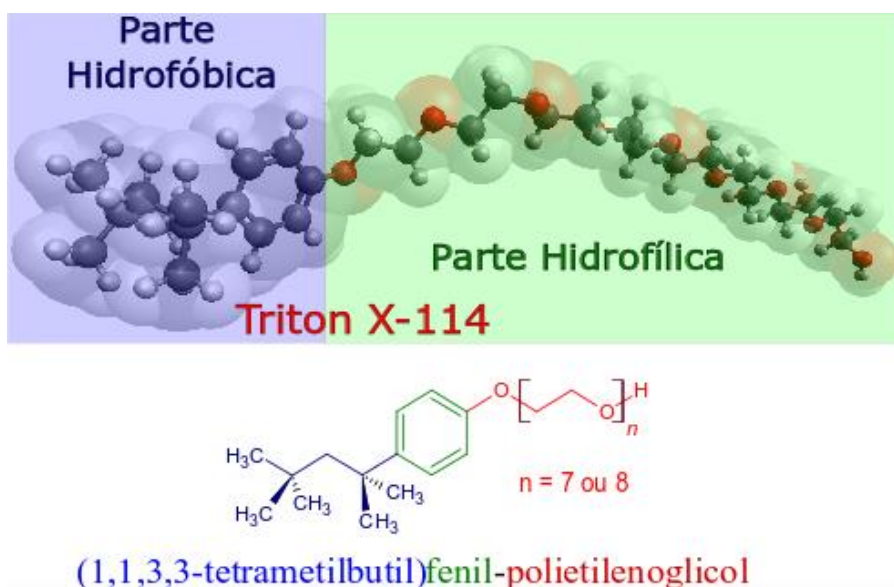
Um dos únicos estudos sobre a partição de corante de urucum em SAB, aponta que parâmetros termodinâmicos de transferência, como entalpia e entropia, são responsáveis pela maior concentração da norbixina na fase superior. Utilizando SAB formados por PEO 1500 g mol⁻¹ + tartarato de sódio, PEO 1500 g mol⁻¹ + succinato de sódio e polióxido de propileno (PPO) 400 g mol⁻¹ + tartarato de sódio¹¹⁶, o estudo se concentrou na parte solúvel em água do corante e encontrado comercialmente, a norbixina.

1.3.6 Obtenção de novos diagramas de fase para sistemas aquosos bifásicos micelares

Desenvolver novos SAB para aplicação em técnicas de extração/purificação mais econômicas, a fim de melhorar os parâmetros de purificação e ao mesmo tempo reduzir os custos operacionais são de interesse.¹²⁶ Dentro desses novos SAB destaca-se os sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM), os quais são formados por surfactantes (moléculas anfifílicas) constituídos por partes que apresentam afinidades distintas em ambientes específicos.⁸² Os surfactantes possuem a característica de em concentrações acima da concentração micelar crítica (cmc) formar agregados, conhecidos como micelas.²⁴

O Triton X-114 (polioxiétileno *p-t*-octil fenol) surfactante não-iônico utilizado para formar o novo SABM (Figura 1.21), possui cabeça polar capaz de realizar ligações de hidrogênio com a água. O TX114 forma micelas cilíndricas quando atinge a cmc, as quais podem ser modeladas como micelas formadas por um corpo cilíndrico terminado em duas micelas esféricas nas extremidades.⁷³ Esse surfactante é muito utilizado em SABM em técnicas de extração/purificação pela técnica de ponto nuvem.

Figura 1.21 – Diferentes representações da estrutura química do surfactante não iônico Triton X-114 com destaques para suas características físico-químicas.



Fonte: Do autor

Os sistemas aquosos bifásicos micelares (SABM) formados por Triton X-114 são amplamente estudados na partição de biomoléculas de interesse comercial, como enzimas,¹²⁶ caldos fermentados,¹²⁷ cristal violeta,¹²⁸ corantes,¹²⁹ etc. SABMs apresentam habilidade de

manter as conformações e atividades das biomoléculas de interesse enquanto migram de fase, pois proteínas hidrofílicas, em geral, interagem muito pouco com surfactantes não-iônicos e, portanto, não são desnaturadas e nem incorporadas nas micelas dessas substâncias.

O SABM apresenta uma série de características únicas e desejáveis, como a natureza auto-associativa das micelas, que permite o controle e a otimização da partição por meio do ajuste das características micelares, como tamanho e forma, quando comparado com os sistemas aquosos bifásicos (SAB) formados geralmente por polímeros, sais, líquidos iônicos.¹³⁰ Afim de melhorar ainda mais as características dos SABM novos compostos vêm sendo adicionados a esses sistemas como sacarose,¹³¹ líquidos iônicos¹²⁸ e sais.¹³²

Apesar do Triton X-114 ser bem estudado em partições, não existe na literatura científica relatos de SABM formados pela mistura desse com polietileno glicol (PEG), em nenhuma faixa de temperatura e composição. O polímero PEG é um homopolímero (polímero constituído por um só tipo de monômero) não iônico de óxido de etileno, representado pela fórmula: $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$, em que n é o número médio de grupos óxido de etileno. O PEG é considerado um polímero termosensível, esses em uma determinada temperatura crítica se separam em duas fases, mas a temperatura crítica do PEG é alta quando comparada com as de alguns outros polímeros e copolímeros. A utilização de polímeros deste tipo em sistemas aquosos bifásicos possibilita uma fácil separação do composto a ser extraído para a fase polimérica, além da recuperação para nova utilização.

A obtenção de novos SABM visa melhorar e aumentar as opções de aplicação de Triton X-114 em estudos de partição, onde exista a necessidade de trabalhar em baixas temperaturas, pois o estudo de equilíbrio líquido-líquido dos sistemas formados por PEG + Triton X-114 + água foi dentro de uma faixa de temperaturas 5 a 20°C, temperaturas abaixo da formação de ponto nuvem do Triton X-114 (23 a 24 °C). A influência da variação da temperatura e massa molecular do PEG foram avaliados sobre o equilíbrio de fases.

1.4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão descritas as metodologias e matérias utilizados para realização deste trabalho.

1.4.1 Materiais

Os reagentes químicos utilizados na formação dos SAB estão representados na (TABELA 1.2).

Tabela 1.2- Lista de Produtos Químicos

Nome	Fórmula Química	Pureza (fração mássica)	Método de purificação	Origem	CAS
poli(etileno) glicol/PEG 400	$H(OCH_2CH_2)_n OH$	0,99	Não ^a	Aldrich (USA)	25322-68-3
poli(etileno) glicol/PEG 1500	$H(OCH_2CH_2)_n OH$	0,99	Não ^a	Aldrich (USA)	25322-68-3
poli(etileno) glicol /PEG 4000	$H(OCH_2CH_2)_n OH$	0,99	Não ^a	Aldrich (USA)	25322-68-3
Polietilenoglicol terc-octilfenil éter /Triton X-114	$(C_2H_4O)_n C_{14}H_{22}O$ n = 7 or 8	0,96	Não ^a	Vetec (Brasil)	9036-19-5
Água	H_2O	>0,99	Mili-Q (Milipore, USA)	-	-

^a O reagente foi usado sem purificação adicional como declarado pelo fornecedor.

1.4.2 Métodos

Técnicas utilizadas para obtenção dos dados em estudo.

1.4.2.1 Titulação turbidimétrica

As curvas binodais foram determinadas usando a mistura de uma solução aquosa do polímero (PEG com diferentes massas molares médias) de concentração de 0,50 de fração mássica com uma solução aquosa concentrada de Triton X114 0,05 de fração mássica, em diferentes temperaturas, utilizando o método de titulação turbidimétrica.¹³⁴ Esse método consiste em titular uma solução de polímero concentrada com uma solução de Triton X concentrada até que a mistura final das soluções se torne turva. Com os valores dos volumes

adicionados e das densidades da solução 5% de Triton X-114, e da de 50% de polímero, foi possível determinar a real fração molar de cada componente no ponto de formação de mistura homogênea. O procedimento foi repetido por diversas vezes de forma a obter um conjunto de pontos. Com estes dados foi possível obter uma visualização gráfica da linha spinodal. As titulações ocorreram em temperatura controlada de 283,15; 298,15; 308,15 e 318,15 K, utilizando um banho termostaticado (SOLAB, SL 152/10). Todas as soluções/solvente foram mantidas por tempo suficiente no banho termostaticado para garantir o rígido controle da temperatura (± 0.05 K). As composições de misturas, em fração mássica, foram determinadas para cada ponto da curva binodal utilizando uma balança analítica (AG 220, Shimadzu, EUA) com uma incerteza de $1,0 \times 10^{-7}$ kg.

1.4.2.2 Estudo do equilíbrio líquido-líquido

Para o estudo do equilíbrio líquido-líquido 5 novos SAB de aproximadamente 10g cada, representando 5 diferentes linhas de amarração, foram montados a partir de pontos de composição globais escolhidos simetricamente sobre a curva spinodal em triplicata. Os SAB foram montados em tubos tipo falcon de 15 mL e foram mantidos no banho termostaticado na temperatura de estudo por pelo menos 24h ou até as fases separadas se mostraram perfeitamente transparentes. As fases superior e inferior dos sistemas foram então coletadas. Após a coleta das fases, as fases superior e inferior foram diluídas em água de acordo com as curvas analíticas referente a cada equipamento utilizado.

Para quantificar a concentração de surfactante foi utilizada espectroscopia de UV-visível (Shimadzu, UV-2401-PC, EUA) com uma precisão de $\pm 0,002$ (aprox. 280 nm), índice de refração com refratômetro (ABBE MOD. RTA-100) com precisão da medida do índice de refração de $\pm 0,0002$, para determinar a concentração de polímero e para determinar do teor de água utilizou-se estufa na temperatura de 333,15 K. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata. O comprimento da linha de amarração (CLA) e a inclinação da linha de ligação (ILA) em diferentes composições foram calculadas usando as equações (36) e (37), respectivamente:

$$CLA = [(W_{PEO}^S - W_{PEO}^I)^2 + (W_{TRITON}^S - W_{TRITON}^I)^2]^{1/2} \quad (36)$$

$$ILA = \frac{W_{PEO}^S - W_{PEO}^I}{W_{TRITON}^S - W_{TRITON}^I} \quad (37)$$

onde w^S corresponde à fração mássica na fase superior e w^I a fração mássica na fase inferior de cada componente.

1.4.2.3 Modelagem termodinâmica

Os dados de equilíbrio e as curvas binodais foram ajustadas as expressões lineares de Othmer-Tobias, Bancroft, Hand e Setschenow e aplicados ao modelo de Flory-Huggins. As estimativas iniciais para os parâmetros λ_{ij} são calculadas por inversão matricial. Os volumes molares foram calculados por $V = M/d$ onde se utilizou as densidades, $d_{\text{Triton}}=1,06$ g/ml, $d_{\text{PEG400}}=d_{\text{PEG1500}}=d_{\text{PEG4000}}=1,2$ g/ml e $d_{\text{água}}=1,0$ g/ml.

1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas sessões a seguir estão descritos os resultados encontrados no estudo de obtenção de novos SABM.

1.5.1 Estudo do equilíbrio líquido-líquido dos novos sistemas aquosos bifásicos micelares formados por PEG e Triton X-114

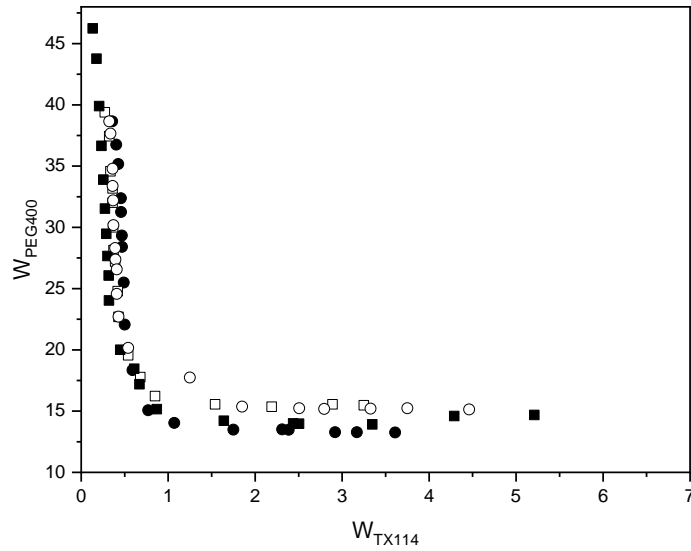
Os SABM exploram o fato de que algumas moléculas de surfactante, sob certas condições, são capazes de se separar espontaneamente em duas fases aquosas. A mistura de Triton X-114 + água, quando sofre aumento da temperatura, ocorre a segregação em duas fases líquidas e imiscíveis. Como a concentração de surfactante nas duas fases é superior à cmc, micelas estão presentes em ambas as fases, uma pobre em micelas e uma rica em micelas.¹³⁵ O fenômeno de separação de fases pode ser representado por uma curva em forma de sino, denominada de curva binodal, com concavidade para cima. A curva binodal representa o limite, em função da temperatura e da concentração de surfactante, no qual a solução micelar se separa em duas fases macroscópicas. Esse tipo de diagrama de fase que representa o equilíbrio entre Triton X-114 e água é diferente dos diagramas estudados neste trabalho. Os diagramas de fases para o equilíbrio líquido-líquido Triton X-114 + PEG + água determinados demonstram a fração mássica dos componentes do sistema sob pressão e temperaturas controladas.

Nos novos sistemas formados pela mistura de Triton X-114 + PEG + água foram estudados na faixa de temperatura de 283,15 a 318,15 K. Nesta faixa de temperatura ainda são inéditos estudos de equilíbrio das fases em sistemas formados por Triton X-114. Em temperaturas acima de 22 °C soluções de Triton X-114 se tornam turvas, o que dificulta observar a formação de fases.¹³⁶

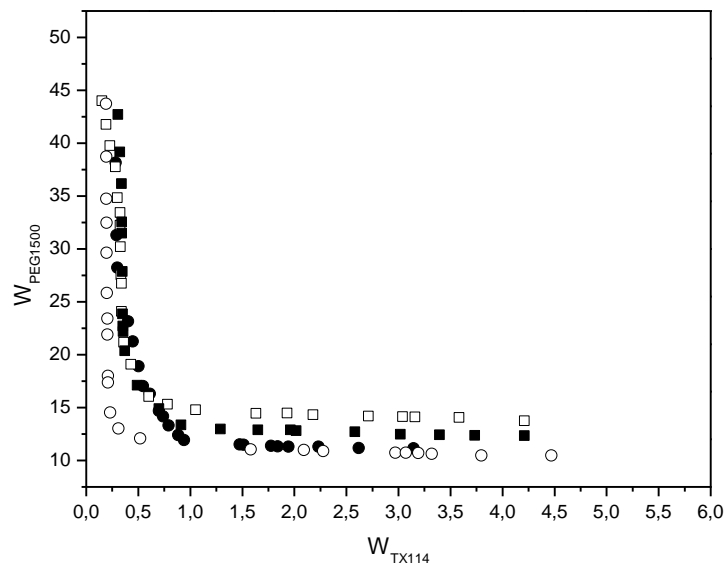
A Figura 1.22 compara as curvas binodais obtidas experimentalmente para os SABMs formados pela mistura de TX114 g mol⁻¹ e PEG 400 g mol⁻¹, PEG 1500 g mol⁻¹ e PEG 4000 g mol⁻¹ nas temperaturas de 278,15; 283,15; 288,15; 293,15 K. A temperatura é uma variável termodinâmica que pode exercer forte influência sob a região bifásica de um SAB, que pode aumentar ou diminuir. A modificação da temperatura pode afetar a concentração das moléculas de surfactante e polímero entre as fases do sistema devido à transferência de moléculas de água entre as fases do SAB, fator que afeta diretamente a ILA. Observa-se que o aumento na temperatura promove um pequeno deslocamento da posição da curva binodal para a direita para

os sistemas formados por PEG 400, o que corresponde à uma diminuição da área bifásica para temperaturas mais altas, indicando que o processo de separação de fases é exotérmico.

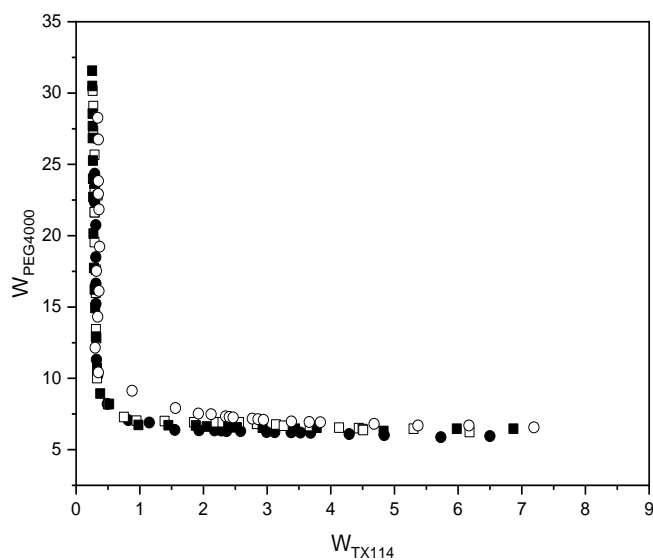
Figura 1.22 - Curvas binodais, nas temperaturas de 278,15 K (●); 283,15 K (□); 288,15 K (■) e 293,15 K (○), para os SABs formados por PEG 400 g mol⁻¹ (a); PEG 1500 g mol⁻¹ (b); PEG 4000 g mol⁻¹ (c) + Triton X-114 + H₂O.



(a)



(b)



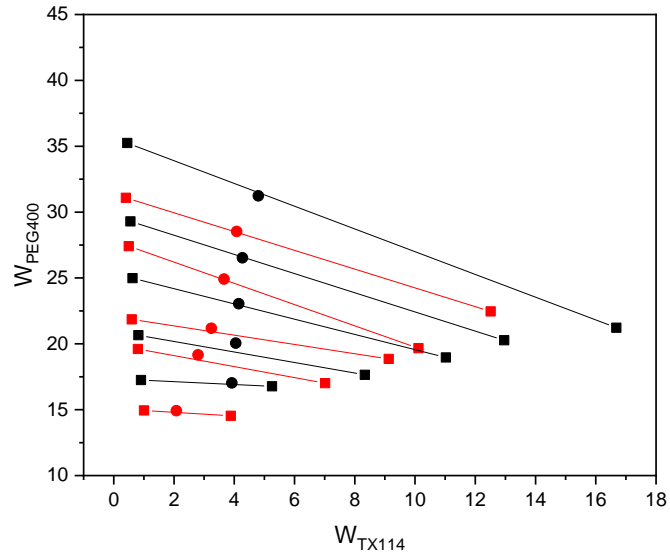
(c)

Fonte: Do autor

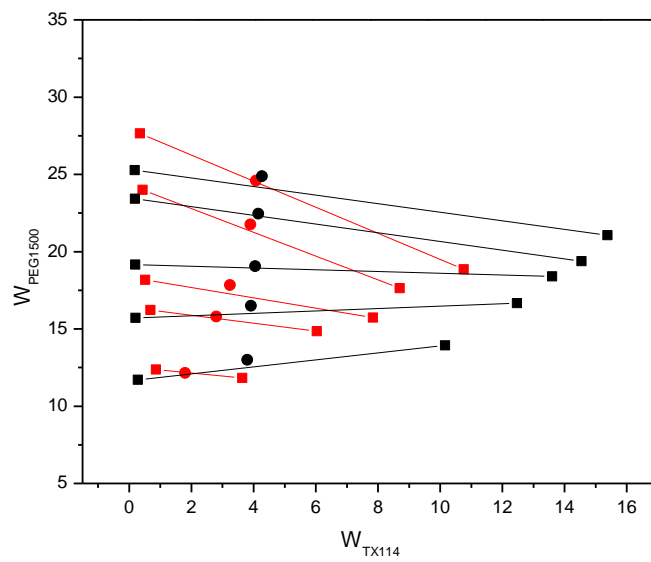
Para melhor visualizar o efeito da temperatura sobre as linhas de amarração e ILA na Figura 1.23 existe a comparação das linhas de amarração entre as temperaturas de 278,15 e 393,15 K a menor e a maior do estudo, assim é possível avaliar o efeito da temperatura na inclinação da linha de amarração. Avaliando as Figuras 1.23 a 1.25 é possível observar uma variação na inclinação das linhas de amarração com a variação da temperatura de 278,15 a 293,15 K. Houve uma diferença grande na ILA para os sistemas formados por PEG 1500 g mol⁻¹, mostrando que as ILAs são muito sensíveis à variação de temperatura no sistema formado por PEG 1500 g.mol⁻¹, inclusive ao aumentar CLA, o que indica uma tendência de grande transferência de moléculas de água entre as fases ao variar a temperatura. A maior variação da

48
 ILA com a temperatura para diferentes massas de PEG também é observada em SAB formados por PEG e sais.⁶⁴ Foi possível observar também que para os sistemas formados por PEG 4000 g.mol⁻¹ a uma maior inclinação das linhas de amarração quando comparado aos sistemas formados por PEG 400 e 1500 g.mol⁻¹. Uma possível explicação para esse fato é que ao aumentar a temperatura há um aumento da hidrofobicidade dos polímeros devido a sua mudança de conformação e isso promove uma transferência espontânea de moléculas de água da fase superior para fase inferior, levando a um aumento na concentração de polímero na fase superior e uma diluição da fase inferior, e conseqüentemente, o valor da ILA aumenta. Este efeito é mais pronunciado para PEGs com maior massa molecular.

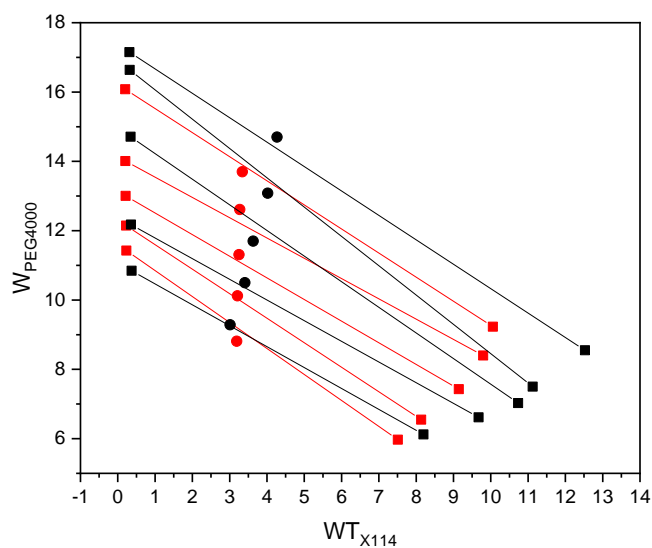
Figura 1.23 – Linhas de amarração, nas temperaturas de 278,15 K (●), 293,15 K (●), para os SAB formados por PEG 400 g mol⁻¹ (a); PEG 1500 g mol⁻¹ (b); PEG 4000 g mol⁻¹ (c) + Triton X-114 + H₂O.



(a)



(b)



(c)

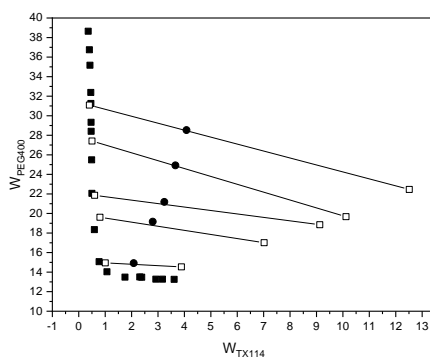
Fonte: Do autor

As Tabelas no Apêndice (Tabelas A1-A6) e as Figuras 1.24, 1.25 e 1.26 mostram os dados experimentais referentes aos equilíbrios líquido-líquido e das curvas binodais, todos expressos em fração molar, para os sistemas aquosos bifásicos formados Triton X-114 e PEG 400, 1500 e 4000 g mol⁻¹ respectivamente, onde LA se refere à linha de amarração, CLA ao comprimento da linha de amarração, ILA a inclinação da linha de amarração. Os dados de composição apresentados estão expressos em porcentagem mássica. Em ambas as tabelas se ressalta a predominância da água em ambas as fases com valores superiores a 60% em todas as LAs. Além disso, o surfactante se concentra preferencialmente na fase inferior e o polímero na fase superior para todas as LAs. Tal comportamento já foi descrito previamente em diagramas de equilíbrio envolvendo polímero e surfactante não iônico.⁸²

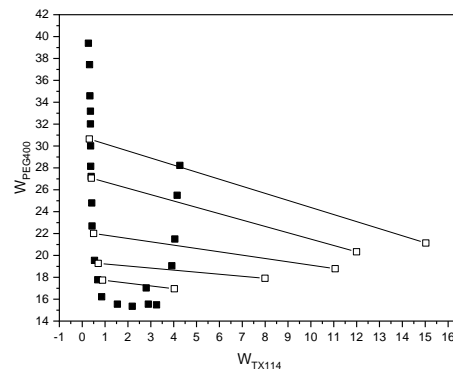
Os diagramas foram representados na forma bidimensionais retangular por sua maior simplicidade. A estratégia de pesquisa consistiu em montar vários diagramas bidimensionais composição x composição, cada qual numa diferente condição de controle de temperatura. A sobreposição desses diagramas composição x composição obtidos em diferentes temperaturas permite avaliar a influência do aumento/diminuição da energia térmica sobre o equilíbrio de fases do sistema. Como sistema e formado por fases condensadas (equilíbrio líquido-líquido) a influência da pressão, em geral, é muito pequena. Nesse sentido, trabalha-se com a pressão ambiente do laboratório, que é medida e relatada para cada diagrama, mas não foi considerado a obtenção de diagramas em diferentes condições de pressão.

Para cada diagrama, cinco linhas de amarração foram determinadas através do conjunto de pontos experimentais correspondentes às concentrações dos componentes nas fases superior, inferior e ponto global do sistema. Os subscritos 1, 2 e 3, nas tabelas no Apêndice representam os componentes, PEG, Triton X-114 e água respectivamente.

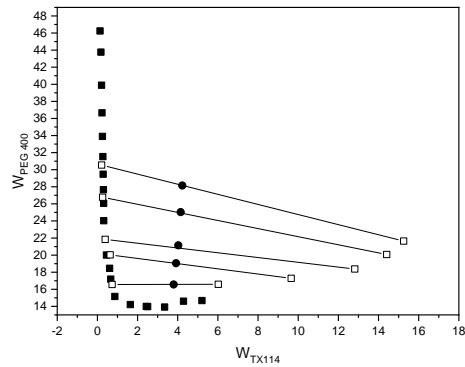
Figura 1.24 - Curvas binodais e dados de equilíbrio líquido-líquido para os SABs formados por formados por PEG 400 g mol⁻¹+ Triton X-114 + H₂O nas temperaturas de (a) 278,15 K; (b) 283,15 K; (c) 288,15 K; (d) 293,15 K. Os pontos globais (●), linhas de amarração (□) e curva binodal (■) representados para cada diagrama.



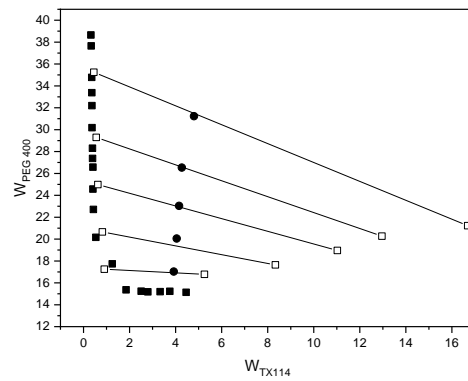
(a)



(b)



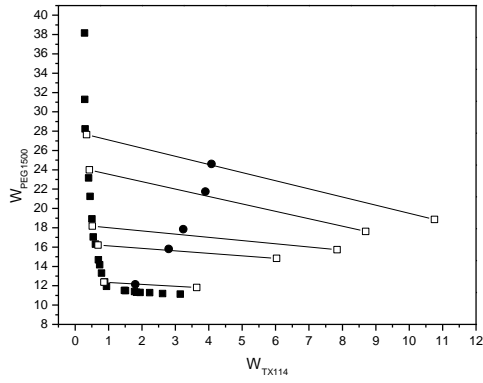
(c)



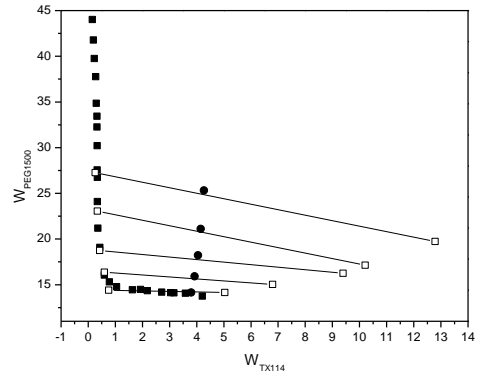
(d)

Fonte: Do autor

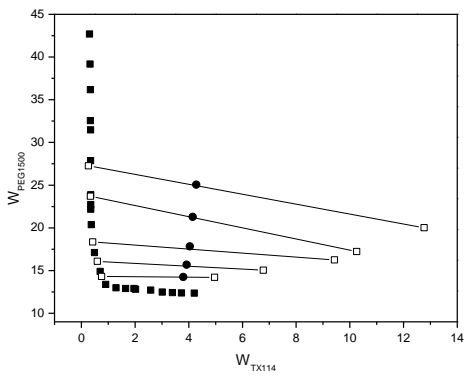
Figura 1.25 - Curvas binodais e dados de equilíbrio líquido-líquido para os SABs formados por formados por PEG 1500 g mol⁻¹+ Triton X-114 + H₂O nas temperaturas de (a) 278,15 K; (b) 283,15 K; (c) 288,15 K; (d) 293,15 K. Os pontos globais (●), linhas de amarração (□) e curva binodal (■) representados para cada diagrama.



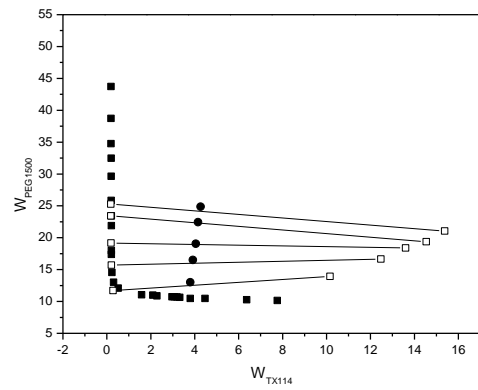
(a)



(b)



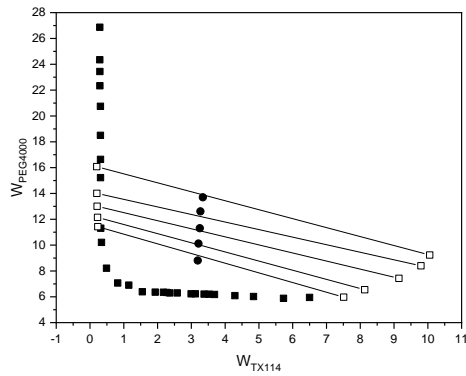
(c)



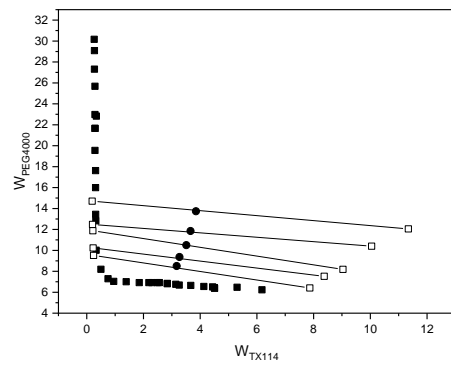
(d)

Fonte: Do autor

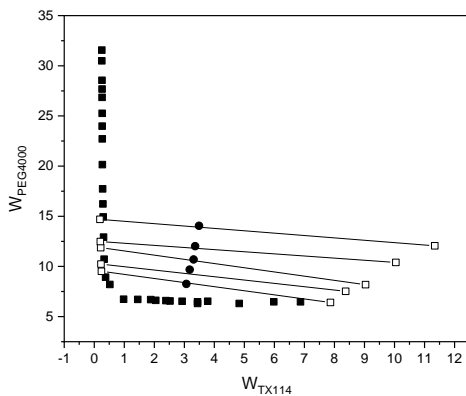
Figura 1.26 - Curvas binodais e dados de equilíbrio líquido-líquido para os SABs formados por formados por PEG 4000 g mol⁻¹+ Triton X-114 + H₂O nas temperaturas de (a) 278,15 K; (b) 283,15 K; (c) 288,15 K; (d) 293,15 K. Os pontos globais (●), linhas de amarração (□) e curva binodal (■) representados para cada diagrama.



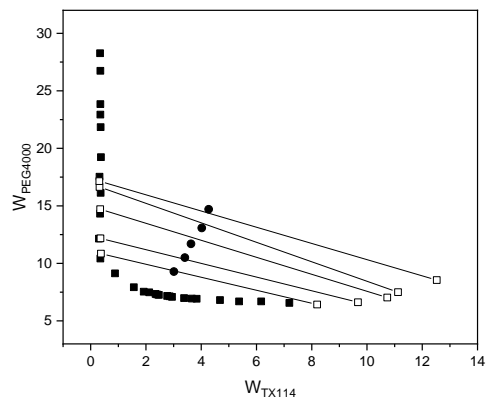
(a)



(b)



(c)



(d)

Fonte: Do autor

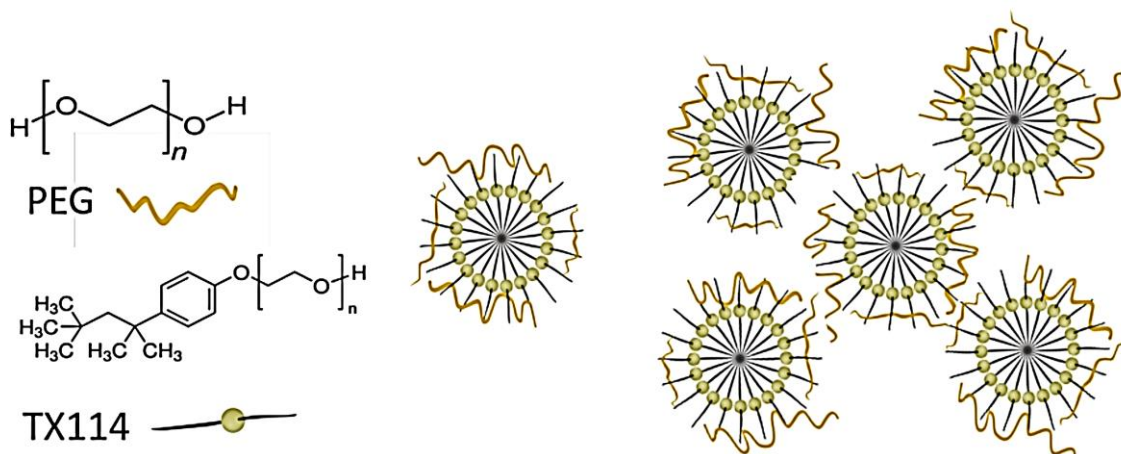
Na parte experimental foi possível observar uma formação de fase inferior com volume menor e muito viscosa e uma fase superior com volume maior com baixa viscosidade. Estudos anteriores determinaram que o aumento da viscosidade de soluções de Triton X seria devido a mudanças na forma original das micelas e a um maior número de micelas presentes na fase. As micelas começam a mudar suas formas de esféricas para cilíndricas, especialmente para as micelas de Triton X-100 e Triton X-102, como as micelas de Triton X-114 já são cilíndricas somente o tamanho das micelas aumenta.¹³⁷

Analisando as concentrações de Triton X-114 determinadas nas fases superior dos sistemas estudados, a concentração ficou por volta de 0,10 a 0,90 em percentual de fração

mássica marjitoriamente e nas fases inferior de 4,00 a 12,00. É possível imaginar que as micelas de Triton X-114 se concentrem quase todas na fase inferior, levando a uma grande viscosidade e turbidez nas fases inferior de todos os sistemas estudados. Os sistemas estudados por Ramalashmi de 2014¹³¹ formados por Sacarose + Triton X-114 + água nas temperaturas de 288,15; 293,15 e 298,15 K os sistemas demonstraram comportamento semelhante aos observados, com concentrações de Triton X-114 na faixa de 0,01 a 0,05 % de fração mássica na fase superior.

Uma teoria que pode explicar o comportamento dos sistemas formados por Triton X-114 e PEG seria as possíveis interações formadas entre as moléculas de PEG com as micelas de Triton X-114. Qiao e Easteal publicaram em 1998 um estudo analisando essas interações.⁷⁵ Pontos nuvens foram determinados visualmente, observando a temperatura em que a turbidez é observada entre as misturas de Triton X com PEG. Eles propuseram que moléculas de PEG com baixa massa molecular como os PEG 400, 1500 e 4000 g mol⁻¹ estudados, interagem com as micelas de Triton X-114 na superfície, como demonstrado na Figura 1.27 que os autores propuseram. Eles observaram este comportamento no estudo das misturas de PEG 1000 a 20000 g mol⁻¹ com Triton X-114 com variações de temperatura sobre o ponto nuvem do surfactante.

Figura 1.27- Possível estrutura da micela com polímero intra-cadeia de surfactante. (a) uma única micela intra-cadeia (b) várias micelas intra-cadeia em soluções de polímeros.



Fonte: Do autor

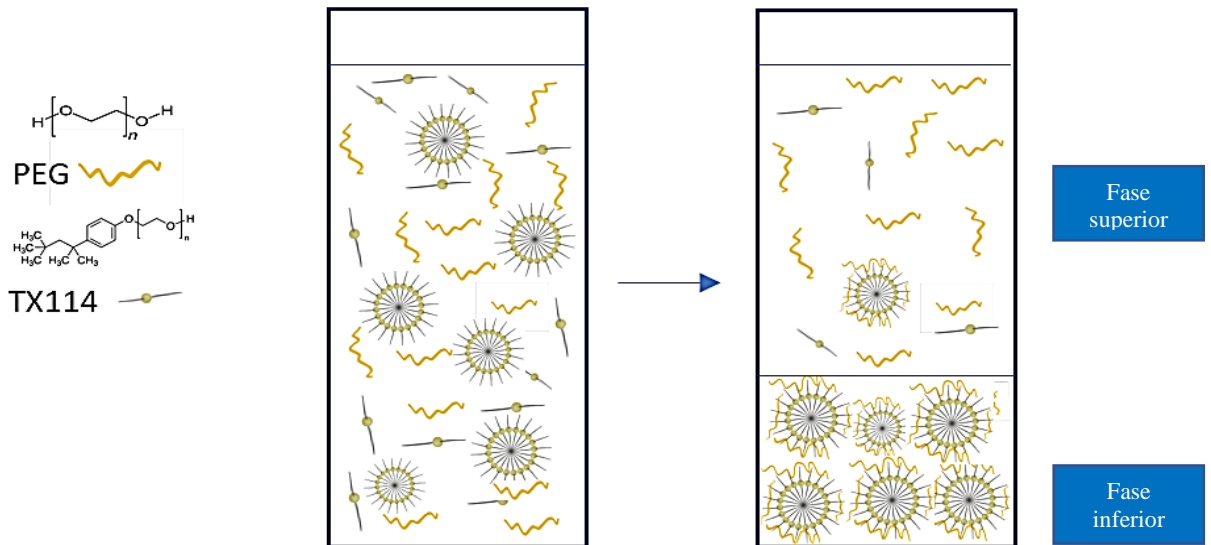
Os autores Qiao e Easteal, no ano de 1998, observaram que nas soluções poliméricas, quando adicionado o surfactante as moléculas inicialmente se acumulam na superfície até a cmc ser alcançada. Na superfície, as cadeias hidrofílicas do surfactante fazem contato com as cadeias

de PEG e um equilíbrio é estabelecido na formação de tipo de complexo.⁷⁵ A formação do complexo muda a estrutura da solução e afeta as propriedades físicas da solução. Uma dessas propriedades é o ponto nuvem da solução. PEGs de menor massa molecular não podem interagir com as micelas intra-cadeias devido às suas cadeias curtas de etileno glicol e apenas envolvem a superfície das micelas. Assim uma repulsão será produzida entre as micelas devido a efeitos estéricos e de solvatação das cadeias poliméricas. Estudos feitos por Lingling Ge em 2007¹³⁸ com Triton X100 mais PEG, utilizando várias técnicas como Espectroscopia de fluorescência, microscopia e calorimetria comprovaram as teorias de Qiao e Easteal sobre a interação entre PEG e as micelas de Triton, o PEG não passa pelas micelas TX-100, mas é absorvido na superfície ou penetram na camada hidrofílica das micelas de TX-100 e forma o complexo TX-100/PEG.

Os sistemas estudados apresentaram uma composição global de Triton X-114 dentro do intervalo de 1,8 a 4,7 % m/m, uma concentração baixa no geral para SAB, mas um pouco acima quando comparada a outros sistemas já estudados de misturas ternárias, onde a concentração ficou na faixa de 1,0 % m/m mesmo em misturas.⁸⁸

As composições de PEG e Triton X-114 na fase inferior para os sistemas estudados foram próximas. As micelas de triton presentes na sua maioria na fase inferior, criaram um ambiente favorável para as moléculas de PEG migrarem da fase superior para a fase inferior, como demonstram os valores de composição das FS e FI de PEG nas Tabelas A1.1 a A1.6 em Apêndice 3 a 8 e na Figura 1.28, na grandeza de 10,0 a 30,0 % de fração mássica na maioria dos sistemas. Nos SAB já descritos na literatura as moléculas de PEG se concentram preferencialmente na fase superior.^{140,141} Esse efeito pode ser observado devido a interação formada entre as micelas e as moléculas de PEG como já citado a cima.

Figura 1.28 – Equilíbrio entre as fases formadas por TX114 + PEG + água.



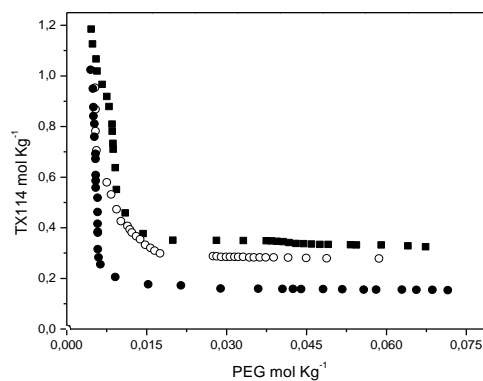
Fonte: Do autor

Como as micelas de Triton X-114 e as moléculas de PEG possuem grandes cadeias carbônicas, esses compostos são mais hidrofóbicos, requerendo, dessa forma, menor hidratação e, conseqüentemente, menor quantidade de energia necessária para a separação do sistema em duas fases assim, mesmo trabalhando em baixas temperaturas, houve a segregação de fases.⁸²

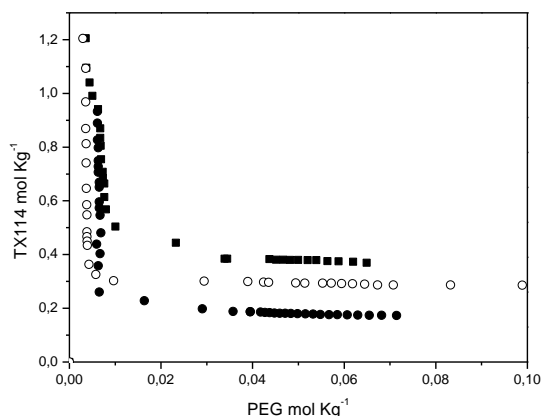
1.5.2 Efeito da massa molecular do PEG

As curvas binodais para os SABs formados por Triton X-114 e PEG com diferentes massas moleculares são mostradas na Figura 1.29.

Figura 1.29 - Curvas binodais, nas temperaturas de 278,15 K (a) e 293,15 K (b), para os SABs formados por PEG + Triton X-114 + H₂O, nas massas moleculares de PEG 400 g mol⁻¹ (■), PEG 1500 g mol⁻¹ (○) e PEG 4000 g mol⁻¹ (●).



(a)



(b)

Fonte: Do autor

Os sistemas estudados apesar de não apresentarem um efeito muito pronunciado da variação da temperatura, apresentaram uma influência mais significativa da massa molecular do PEG. Pode-se observar nas figuras que as curvas binodais para os SAB formados por PEG de maior massa molar + Triton X-114 + água à 278,15K(a) estão mais próximas da origem e existe um aumento da região bifásica nos diagramas formados por PEG 4000 g mol⁻¹. As curvas de PEG 4000 g mol⁻¹ também apresentaram uma região bifásica maior, quando comparadas com as curvas dos PEG 400 e 1500 g mol⁻¹. Este comportamento está de acordo com o já foi relatado na literatura para outros SAB formados por outras misturas com PEG.^{141,142}

O efeito da massa molar pode ser justificado pelo aumento do caráter hidrofóbico do PEG 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.¹⁴²

Yang Liu em 2012, observou que as áreas bifásicas dos SABM são expandidas com um o aumento da massa molecular de PEG no estudo com Triton X100 com PEG para a partição de BSA a 298,15K. Nesse tipo de sistema o efeito pode ser atribuído ao aumento da cadeia de polietileno glicol, que interage mais com o Triton X-114, pois consegue cobrir melhor as micelas. O mesmo comportamento também pode ser observado nas curvas binodais obtidas a 293,15 K (b), em menor proporção.⁸²

1.5.3 Correlação das linhas de amarração

As equações de Othmer-Tobias,¹⁴⁴ Bancroft,¹⁴⁵ Hand¹⁴⁶ e Setschenow,¹⁴⁷ em suas formas lineares (Equações 38-41), foram ajustadas aos dados de composição das linhas de amarração para se verificar a correlação entre os dados. Estas equações tem como finalidade prever novas linhas de amarração a partir dos dados obtidos experimentalmente, o que torna esse recurso uma ferramenta valiosa para aplicações industriais em que se deseja prever dados em uma composição e temperatura específica. Estas equações tem sido extensamente explorada em SABs.¹⁴⁸

$$\ln \left(\frac{1-w_2^t}{w_2^t} \right) = a_1 + b_1 \ln \left(\frac{1-w_1^b}{w_1^b} \right) \quad (38)$$

$$\ln \left(\frac{w_3^b}{w_1^b} \right) = a_2 + b_2 \ln \left(\frac{w_3^t}{w_2^t} \right) \quad (39)$$

$$\ln \left(\frac{w_1^t}{w_2^t} \right) = a_3 + b_3 \ln \left(\frac{w_1^b}{w_3^b} \right) \quad (40)$$

$$\ln \left(\frac{c_2^t}{c_1^t} \right) = a_4 + b_4 (c_1^b - c_1^t) \quad (41)$$

Nestas equações a_i e b_i são parâmetros de ajuste, em que $i \in \{1,2,3,4\}$. Na equação (39) c_j^k representa a molalidade do j -ésimo componente na fase k , em que k se refere a fase superior (t) ou fase inferior (b). Os parâmetros ajustados, seus respectivos desvios padrões (σ_{a_i} e σ_{b_i}) e coeficientes de determinação R^2 são apresentados nas Tabelas 1.3(a) a 1.3(c), para os sistemas envolvendo PEG 400, PEG 1500 e PEG 4000 g.mol⁻¹, nas quatro temperaturas, 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K.

Tabela 1.3(a) - Valores dos parâmetros ajustados para as equações 38-41 para o SAB formado por PEG 400 g.mol⁻¹.

Equação	<i>i</i>	<i>a_i</i>	σa_i	<i>b_i</i>	σb_i	<i>R</i> ²	<i>T/K</i>
Othmer-Tobias	1	-0,5532	0,2959	0,7332	0,1192	0,9265	278,15
		0,1169	0,3360	0,4776	0,1437	0,7864	283,15
		-0,1988	0,3429	0,6826	0,1622	0,8552	288,15
		-0,5405	0,1856	0,7535	0,0835	0,9645	293,15
Bancroft	2	0,4605	0,2867	1,4313	0,2251	0,9309	278,15
		-0,0963	0,6222	1,7818	0,5056	0,8054	283,15
		0,1482	0,3747	1,3907	0,3005	0,8771	288,15
		0,4134	0,1557	1,3965	0,1364	0,9722	293,15
Hand	3	-6,1544	0,3738	-1,1638	0,1644	0,9435	278,15
		-5,8894	0,4539	-1,0319	0,2150	0,8848	283,15
		-6,9557	0,6385	-1,5856	0,3389	0,8795	288,15
		-5,6604	0,2228	-1,0438	0,1117	0,9668	293,15
Setschenow	4	-0,0454	0,0880	0,9629	0,3841	0,6769	278,15
		-0,1050	0,0741	0,8484	0,2592	0,7812	283,15
		-0,1805	0,0675	0,8936	0,2046	0,8641	288,15
		-0,1459	0,0148	1,2926	0,0477	0,9959	293,15

Fonte: Do autor

Tabela 1.3(b) - Valores dos parâmetros ajustados para as equações 38-41 para o SAB formado por PEG 1500 g.mol⁻¹.

Equação	<i>i</i>	<i>a_i</i>	σa_i	<i>b_i</i>	σb_i	<i>R</i> ²	<i>T/K</i>
Othmer-Tobias	1	-0,7570	0,3827	0,8496	0,1460	0,9186	278,15
		-0,4421	0,3181	0,7786	0,1320	0,9206	283,15
		-0,4538	0,3802	0,7845	0,1576	0,8920	288,15
		-2,3512	0,3487	2,0274	0,1837	0,9760	293,15
Bancroft	2	0,7269	0,2792	1,1635	0,1881	0,9273	278,15
		0,3646	0,2836	1,2911	0,1975	0,9344	283,15
		0,4289	0,3491	1,2437	0,2421	0,8980	288,15
		0,7808	0,0768	0,5951	0,0506	0,9788	293,15
Hand	3	-6,8654	0,4383	-1,3748	0,1796	0,9513	278,15
		-7,2061	0,3139	-1,5702	0,1418	0,9761	283,15
		-7,1388	0,3961	-1,5396	0,1786	0,9612	288,15
		-8,0339	0,2252	-2,1251	0,1346	0,9881	293,15
Setschenow	4	-0,1599	0,0842	1,8392	0,4538	0,8456	278,15
		-0,1645	0,0733	1,2718	0,3166	0,8432	283,15
		-0,1711	0,1104	1,2635	0,4763	0,7011	288,15
		-0,8154	0,1403	1,9531	0,3866	0,8948	293,15

Fonte: Do autor

Tabela 1.3(c) - Valores dos parâmetros ajustados para as equações 38-41 para o SAB formado por PEG 4000 g.mol⁻¹.

Equação	<i>i</i>	<i>a_i</i>	σa_i	<i>b_i</i>	σb_i	<i>R</i> ²	<i>T/K</i>
Othmer-Tobias	1	-0,5641	0,5569	1,0492	0,2388	0,8655	278,15
		-0,6864	0,2621	1,1891	0,1147	0,9729	283,15
		-0,6864	0,2621	1,1891	0,1147	0,9729	288,15
		-0,8866	0,4528	1,2472	0,2092	0,9221	293,15
Bancroft	2	0,4158	0,4295	0,9698	0,2281	0,8577	278,15
		0,2543	0,2116	0,9666	0,1041	0,9664	283,15
		0,2186	0,2072	0,9676	0,1020	0,9678	288,15
		0,4786	0,2546	0,8641	0,1385	0,9285	293,15
Hand	3	-6,8937	0,3484	-1,2325	0,1554	0,9545	278,15
		-7,4916	0,3092	-1,5744	0,1394	0,9770	283,15
		-6,9166	0,3066	-1,3360	0,1404	0,9680	288,15
		-6,4471	0,4397	-1,3219	0,2128	0,9279	293,15
Setschenow	4	0,9829	0,1805	-2,2725	0,5363	0,8569	278,15
		0,8700	0,1705	-3,0774	0,8370	0,8184	283,15
		0,7387	0,1689	-2,4894	0,7930	0,7666	288,15
		0,2967	0,2365	1,2712	0,9935	0,3531	293,15

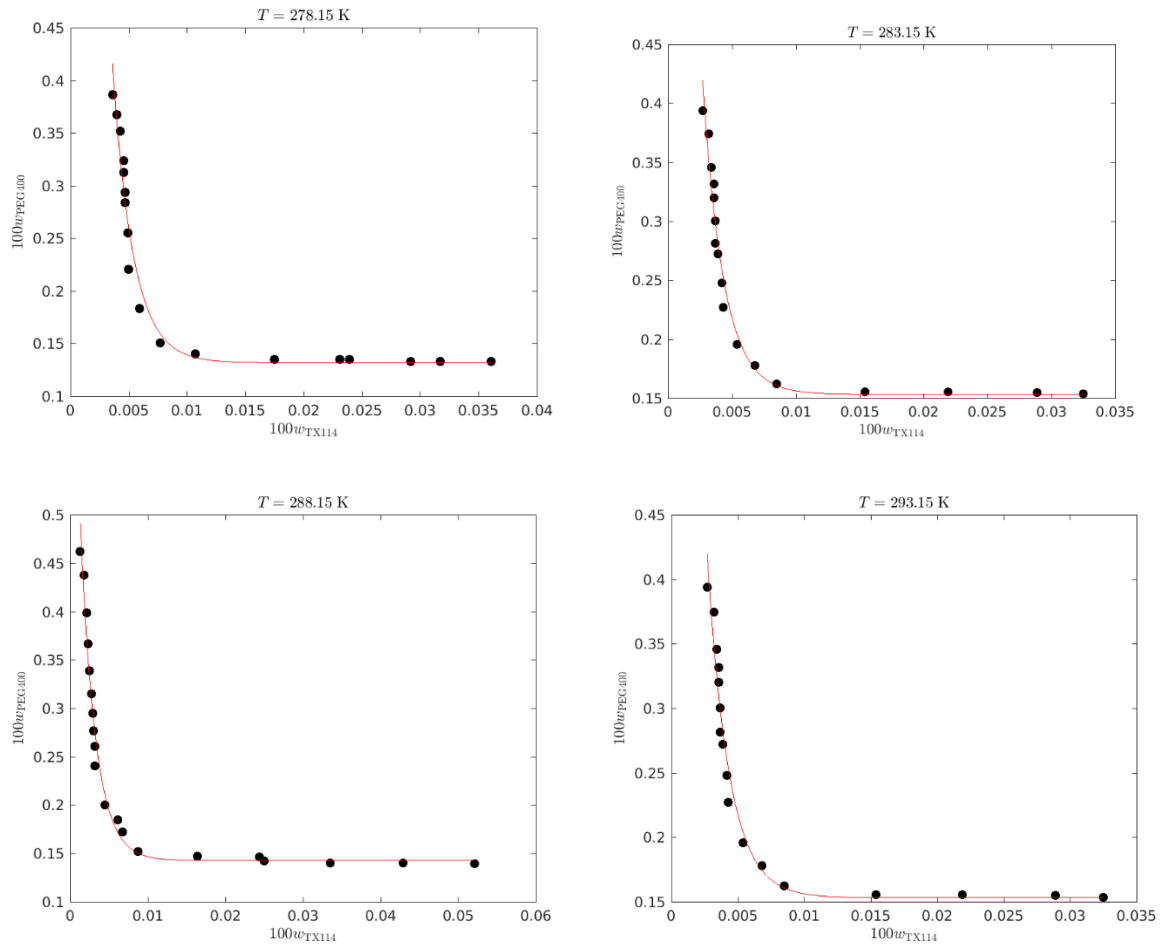
Fonte: Do autor

Todos os modelos apresentaram uma correlação significativa entre os dados ao nível de significância de 5 % ($p < 0,05$). A explicação da variabilidade na variável dependente foi superior a 80 % em todos os modelos ($R^2 > 0,80$), exceto no modelo 1 que apresentou coeficiente de determinação $R^2=0,7864$ para a temperatura de 10 °C para o SAB formado por PEG 400 g.mol⁻¹. No modelo 4 houve problemas nos três sistemas estudados. O coeficiente de determinação $R^2=0,6769$ e $R^2=0,7812$ nas temperaturas de 5 e 10 °C para os SABs formados por PEG 400, respectivamente no sistema formado por PEG 1500 na temperatura de 15 °C, $R^2=0,7011$. Nos sistemas formados por PEG 4000 nas temperaturas de 15 e 20 °C, nos valores de R^2 foram demonstrando, o modelo 4 não teve um bom ajuste ao sistema estudado.

1.5.4 Correlação das curvas binodais

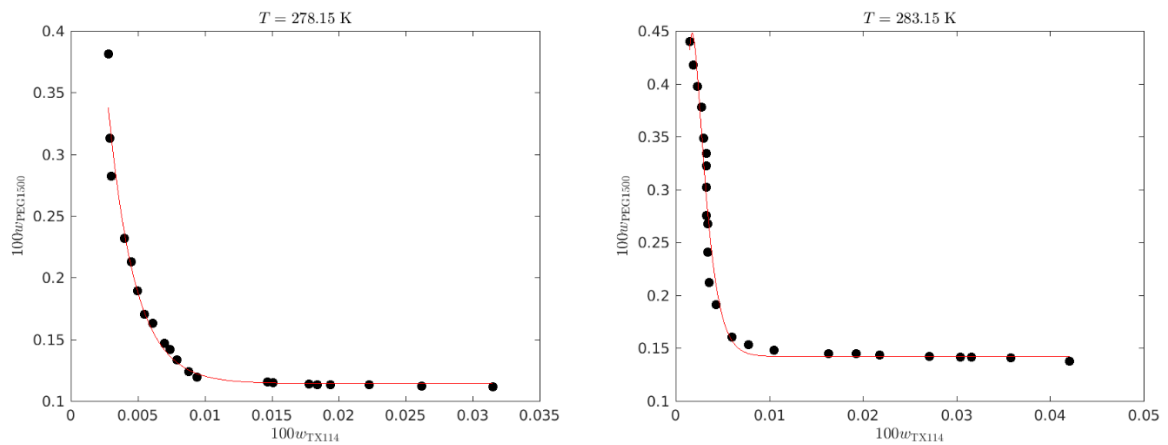
As Figuras 1.30 a 1.32 representam as curvas binodais experimentais e as recuperadas pelo modelo teórico para os sistemas formados por PEG 400, PEG 1500 e PEG 4000 g.mol⁻¹ de acordo com a Equação 40 nas temperaturas de 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K.

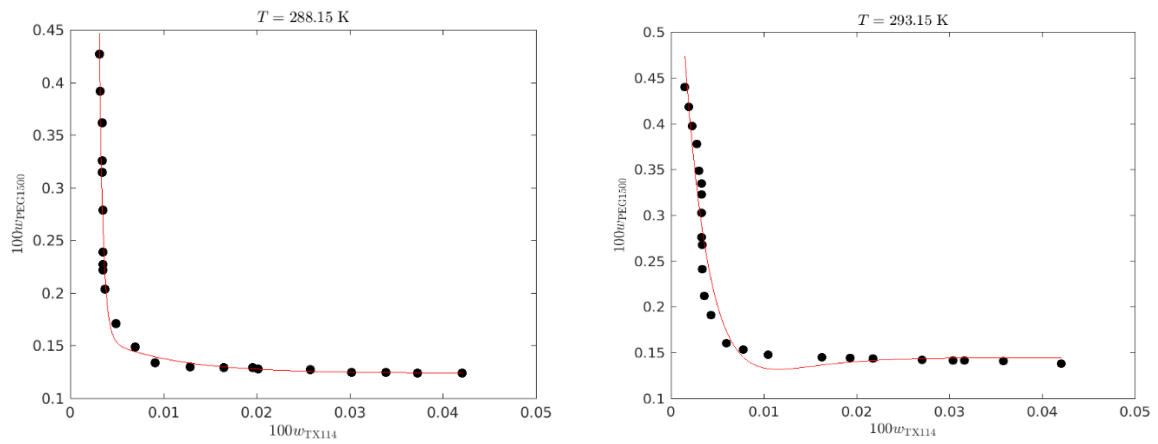
Figura 1.30 - Curva binodal experimental (●) e recuperada pelo modelo teórico (—) para o sistema formado por PEG 400 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente.



Fonte: Do autor

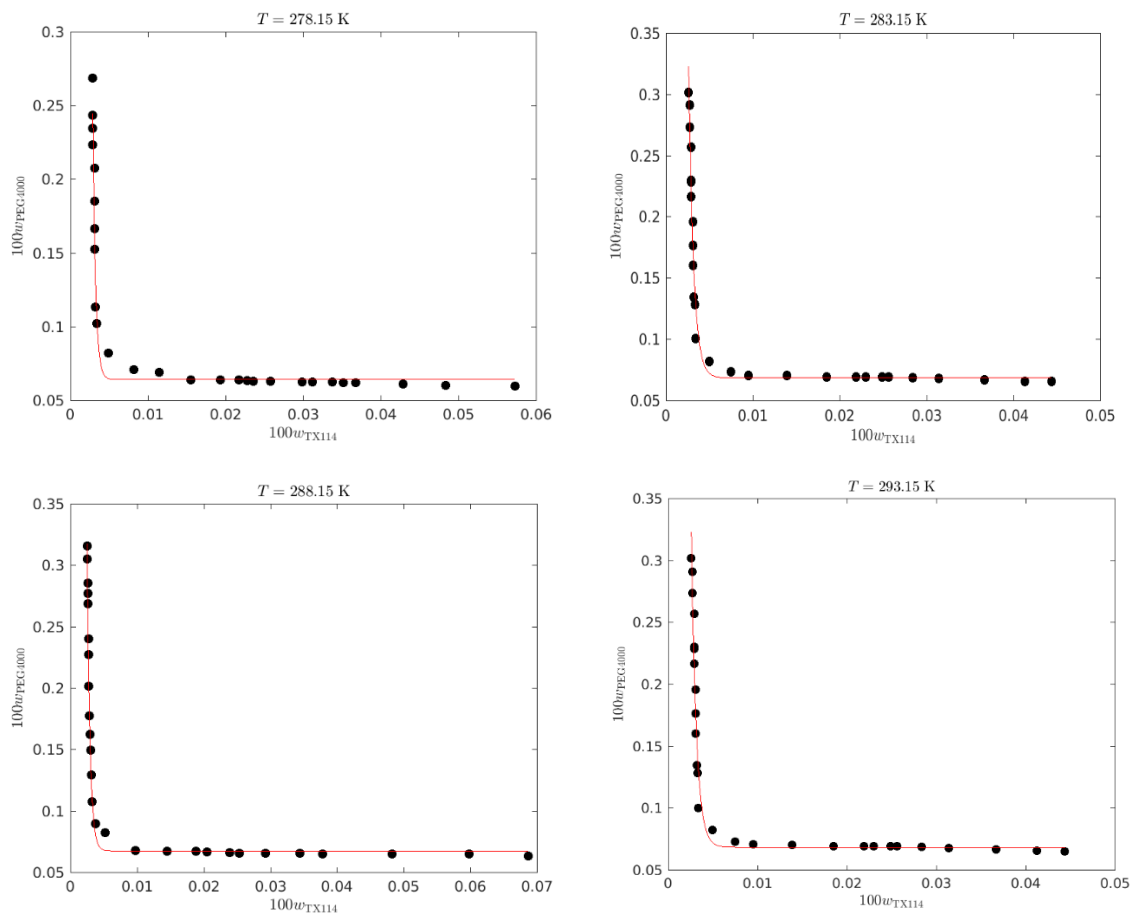
Figura 1.31 - Curva binodal experimental (●) e recuperada pelo modelo teórico (—) para o sistema formado por PEG 1500 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente.





Fonte: Do autor

Figura 1.32 - Curva binodal experimental (●) e recuperada pelo modelo teórico (—) para o sistema formado por PEG 4000 g mol^{-1} (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente.



Fonte: Do autor

O modelo aplicado para a correlação de binodais foi o descrito por Yuliang Li *et al.* (2012), esta equação de correlação é baseada em solventes orgânicos hidrofílicos.^{149,150}

$$w_1 = a_1 \exp\left(-\frac{w_2}{b_1}\right) + a_2 \exp\left(-\frac{w_2}{b_2}\right) + c \quad (42)$$

onde w_1 e w_2 são a fração mássica de PEG e de Triton X-114, respectivamente. Essa equação foi usada para correlacionar os dados binodais, fornecendo valores para os coeficientes a_1 , a_2 , b_1 , b_2 e c . Os parâmetros de ajuste, coeficiente de determinação (R^2) e desvios padrão (100sd) estão listados nas Tabelas 1.4 a 1.6. Os coeficientes de determinação acima de 0,9353 indica que a Eq. (42) pode ser usada satisfatoriamente para correlacionar curvas binodais dos sistemas estudados.

Tabela 1.4 - Valores dos Parâmetros da Equação (40) para os sistemas formados por PEG 400 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3).

T/K	a_1	b_1	a_2	b_2	c	R^2	100sd
278,15	2,2054	$1,7577 \times 10^{-3}$	7,3476	$2,4345 \times 10^{-5}$	$1,3171 \times 10^{-1}$	0,9627	1,7812
283,15	1,3989	$1,6294 \times 10^{-3}$	1,8916	$3,8150 \times 10^{-5}$	$1,5308 \times 10^{-1}$	0,9672	1,4797
288,15	$6,8050 \times 10^{-1}$	$1,9438 \times 10^{-3}$	$9,1769 \times 10^{-1}$	$3,5366 \times 10^{-5}$	$1,4256 \times 10^{-1}$	0,9811	1,4540
293,15	1,3989	$1,6294 \times 10^{-3}$	$2,3369 \times 10^{-1}$	$2,4853 \times 10^{-5}$	$1,5308 \times 10^{-1}$	0,9672	1,4797

Fonte: Do autor

Tabela 1.5 - Valores dos Parâmetros da Equação (40) para os sistemas formados por PEG 1500 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3).

T/K	a_1	b_1	a_2	b_2	c	R^2	100sd
278,15	$9,1432 \times 10^{-1}$	$1,9902 \times 10^{-3}$	5,1345	$7,0520 \times 10^{-5}$	$1,1408 \times 10^{-1}$	0,9707	1,2773
283,15	$9,2604 \times 10^2$	$8,9448 \times 10^{-4}$	$9,2818 \times 10^2$	$8,9236 \times 10^{-4}$	$1,4195 \times 10^{-1}$	0,9588	2,0777
288,15	$5,1326 \times 10^2$	$4,1440 \times 10^{-4}$	$4,9832 \times 10^{-2}$	$7,8555 \times 10^{-3}$	$1,2359 \times 10^{-1}$	0,9471	2,2318
293,15	$5,8535 \times 10^1$	$3,6929 \times 10^{-3}$	$5,7925 \times 10^1$	$3,7111 \times 10^{-3}$	$1,4441 \times 10^{-1}$	0,9353	2,6038

Fonte: Do autor

Tabela 1.6 - Valores dos Parâmetros da Equação (40) para os sistemas formados por PEG 4000 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3).

T/K	a_1	b_1	a_2	b_2	c	R^2	100sd
278,15	$5,5933 \times 10^2$	$3,6079 \times 10^{-4}$	$2,1548 \times 10^3$	$6,8649 \times 10^{-5}$	$6,3966 \times 10^{-2}$	0,9638	1,3066
283,15	$2,5313 \times 10^1$	$5,6538 \times 10^{-4}$	$6,7311 \times 10^3$	$1,3465 \times 10^{-6}$	$6,8193 \times 10^{-2}$	0,9732	1,3287
288,15	$7,9973 \times 10^1$	$4,3350 \times 10^{-4}$	$1,3689 \times 10^4$	$1,2914 \times 10^{-6}$	$6,7207 \times 10^{-2}$	0,9903	0,8724
293,15	$2,5313 \times 10^1$	$5,6538 \times 10^{-4}$	$2,2952 \times 10^4$	$1,4929 \times 10^{-6}$	$6,8193 \times 10^{-2}$	0,9732	1,3287

Fonte: Do autor

Os parâmetros a_i , b_i e c_i são independentes da temperatura e permitem através das equações (a)-(e) a previsão de binodais em temperaturas diferentes das que foram utilizadas no ajuste. Estas previsões podem ter grande relevância tanto para previsões em pequenas escalas, quanto para implementações em escala industrial, pois garantem a possibilidade de obter dados de composição em condições específicas sem a necessidade de realizar testes experimentais.

1.5.5 Modelo Flory-Huggins

Os parâmetros otimizados para cada temperatura são apresentados nas Tabelas 1.5 a 1.7 para os SAB formados por PEG 400,1500 e 4000 g.mol⁻¹, respectivamente. As Tabelas 1.5 a 1.7 mostram que os parâmetros de interação entre o polímero e surfactante não iônico em todos SABMs são muito inferiores aos parâmetros entre o surfactante não-iônico e água ou os parâmetros entre o polímero e a água.¹⁵¹ Este resultado está exatamente de acordo com a teoria de Flory-Huggins de que as diferentes composições de moléculas iriam reorganizar para diminuir a energia na mistura.¹⁵² Os valores mais baixos facilmente impulsionam o rearranjo molecular. Os valores de PEG 4000/Triton X-114 são maiores que os valores de e PEG 400 ou 1500/ Triton X-114 em várias temperaturas, o que indica que a interação entre o PEG 4000 e o Triton X-114 é mais forte do que a interação entre PEG 400 ou 1500/ Triton X-114. Os parâmetros de interação entre as macromoléculas e o solvente, [12] podem indicar a capacidade do solvente em solubilizar às macromoléculas.^{152,153} Como os valores [12] são mais baixos quando comparados aos dados das Tabelas 1.7 a 1.9 para a interação [13], o PEG possui melhor solubilidade em solução aquosa do que as micelas do surfactante não-iônico (Triton X-114). Além disso, os valores de [12] não apresentam variação óbvia com o aumento de temperatura, o que implica que a solubilidade das micelas não varia nas temperaturas investigadas, nos sistemas formados por PEG 400 ou 1500/TX114. Já nos sistemas formados por PEG 4000/TX114 houve um aumento da solubilidade com o aumento da temperatura, indicando que este sistema é mais sensível a variação de temperatura.⁸⁸

Tabela 1.7- Parâmetros de Flory-Huggins para o sistema PEG 400 g.mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + água (3).

$T/^\circ\text{C}$	λ_{12}	λ_{13}	λ_{23}	ssr
278,15	0,8562	0,6010	1,3813	10,1800
283,15	0,8746	0,6330	1,4505	2,8704
288,15	0,7110	0,6057	1,3132	2,5267
293,15	0,7800	0,6501	1,3126	3,4710

Fonte: Do autor

Tabela 1.8- Parâmetros de Flory-Huggins para o sistema PEG 1500 g.mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + água (3).

$T/ ^\circ\text{C}$	λ_{12}	λ_{13}	λ_{23}	ssr
278,15	0,8816	0,5957	1,4619	4,6371
283,15	0,7538	0,5512	1,3751	2,9529
288,15	0,7391	0,5561	1,3619	6,0674
293,15	0,4494	0,5081	1,2106	2,0127

Fonte: Do autor

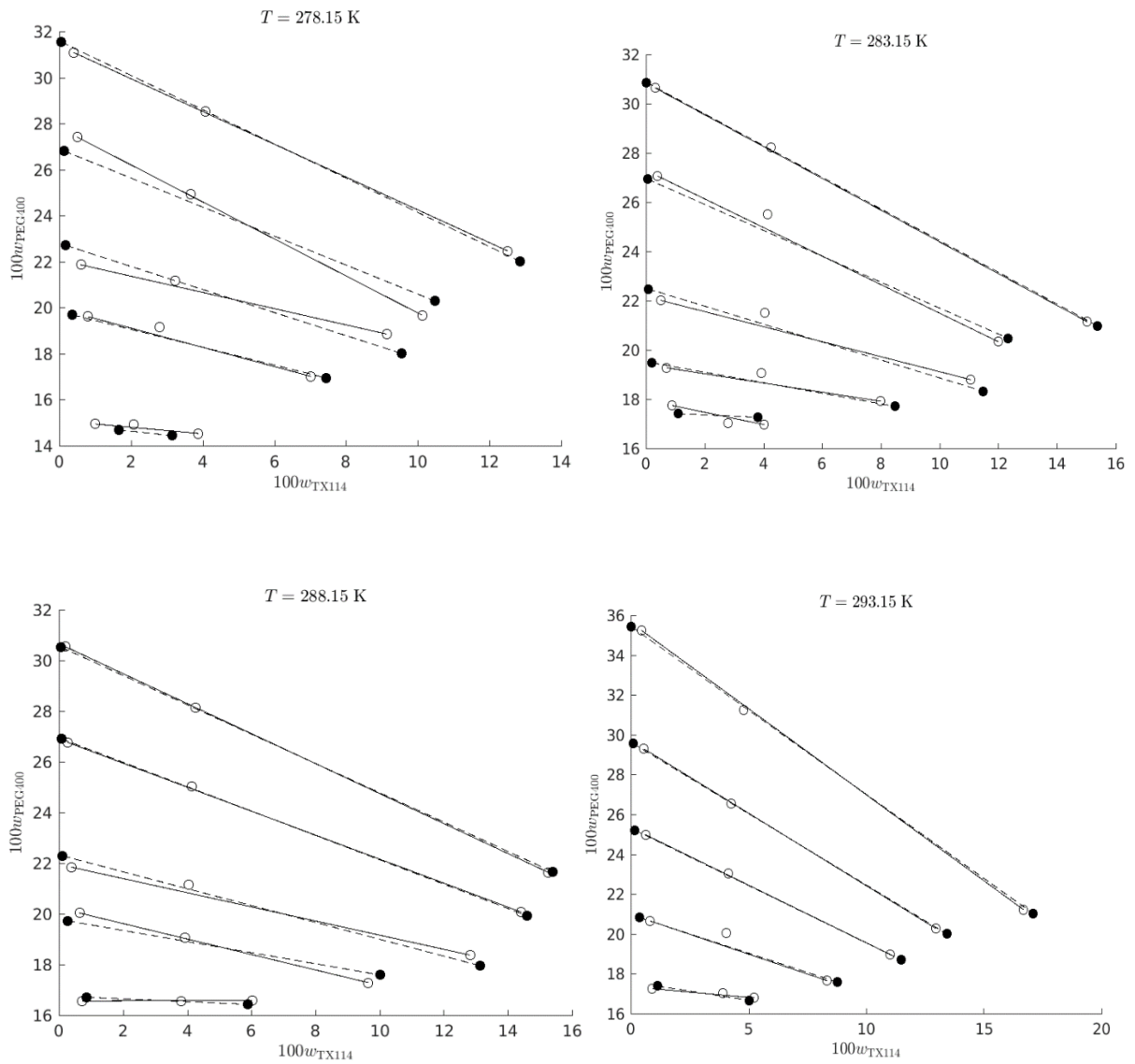
Tabela 1.9- Parâmetros de Flory-Huggins para o sistema PEG 4000 g.mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + água (3).

$T/ ^\circ\text{C}$	λ_{12}	λ_{13}	λ_{23}	ssr
278,15	0,9415	0,7887	1,5107	7,6712
283,15	0,7011	0,7060	1,2308	6,7957
288,15	0,9500	0,8504	1,3927	1,3123
293,15	1,8253	2,4192	2,2684	19,6084

Fonte: Do autor

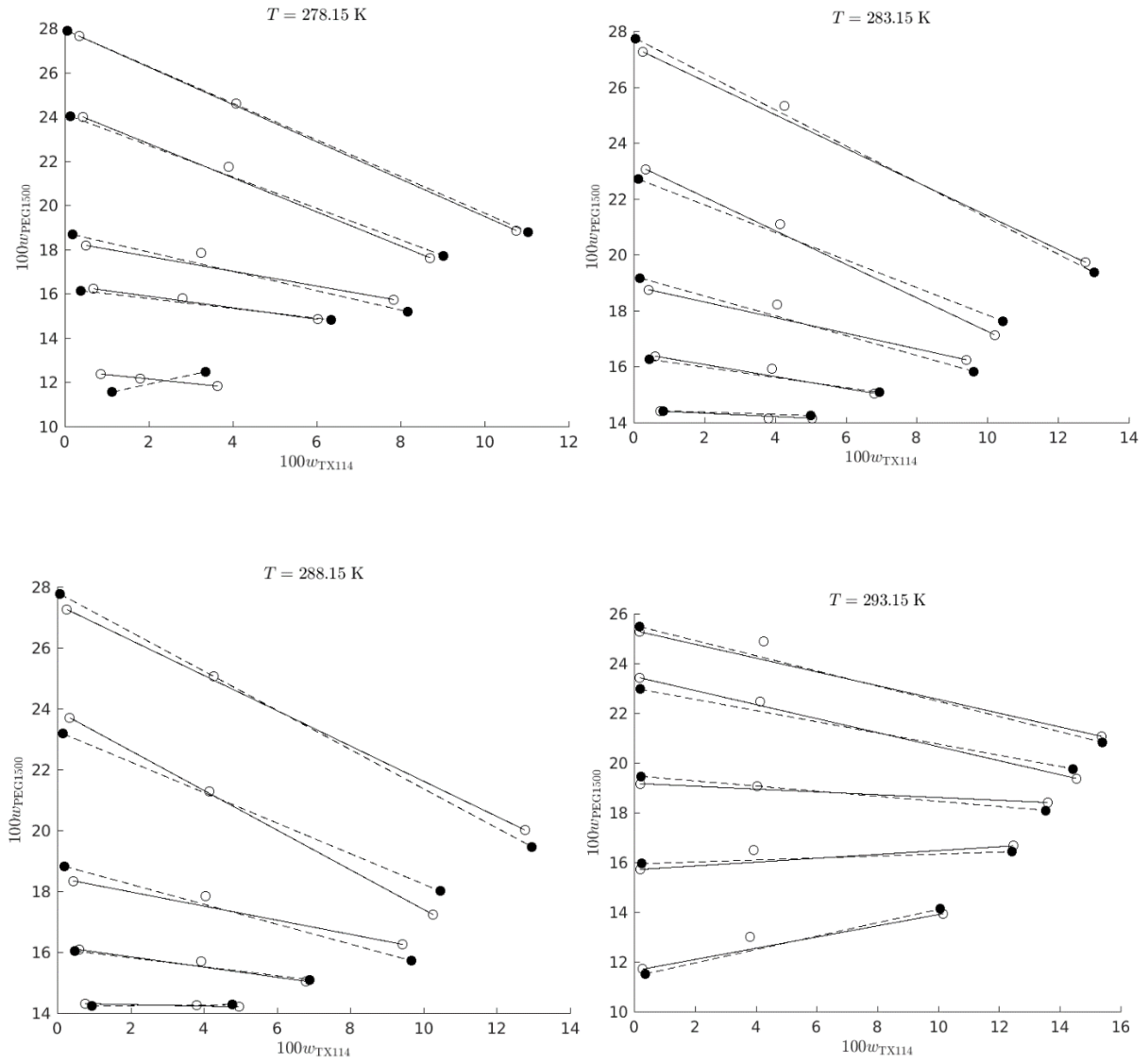
As Figuras 1.33, 1.34, 1.35 mostra a confiabilidade do modelo Flory-Huggins, no qual compara as linhas de amarração experimentais com as linhas de amarração recuperadas pelo modelo para o sistema formado por Triton X-114+ PEG + água a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K. Pode ser visto nas figuras que o modelo Flory-Huggins pode descrever o diagrama de fase do sistema polímero/surfactante não iônico com razoável acordo. Além disso, o melhor efeito de encaixe poderia ser observado obviamente, se as moléculas de surfactante fossem consideradas como moléculas micelares. A partir das Figuras é possível constatar que o modelo Flory-Huggins pode prever as composições de fase para o SABM do tipo polímero/surfactante não-iônico com baixos valores de desvio padrão.

Figura 1.33 – Correlação entre os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido do sistema PEG 400 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente, obtidos pelo modelo de Flory Huggins em que (---) experimental (—) teórico.



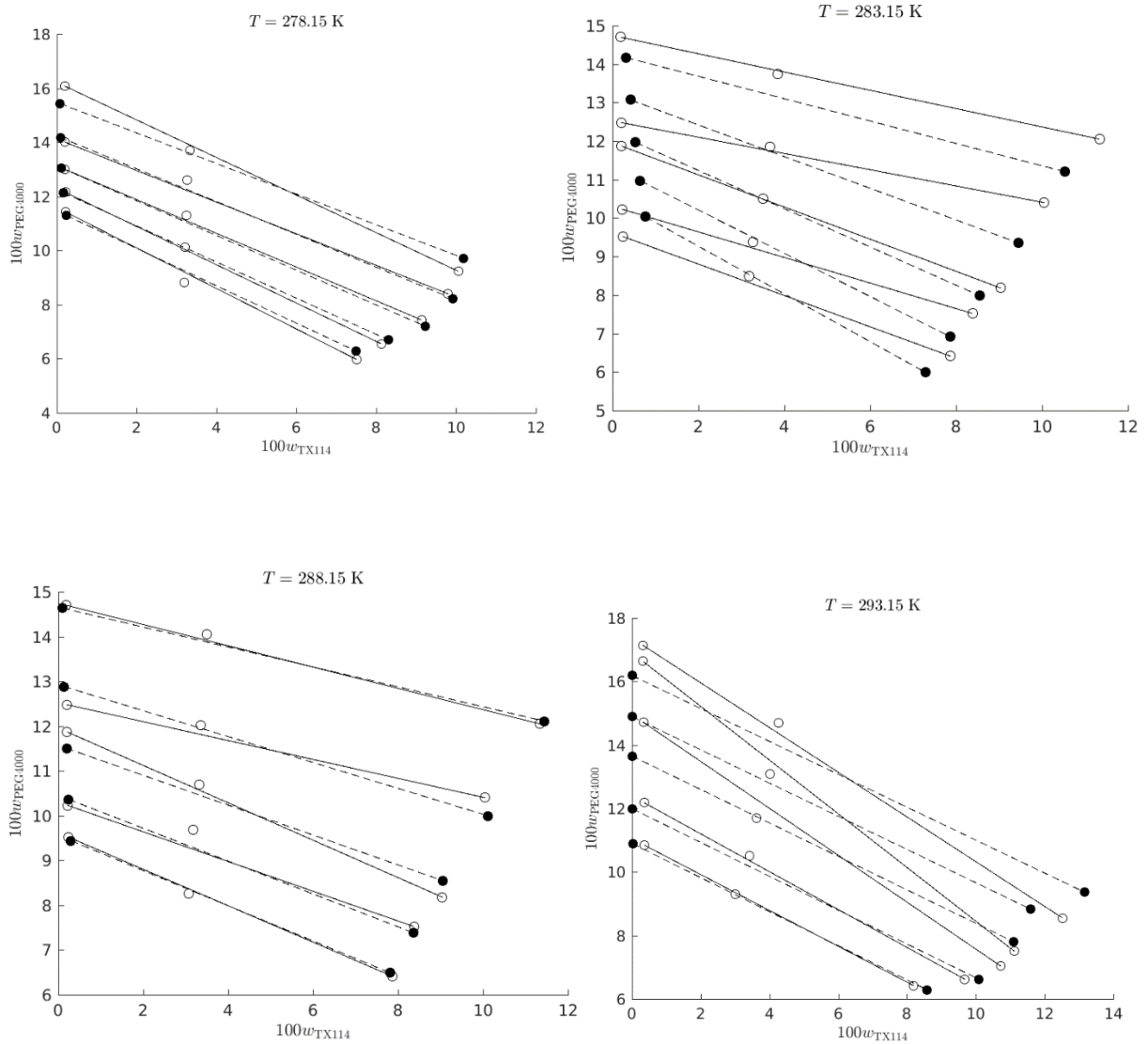
Fonte: Do autor

Figura 1.34 – Correlação entre os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido do sistema PEG 1500 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente, obtidos pelo modelo de Flory Huggins em que (---) experimental (____) teórico.



Fonte: Do autor

Figura 1.35 – Correlação entre os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido do sistema PEG 4000 g mol⁻¹ (1), Triton X-114 (2) e água (3) a 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K, respectivamente, obtidos pelo modelo de Flory Huggins em que (---) experimental (____) teórico.



Fonte: Do autor

1.6 CONCLUSÕES

O comportamento de fases para novos sistemas aquosos formados por PEG 400, 1500 ou 4000 g mol⁻¹ + Triton X-114 + água nas temperaturas de 278,15 K, 283,15 K, 288,15 K e 293,15 K foi estudado neste trabalho e os efeitos da alteração da massa molar do polímero e da temperatura no equilíbrio destes sistemas foram avaliados.

Observou-se que a elevação da temperatura, em ambos os SAB estudados, provocou um pequeno aumento na inclinação da linha de amarração (ILA), fato atribuído ao aumento da hidrofobicidade dos polímeros com a elevação da temperatura. Efeito semelhante também foi observado ao se elevar a massa molecular do polímero de 400 para 4000 g mol⁻¹ o que ocasionou o aumento do caráter hidrofóbico das moléculas de polímero, mas ambos efeitos foram muito discretos. Pode-se concluir que o efeito da temperatura dentro do intervalo de temperatura estudado não foi muito significativo, mas acredita-se que ocorra a formação de micelas de Triton X-114 dentro do sistema e essas interajam com as moléculas de PEG, principalmente na fase inferior. O que confere ao sistema aquoso bifásico micelar características distintas dos sistemas aquosos bifásicos formados por polímero e sal muito estudados na literatura, como a diferença de volume e viscosidade muito grande entre fases inferior e superior. Os diagramas de fases obtidos para os sistemas estudados diferem dos já conhecidos na literatura, a curva binodal possui um comportamento distinto quando comparada as curvas binodais de outros sistemas aquosos bifásicos. Os sistemas formados por PEG 4000 mostrou uma maior interação com as micelas de surfactante não iônico.

Os dados experimentais obtidos foram tratados com modelos termodinâmicos de modo a obter uma melhor compreensão e controle do comportamento físico-químico desses sistemas. As equações de Othmer-Tobias, Bancroft, Hand e Setschenow em suas formas lineares foram utilizadas para correlação das linhas de amarração. Também foram feitas correlações para as curvas binodais e aplicado o modelo de Flory-Huggins para descrever o comportamento do sistema estudado, onde é possível observar que as interações entre o surfactante não iônico e a água são as que mais contribuem para a estabilidade do sistema.

REFERÊNCIAS

1. O DESEMPENHO DA INDÚSTRIA QUÍMICA BRASILEIRA EM 2018. Disponível em <https://www.abiquim.org.br/uploads/guiasestudos/LivretoDesempenhodaInd%C3%BAstriaQu%C3%ADmica%20Brasileira%20R4-Abiquim%20DIGITAL.pdf>. Acesso em: 10 julho. 2019.
2. ALBERTSSON, P.-Á. **Partition of cell particles and macromolecules**, 3 ed, Wiley, New York, 1986.
3. SILVA, L. H. M. et al. Sistemas aquosos bifásicos: fundamentos e aplicações para partição/purificação de proteínas. **Química Nova**, v. 29.6: p. 1345-1351, 2006.
4. LI, B.; FU, J. Interfacial tensions of two-liquid-phase ternary systems. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 37, n. 2, p. 172-174, 1992.
5. DA SILVA PADILHA, G. et al. Efeitos do pH e massa molar do polímero sobre o sistema bifásico aquoso PEG/fosfato. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 33, n. 1, p. 1-4, 2011.
6. 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, p. 20-26, 2009.
7. ZAZLAVSKY, B. Y. **Aqueous two-phase partitioning**. 1 ed. New York: Marcel Decker, 1995.
8. BRIDGES, N.J.; GUROWSKI, K. E.; ROGERS, R. D. Investigation of aqueous biphasic systems formed from solutions of chaotropic salts with kosmotropic salts (salt-salt ABS). **Green Chem.** n. 9, p. 177-183, 2007.
9. NAN, Y.; LIU, H.; HU, Y. Interfacial tension in phase-separated aqueous cationic/anionic surfactant mixtures. **Journal of colloid and interface science**, v. 293, n. 2, p. 464-474, 2006.
10. PATRA, D.; BARAKAT, C. Unique role of ionic liquid BmimBF₄ during curcumin-surfactant association and micellization of cationic, anionic and non-ionic surfactant solutions. **Spectrochimica Acta A**, n. 79, p. 1823-1828, 2011.
11. VALAVI, M. et al. Calculation of the Density and Activity of Water in Aqueous Two-Phase Systems for Separation of Biomolecules. **Journal of Solution Chemistry**, v. 42, n. 7, p. 1423-1437, 2013.
12. DA SILVA, M. C. H. et al. Sistema aquoso bifásico: uma alternativa eficiente para extração de íons. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1332-1339, 2006.
13. ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green chemistry: principles and practice. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 1, p. 301-312, 2010.
14. PHONG, W. N. et al. Recovery of biotechnological products using aqueous two-phase systems. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 126, n. 3, p. 273-281, 2018.
15. CHEN, J. et al. First investigation of the micelles forming in a novel deep eutectic solvents-based aqueous micellar two-phase system: partitioning of cationic/neutral/anionic pigments. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 2019.

16. MOHAMMAD, Faqeer. Natural colorants in the presence of anchors so-called mordants as promising coloring and antimicrobial agents for textile materials. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 3, n. 10, p. 2361-2375, 2015.
17. SANTOS-EBINUMA, V. C. et al. Behavior of Triton X-114 cloud point in the presence of inorganic electrolytes. **Fluid Phase Equilibria**, v. 360, p. 435-438, 2013.
18. SANZ, E., VEGA, C., ABASCAL, J. L. F., MACDOWELL, L. G. Phase Diagram of Water from Computer Simulation. **Physical Review Letters**, v.92(25), 2004.
19. ARCHER, D. G., WANG, P. The Dielectric Constant of Water and Debye-Hückel Limiting Law Slopes. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v.19, p.371-411, 1990.
20. SCIORTINO, F., POOLE, P.; STANLEY, H. E., HAVLIN, S. Lifetime of the Hydrogen Bond Network and Gel-Like Anomalies in Supercooled Water. **Phys. Rev. Lett.** 64, p. 1686-1689,1990.
21. SCIORTINO, F., GEIGER, A., STANLEY, H. E. Effect of defects on molecular mobility in liquid water. **Nature**, v. 354 p. 218-239, 1991.
22. SCIORTINO, F., GEIGER, A., STANLEY, H. E. Network defects and molecular mobility in liquid water. **The Journal of chemical physics**, v. 96(5), p. 3857-3865, 1992.
23. DJIKAEV, Y. RUCKENSTEIN, E. “Recent developments in the theoretical, simulational, and experimental studies of the role of water hydrogen bonding in hydrophobic phenomena”. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.235, p.23, 2016.
24. DALTIN, D.; **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Blucher, 2011.
25. TERAOKA, A. A., TERAOKA, I. **Polymer solutions: an introduction to physical properties**. Chichester: John Wiley & Sons, 2002.
26. CANEVAROLO JR., SEBASTIÃO V. **Ciência dos polímeros**. São Paulo: Artiliber editora, 2002, p. 110-115.
27. MILLER-CHOU, B. A., KOENIG, J. L. A review of polymer dissolution. **Progress in Polymer Science**, v. 28, n. 8, p. 1223-1270, 2003.
28. EBEWELE, Robert O. **Polymer science and technology**. Florida: CRC press, 2000.
29. SAEKI, Susumu. Calculation of combinatory entropy in complex polymer solutions based on the Flory-Huggins theory. **Fluid phase equilibria**, v. 136, n. 1-2, p. 79-85, 1997.
30. FLORY, Paul J. **Principles of polymer Chemistry**. Cornell University Press, 1953.
31. HUGGINS, Maurice L. Solutions of long chain compounds. **The Journal of Chemical physics**, v. 9, n. 5, p. 440-440, 1941.
32. SPITZER M., Loh W., **Determinação de parâmetros de interação polímero e solvente**. Tema de estudo da disciplina: Físico-químicas de Soluções de Polímeros e Surfactantes. 2001.

33. VIRTUOSO, L.S, **Aplicação de Métodos Numéricos Avançados na Resolução de Problemas Inversos ill-posed Relacionados a Teoria de Soluções**. Tese Doutorado. UFMG, Belo Horizonte, 2005.
34. ROSSI, C. G. F. T. et al. Tensoativos: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Revista Universitária Rural**, v. 25, n. 1-2, p. 59-71, 2006.
35. ROSEN, M.J., DAHANAYAKE, M., **Industrial Utilization of Surfactants: Principles and Practice**. Urbana: AOCS Press, 2000.
36. PISÁRČIK, M, DEVÍNSKY, F, PUPÁK, M. Determination of micelle aggregation numbers of alkyltrimethylammonium bromide and sodium dodecyl sulfate surfactants using time-resolved fluorescence quenching. **Open Chemistry**, v. 13, n. 1, 2015.
37. MANIASSO, N. et al. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 87-93, 2001.
38. EVANS, D. F., MITCHELL, D. J., NINHAM, B. W. Oil, water, and surfactant: properties and conjectured structure of simple microemulsions. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 90, n. 13, p. 2817-2825, 1986.
39. ROSEN, M. J., KUNJAPPU, J. T. **Surfactants and interfacial phenomena**. Chichester: John Wiley & Sons, 2012.
40. SARMIENTO, F. et al. Thermodynamics of micelle formation of chlorhexidinedigluconate. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 99, n. 49, p. 17628-17631, 1995.
41. 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.
42. CORKILL, J. M. et al. Thermodynamics of micellization of alkylsulphinyllalkanols. **Transactions of the Faraday Society**, v. 62, p. 987-993, 1966.
43. 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.
44. EVANS, D.F., WENNERSTROM, H., **The colloidal domain: where physics, chemistry, and biology meet**. New York: Wiley-vch, 1999.
45. DILL, K. A., FLORY, P. J. Molecular organization in micelles and vesicles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 2, p. 676-680, 1981.
46. HOQUE, Md A. et al. Physico-chemical investigation of mixed micelle formation between tetradecyltrimethylammonium bromide and dodecyltrimethylammonium chloride in water and aqueous solutions of sodium chloride. **Journal of Solution Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 682-703, 2017.

47. FRANK, H. S. & EVANS, M. W. "Free Volume and Entropy in Condensed Systems III. Entropy in Binary Liquid Mixtures, Partial Molal Entropy in Dilute Solutions, Structure and Thermodynamics in Aqueous Electrolytes". **The Journal of Chemical Physics**, 13: 507, 1945.
48. MEDOS, Z. & BESTER-ROGAC, M. "Two-Step Micellization Model: The Case of Long-Chain Carboxylates in Water". **Langmuir**, 33: 7722, 2017.
49. FLORÊNCIO, T. C. R. M. **Desenvolvimento de processos para obtenção de novos tensoativos a partir de óleos vegetais**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Rio Grande do Norte. Natal, 1995.
50. MYERS, D. et al. **Surfaces, interfaces, and colloids**. New York etc.: Wiley-Vch, 1999.
51. GALGANO, Paula Decot. **Líquidos iônicos tensoativos: correlação entre estrutura molecular e propriedades micelares de cloretos de 1, 3-dialquilimidazólio**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2012.
52. RUCKENSTEIN, Eli. Thermodynamics of Microemulsions II. **Handbook of Microemulsion Science and Technology**, p. 45-58, 2018.
53. KRONBERG, B., LINDMAN, B. **Surfactants and polymers in aqueous solution**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2003.
54. VICENTE, F. A. et al. Impact of surface-active ionic liquids on the cloud points of nonionic surfactants and the formation of aqueous micellar two-phase systems. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 121, n. 37, p. 8742-8755, 2017.
55. JUNIOR, J. A. (2006). **Efeito hidrofóbico de macromoléculas sobre a partição de cianocomplexos em sistemas aquosos bifásicos**. Dissertação de mestrado, UFV, Viçosa, 2006.
56. RAICU, V. et al. Effects of cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) surfactant upon the dielectric properties of yeast cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1379, n. 1, p. 7-15, 1998.
57. DOMÍNGUEZ, A. et al. Determination of critical micelle concentration of some surfactants by three techniques. **Journal of chemical education**, v. 74, n. 10, p. 1227, 1997.
58. BEIJERINCK, M. W. Ueber Emulsionsbildung bei der Vermischung wässriger lösungen gewisser gelatinierender kolloide. **Colloid & Polymer Science**, v. 7, n. 1, p. 16-20, 1910.
59. SCHINDLER, J., NOTHWANG, H. G. Aqueous polymer two-phase systems: effective tools for plasma membrane proteomics. **Proteomics**, v. 6, n. 20, p. 5409-5417, 2006.
60. ALBERTSSON, P. et al. Partition of proteins in aqueous polymer two-phase systems and the effect of molecular weight of the polymer. **Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 926, n. 1, p. 87-93, 1987.

61. RODRIGUES, G. D. et al. A green and sensitive method to determine phenols in water and wastewater samples using an aqueous two-phase system. **Talanta**, v. 80, n. 3, p. 1139-1144, 2010.
62. DE LEMOS, L. R. et al. Copper recovery from ore by liquid–liquid extraction using aqueous two-phase system. **Journal of hazardous materials**, v. 237, p. 209-214, 2012.
63. IQBAL, M. et al. Aqueous two-phase system (ATPS): an overview and advances in its applications. **Biological procedures online**, v. 18, n. 1, p. 18, 2016.
64. RENGIFO, A. F. C., FERREIRA, G. M. D., FERREIRA, G. M. D., 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.
- 65 - CISTOLA, D. P., HAMILTON, J. A., JACKSON, D., & SMALL, D. M. Ionization and phase behavior of fatty acids in water: application of the Gibbs phase rule. **Biochemistry**, v. 27(6), p. 1881-1888, 1988.
66. DE SOUZA MONTEIRO FILHO, Elias. Sistemas aquosos bifásicos: uma alternativa para purificação de biomoléculas e simulação de sistemas líquidos complexos. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 1, n. 1, 2013.
67. ROGERS, R. D. Controlling the Aqueous Miscibility of Ionic Liquids: Aqueous Biphasic Systems of Water-Miscible Ionic Liquids and Water-Structuring Salts for Recycle, Metathesis, and Separations. **JACS**, n. 125, p. 6632-6633, 2003.
68. SILVÉRIO, S. C., RODRÍGUEZ, O., TEIXEIRA, J. A., 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, p. 1063-1069, 2010.
69. LISSI, E. A., ABUIN, E. Aggregation numbers of sodium dodecyl sulfate micelles formed on poly (ethylene oxide) and poly (vinyl pyrrolidone) chains. **Journal of colloid and interface science**, v. 105, n. 1, p. 1-6, 1985.
70. BARBOSA, A. M. et al. Microcalorimetric and SAXS determination of PEO– SDS interactions: the effect of Cosolutes formed by ions. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 37, p. 11967-11974, 2010.
71. GUZMÁN, E. et al. Polymer–surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. **Advances in colloid and interface science**, v. 233, p. 38-64, 2016.
72. KHAN, N, BRETTMANN, B. Intermolecular Interactions in Polyelectrolyte and Surfactant Complexes in Solution. **Polymers**, v. 11, n. 1, p. 51, 2019.
73. 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.

74. MAGALHÃES, P. O. et al. Methods of endotoxin removal from biological preparations: a review. **J Pharm Sci**, v. 10, n. 3, p. 388-404, 2007.
75. 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.
76. SANTIAGO, M. M. et al. Aplicação da extração em ponto-nuvem para determinação de cádmio e níquel em água através de complexos ditiocarbamatos. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 1, 2018.
77. NIKAS, Y. J. et al. Protein partitioning in two-phase aqueous nonionic micellar solutions. **Macromolecules**, v. 25, n. 18, p. 4797-4806, 1992.
78. RACHEVA, R. et al. Aqueous food-grade and cosmetic-grade surfactant systems for the continuous countercurrent cloud point extraction. **Separation and Purification Technology**, v. 202, p. 76-85, 2018.
79. TORRES, F. A. E. et al. Imidazolium-based ionic liquids as co-surfactants in aqueous micellar two-phase systems composed of nonionic surfactants and their aptitude for recovery of natural colorants from fermented broth. **Separation and Purification Technology**, v. 196, p. 262-269, 2017.
80. XIE, H, WANG, Y, SUN, Mi. 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.
81. LIU, Y. et al. Partitioning of biomolecules in aqueous two-phase systems of polyethylene glycol and *nonionic* surfactant. **Biochemical Engineering Journal**, v. 69, p. 93-99, 2012.
82. 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.
83. 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.
84. 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.
85. JARAMILLO, P. M. D. et al. Liquid–liquid extraction of pectinase produced by *Aspergillus oryzae* using aqueous two-phase micellar system. **Separation and Purification Technology**, v. 120, p. 452-457, 2013.
86. MILOSEVIC, M. et al. Extractive concentration of aqueous salt solutions in aqueous two-phase systems. **Desalination**, v. 324, p. 99-110, 2013.

87. BLANCO, A. et al. Physicochemical characterization of aqueous two-phase systems containing Triton X-102 and sodium salts in the range of temperature from 288.15 K to 318.15 K. **Journal of Molecular Liquids**, v. 195, p. 1-8, 2014.
88. 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.
89. LIU, L. et al. (Liquid+ liquid) phase equilibrium of aqueous two-phase system containing (surfactant+ sodium sulfate+ water) at different temperatures. **Fluid Phase Equilibria**, v. 415, p. 25-33, 2016.
90. 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.
91. RITTER, E. et al. Influence of inorganic salts on the phase equilibrium of Triton X-114 aqueous two-phase systems. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 61, n. 4, p. 1496-1501, 2016.
92. GHOUAS, H. et al. Removal of tannic acid from aqueous solution by cloud point extraction and investigation of surfactant regeneration by microemulsion extraction. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 19, n. 1, p. 57-66, 2016.
93. CORDISCO, E. et al. Integrated extraction and purification of soy isoflavones by using aqueous micellar systems. **Food chemistry**, v. 213, p. 514-520, 2016.
94. ZHANG, Y. et al. A green method for extracting molybdenum (VI) from aqueous solution with aqueous two-phase system without any extractant. **Separation and Purification Technology**, v. 169, p. 151-157, 2016.
95. ZHAO, L., ZHANG, X., WANG, Z. Extraction of anionic dyes with ionic liquid–nonionic surfactant aqueous two-phase system. **Separation Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 804-811, 2017.
96. RITTER, E. et al. Influence of D-glucose as additive on thermodynamics and physical properties of aqueous surfactant two-phase systems for the continuous micellar extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 121, p. 149-162, 2017.
97. TAN, G. Y. T. et al. Recovery of mangostins from *Garcinia mangostana* peels with an aqueous micellar biphasic system. **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 233-240, 2017.
98. 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.
99. 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.

100. JAMALUDDIN, N., ARIFF, A. B., WONG, F. F. Purification of a Bacteriocin-Like Inhibitory Substance Derived from *Pediococcus acidilactici* Kp10 by an Aqueous Micellar Two-Phase System. **Biotechnology progress**, v. 35, n. 1, p. e2719, 2019.
101. CUI, Q. et al. Enhanced extraction and preconcentration of main target saponins from *Panax notoginseng* root using green and efficient formulated surfactant aqueous systems. **Journal of Cleaner Production**, v. 210, p. 1507-1516, 2019.
102. SILVA, S. J. B. e et al. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Two-Phase Systems Composed of Nonionic Surfactant (Triton X-100, Triton X-165, or Triton X-305) and Choline Chloride. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 64(4), p.1632-1639, 2019.
103. SANTOS, J. A. A. et al. Histomorphometric evaluation of the effects of the aqueous extract of annatto (norbixin) on wound skin healing in rats. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 637-643, 2014.
104. PRODUÇÃO MUNDIAL DE SEMENTES DE URUCUM. Disponível em <https://www.ourucum.com.br/mercado>. Acesso em: 20 junho. 2019.
105. ROCHA GARCIA, C. E. et al. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, 2012.
106. STRINGHETA, P. C., SILVA, P.I., COSTA, A. GV. Annatto/Urucum—*Bixa orellana*. In: Exotic Fruits. **Academic Press**, p. 23-30, 2018.
107. RIVERA-MADRID, R. et al. Preliminary studies toward genetic improvement of annatto (*Bixa orellana* L.). **Scientia Horticulturae**, n. 29, p.165-172, 2006.
108. KOVARY, K. et al. Biochemical behaviour of norbixin during in vitro DNA damage induced by reactive oxygen species. **British Journal of Nutrition**, n. 85, p.431-440, 2001.
109. ANTUNES, L. M. G. et al. Evaluation of the clastogenicity and anticlastogenicity of the carotenoid bixin in human lymphocyte cultures. **Mutation Research/genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, n. 585, p.113-119, 2005.
110. VILAR, D. de A. et al. Traditional uses, chemical constituents, and biological activities of *Bixa orellana* L.: a review. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.
111. CHAVES, M. H., COSTA, C. L. S. da. Extração de Pigmentos das Sementes de *Bixa orellana* L.: Uma Alternativa Para Disciplinas Experimentais de Química Orgânica. **Química Nova**, n. 28, p.149-152, 2004.
112. SILVEIRA, T. M. G., TAPIA-BLÁCIDO, Delia Rita. Is isolating starch from the residue of annatto pigment extraction feasible? **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 117-125, 2018.
113. SCOTTER, M. J. et al. Analysis of Annatto (*Bixa orellana*) Food Coloring Formulations. 2. Determination of Aromatic Hydrocarbon Thermal Degradation Products by Gas Chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, n. 48, p.484-488, 2000.

114. RANKIN, S. A., GALINDO-CUSPINERA, V, LUBRAN, M. B. Comparison of Volatile Compounds in Water- and Oil-Soluble Annatto (*Bixa orellana L.*) Extracts. **J. Agric. Food Chem**, n. 50, p.2010-2015, 2002.
115. PEDROSA, J. P., CIRNE, L. E. da M. R. & NETO, J. M. de M. “Teor de bixina e proteína em sementes de urucum em função do tipo e do período de armazenagem”. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 3, n.1, p. 121-123, 1999.
116. SILVA, L. H. M. da. et al. Thermodynamics and optimization of norbixin transfer processes in aqueous. **Separation and Purification Technology**, n.98, p.69-77, 2012.
117. MAGESTE, A. B. et al. Aqueous two-phase systems: An efficient, environmentally safe and economically viable method for purification of natural dye carmine. **Journal of Chromatography A**, v. 1216 p. 7623–7629, 2009.
118. RITO-PALOMARES, M, VÁZQUEZ-VILLEGAS, P, AGUILAR, O. Study of biomolecules partition coefficients on a novel continuous separator using polymer-salt aqueous two-phase systems. **Separation and Purification Technology**, n. 78, p.69-75, 2011.
119. HUDDLESTON, J. G. et al. Separation and recovery of food coloring dyes using aqueous biphasic extraction chromatographic resins. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 711, n. 1-2, p. 237-244, 1998.
120. SILVA, P. I., NACHTIGALL, A. M, STRINGHETA, P. C. Fatores que influenciam a reação de saponificação dos carotenóides presentes no urucum (*Bixa orellana L.*). **Ciência e agrotecnologia**, v. 33, p. 1892-1897, 2009.
121. PRESTON, H.D., RICKARD, M.D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, n. 5, p.47-56, 1980.
122. SATYANARAYANA, A., RAO, P. G. Prabhakara, RAO, D. G. Chemistry, processing and toxicology of annatto (*Bixa orellana L.*). **Journal Of Food Science And Technology**, n. 40, p.131-141, 2003.
123. SILVA, P. I., NACHTIGALL, A. M., & STRINGHETA, P. C. Eficiência de solventes na obtenção e caracterização de corantes de urucum (*Bixa orellana L.*). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, 28, 115-124, 2010.
124. MENDES, R. L. et al. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Pigments from *Bixa Orellana* Seeds (Experiments and Modeling). **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, Lisboa, Portugal, n. 2, p.251-258, 2006.
125. RAO, D.g. et al. Stability of bixin in annatto oleoresin and dye powder during storage. **Lwt - Food Science and Technology**, India, n. 39, p.952-956, 2006.
126. LUCCARINI, A. C., KILIKIAN, B. V., PESSOA JR, A. Precipitação. Purificação de produtos biotecnológicos, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 1, 2005.

127. MALPIEDI, L. P. et al. Aqueous micellar systems containing Triton X-114 and *Pichia pastoris* fermentation supernatant: A novel alternative for single chain-antibody fragment purification. **Separation and Purification Technology**, v. 132, p. 295-301, 2014.
128. APPUSAMY, A. et al. Removal of crystal violet dye from aqueous solution using triton X-114 surfactant via cloud point extraction. **Engineering Science and Technology, an International Journal**, v. 17, n. 3, p. 137-144, 2014.
129. ZACCARIM, B.R., et al., "Avaliação de sistemas micelares de duas fases aquosas compostos por triton x-114 e líquidos iônicos como adjuvantes na extração de colorantes". **Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n.4, p. 1447-1454, 2017.
130. CARVALHO, C. P. et al. Influence of the temperature and type of salt on the phase equilibrium of PEG 1500 + potassium phosphate and PEG 1500 + sodium citrate aqueous two-phase systems. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 209-213, 2008.
131. VIRTUOSO, L. S. et al. Measurement and modeling of phase equilibrium in aqueous two-phase systems: L35+ sodium citrate+ water, L35 sodium tartrate+ water, and L35+ sodium hydrogen sulfite+ water at different temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 57, n. 2, p. 462-468, 2012.
133. RAMALAKSHMI, S. et al. Liquid–liquid equilibrium of primary and secondary aqueous two-phase systems composed of sucrose+ Triton X-114+ water at different temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 59, n. 9, p. 2756-2762, 2014.
134. HAN, J. et al. Liquid-liquid equilibria of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate and sodium citrate/tartrate/acetate aqueous two-phase systems at 298.15 K: experiment and correlation. **Fluid Phase Equilibria**, n. 295, p. 98–103, 2010.
135. LOPES, A. M. et al. Can affinity interactions influence the partitioning of glucose-6-phosphate dehydrogenase in two-phase aqueous micellar systems? **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 998-1003, 2008.
136. PALEOLOGOS, E. K., GIOKAS, D. L., KARAYANNIS, Miltiades I. Micelle-mediated separation and cloud-point extraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 426-436, 2005.
137. LOMAX, E.G. (Ed.). **Amphoteric surfactants**. Florida: CRC Press, 1996.
138. 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.
139. MARTINS, J. P. et al. Liquid– liquid equilibrium of aqueous two-phase system composed of poly (ethylene glycol) 400 and sulfate salts. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 3, p. 1247-1251, 2009.
140. MARTINS, J. P. et al. Liquid–liquid equilibria of an aqueous two-phase system containing poly (ethylene) glycol 1500 and sulfate salts at different temperatures. **Journal of Chemical & engineering data**, v. 53, n. 1, p. 238-241, 2007.

141. ALVES, J. G. L. et al. Partitioning of whey proteins, bovine serum albumin and porcine insulin in aqueous two-phase systems. **J. Chromatogr. B**, n. 743, p. 235–239, 2004.
142. TUBIO, G. et al. Liquid-liquid equilibria of aqueous two-phase systems containing poly (ethylene glycols) of different molecular weight and sodium citrate. **Journal of Chemical & engineering data**, n. 51, p. 209–212, 2006.
143. OLIVEIRA, R. M. et al. Liquid-liquid equilibria of biphasic systems composed of sodium citrate + Polyethylene(glycol) 1500 or 4000 at different temperatures. **Journal of Chemical & engineering data**, n. 53, p. 895–899, 2008.
144. OTHMER, D., TOBIAS, P. Liquid-liquid extraction data-the line correlation. **Industrial & Engineering Chemistry**. v.34, p. 693-696, 1942.
145. OTHMER, D. F., TOBIAS, P. E. Liquid-liquid extraction data-toluene and acetaldehyde systems. **Industrial & Engineering Chemistry**. v.34, p. 690-692, 1942.
146. HAND, D. B. Dimeric distribution. **The Journal of Physical Chemistry**. v.34, p. 1961-2000, 1930.
147. SETSCHENOW, J. Über die konstitution der salzlösungen auf grund ihres verhaltens zu kohlenensäure. **Zeitschrift für Physikalische Chemie**. v.4, p. 117-125, 1889.
148. BARRUETO, Y., MUÑOZ, K., GARNICA, K., 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.
149. WANG, Y. et al. Phase diagrams of ammonium sulfate+ ethanol/1-propanol/2-propanol+ water aqueous two-phase systems at 298.15 K and correlation. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 2, p. 876-881, 2009.
150. LI, Yuliang et al. Liquid–liquid equilibria of ionic liquid N-ethylpyridinium tetrafluoroborate+ trisodium citrate/ammonium citrate tribasic/sodium succinate/sodium tartrate aqueous two-phase systems at 298.15 K. **Thermochimica acta**, v. 550, p. 5-12, 2012.
151. FOROUTAN, M. et al. Effect of temperature on the (liquid+ liquid) equilibrium for aqueous solution of nonionic surfactant and salt: Experimental and modeling. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, n. 7, p. 1077-1081, 2008.
152. DIAMOND, A. D., HSU, J. T. **Aqueous two-phase systems for biomolecule separation**. Bioseparation. Berlin: Springer, 1992. p. 89-135.
153. BORUAH, B. et al. Acid–base equilibrium of neutral red in aqueous nonionic surfactant–polymer systems. **Journal of Molecular Liquids**, v. 160, n. 1, p. 50-56, 2011.

APÊNDICE A

Tabela A1- Dados de composição de mistura no equilíbrio para o SAB formado por PEG 400 g mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H₂O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15;293,15) a K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.

LA	CLA	Composição Global ^b			Fase Superior ^b			Fase Inferior ^b			ILA
		100w1	100w2	100w3	100w1	100w2	100w3	100w1	100w2	100w3	
278,15 K											
1	2,16	14,92	2,08	83,00	14,94	1,01	84,05	14,53	3,88	84,05	-0,99
2	6,74	19,16	2,80	78,04	19,61	0,80	79,57	17,01	7,02	75,96	-0,42
3	9,04	21,18	3,24	75,64	21,86	0,60	77,55	18,85	9,13	72,02	-0,35
4	12,34	24,92	3,66	71,42	27,41	0,50	72,08	19,67	10,12	70,20	-0,80
5	14,87	28,53	4,08	67,39	31,09	0,40	68,52	22,46	12,51	65,01	-0,71
283,15 K											
1	3,24	17,03	2,80	80,17	17,74	0,89	81,58	16,96	4,03	78,99	-0,25
2	7,42	19,05	3,92	77,06	19,27	0,70	80,03	17,91	7,99	74,10	-0,19
3	11,04	21,50	4,05	74,45	22,01	0,50	77,50	18,79	11,06	70,16	-0,31
4	13,41	25,50	4,15	70,35	27,06	0,40	72,53	20,33	12,00	67,67	-0,58
5	17,52	28,23	4,27	67,50	30,64	0,31	69,05	21,14	15,03	63,53	-0,65
288,15 K											
1	5,29	16,56	3,80	79,64	16,56	0,73	82,75	16,58	6,02	77,41	0,00
2	8,13	19,05	3,92	77,03	20,03	0,64	79,33	17,28	9,65	73,08	-0,03
3	13,35	21,15	4,05	77,35	21,84	0,39	77,79	18,37	12,82	68,62	-0,29
4	15,66	25,03	4,15	70,82	26,77	0,26	72,97	20,07	14,41	65,56	-0,47
5	21,05	28,15	4,27	66,33	30,54	0,21	69,24	21,64	15,25	63,11	-0,61
293,15 K											
1	4,38	17,03	3,92	79,05	17,25	0,90	81,84	16,78	5,25	77,93	-0,11
2	8,09	20,05	4,05	76,03	20,65	0,82	78,03	17,65	8,34	74,10	-0,40
3	12,02	23,04	4,15	72,81	24,98	0,62	74,50	18,96	11,03	70,05	-0,58
4	15,34	26,53	4,27	68,32	29,29	0,56	70,16	20,27	12,96	66,78	-0,73
5	21,45	31,23	4,80	63,97	35,24	0,45	64,36	21,22	16,68	62,10	-0,86

Fonte: Do autor

Nota: ^a As incertezas (σ) da temperatura e pressão são: $\sigma(T)=0,05$ K e $\sigma(p)=0,5$ kPa, respectivamente.

^b 100w1, 100w2 e 100w3 representam a percentagem mássica de PEG 400 g mol⁻¹, Triton X-114 e água, respectivamente, e o erro (e) associado é $e = (\sum SN1 \rightarrow 3) Vm / x100 \leq 4,20\%$, onde S é o desvio padrão médio para os quatro sistemas avaliados. A incerteza padrão da fração mássica é $\sigma(w) \leq 0,4\%$. O comprimento de amarração (CLA) e valores da inclinação da linha de amarração (ILA) foram calculados a partir das equações (34) e (35), respectivamente.

Tabela A2 - Dados de composição de mistura da curva binodal para o sistema formado por PEG 400 g mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H₂O (3), as temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.

278,15 K		283,15 K		288,15 K		293,15 K	
<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>
38,65	0,36	39,40	0,27	46,24	0,13	38,65	0,32
36,75	0,40	37,43	0,32	43,76	0,18	37,65	0,34
35,17	0,43	34,58	0,34	39,89	0,21	34,78	0,36
32,38	0,46	33,18	0,36	36,65	0,23	33,38	0,36
31,26	0,46	32,01	0,36	33,90	0,25	32,20	0,37
29,33	0,47	30,01	0,37	31,53	0,27	30,18	0,37
28,41	0,47	28,14	0,37	29,47	0,29	28,31	0,39
25,49	0,49	27,21	0,39	27,66	0,30	27,37	0,39
22,06	0,50	24,79	0,42	26,06	0,32	26,57	0,41
18,35	0,59	22,69	0,43	24,03	0,32	24,57	0,41
15,07	0,77	19,55	0,54	20,01	0,45	22,71	0,43
14,03	1,07	17,77	0,68	18,46	0,61	20,16	0,54
13,51	1,75	16,22	0,85	17,19	0,67	17,74	1,25
13,49	2,31	15,55	1,54	15,16	0,87	15,36	1,85
13,48	2,39	15,55	2,19	14,68	1,64	15,23	2,51
13,28	2,92	15,48	2,89	14,60	2,44	15,23	2,79
13,28	3,17	15,35	3,25	14,21	2,50	15,20	3,33
13,26	3,61			13,99	3,35	15,18	3,75
				13,97	4,29	15,14	4,46
				13,91	5,21		

Fonte: Do autor

Nota: ^a As incertezas (σ) da temperatura e pressão são: $\sigma(T)=0,05$ K e $\sigma(p)=0,5$ kPa, respectivamente.

^b 100w1 e 100w2 representam a percentagem mássica de PEG 400 g mol⁻¹, Triton X-114 e água, respectivamente, e o erro (e) associado é $e = (\Sigma SN1 \rightarrow 3) Vm / x100 \leq 5,30\%$, onde S é o desvio padrão médio para os quatro sistemas avaliados. A incerteza padrão da fração mássica é $\sigma(w) \leq 0,5\%$

Tabela A3 - Dados de composição de mistura no equilíbrio para o SAB formado por PEG 1500 g mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H₂O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.

LA	CLA	Composição Global ^b			Fase Superior ^b			Fase Inferior ^b			ILA
		100w1	100w2	100w3	100w1	100w2	100w3	100w1	100w2	100w3	
278,15 K											
1	2,83	12,15	1,80	86,05	12,37	0,86	88,09	11,82	3,64	84,57	-0,20
2	5,52	15,80	2,80	81,40	16,22	0,69	83,74	14,84	6,03	79,13	-0,26
3	7,73	17,82	3,24	78,56	18,18	0,51	81,56	15,73	7,84	76,43	-0,33
4	10,44	22,01	3,90	74,09	23,99	0,43	75,19	17,62	8,70	73,48	-0,77
5	13,63	25,60	4,08	70,32	27,64	0,34	71,44	18,85	10,76	70,39	-0,84
283,15 K											
1	4,29	14,15	3,80	82,05	14,40	0,76	84,73	14,15	5,04	80,18	-0,06
2	6,35	15,92	3,92	80,16	16,37	0,60	83,47	15,04	6,80	78,23	-0,21
3	9,32	18,22	4,05	77,73	18,75	0,42	80,64	16,24	9,40	74,58	-0,28
4	11,51	21,10	4,15	74,75	23,06	0,34	76,27	17,13	10,21	72,35	-0,60
5	14,62	25,32	4,27	70,41	27,26	0,26	72,21	19,72	12,78	67,26	-0,60
288,15 K											
1	4,21	14,25	3,80	81,96	14,30	0,76	84,95	14,20	4,96	80,84	-0,03
2	6,27	15,69	3,92	80,39	16,08	0,59	83,26	15,04	6,78	78,22	-0,17
3	9,24	17,83	4,04	78,14	18,34	0,43	81,60	16,25	9,43	74,27	-0,23
4	11,84	21,29	4,15	74,58	23,70	0,34	75,14	17,23	10,26	72,29	-0,65
5	14,46	25,06	4,28	70,68	27,26	0,26	72,56	20,01	12,77	67,29	-0,58
293,15 K											
1	10,13	13,00	3,80	83,20	11,70	0,28	87,98	13,93	10,16	75,92	0,23
2	12,31	16,50	3,92	79,58	15,71	0,20	84,07	16,66	12,47	70,91	0,08
3	13,43	19,05	4,05	76,90	19,16	0,19	80,46	18,40	13,60	68,31	-0,06
4	14,92	22,45	4,15	73,40	23,42	0,18	76,34	19,37	14,54	66,58	-0,28
5	15,77	24,88	4,27	70,85	25,27	0,18	74,62	21,06	15,38	63,59	-0,28

Fonte: Do autor

Nota: ^a As incertezas (σ) da temperatura e pressão são: $\sigma(T)=0,05$ K e $\sigma(p)=0,5$ kPa, respectivamente.

^b 100w1, 100w2 e 100w3 representam a percentagem mássica de PEG 1500 g mol⁻¹, Triton X-114 e água, respectivamente, e o erro (e) associado é $e = (\sum SN_{1 \rightarrow 3}) Vm / x100 \leq 4,20\%$, onde S é o desvio padrão médio para os quatro sistemas avaliados. A incerteza padrão da fração mássica é $\sigma(w) \leq 0,4\%$. O comprimento de amarração (CLA) e valores da inclinação da linha de amarração (ILA) foram calculados a partir das equações (34) e (35), respectivamente.

Tabela A4 - Dados de composição de mistura da curva binodal para o sistema formado por PEG 1500 g mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H₂O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.

278,15 K		283,15 K		288,15 K		293,15 K	
<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>
38,15	0,28	44,01	0,15	42,70	0,31	43,72	0,19
31,29	0,29	41,78	0,19	39,16	0,32	38,72	0,19
28,24	0,30	39,75	0,23	36,16	0,34	34,75	0,19
23,16	0,40	37,76	0,28	32,56	0,34	32,49	0,20
21,25	0,45	34,86	0,30	31,47	0,34	29,64	0,20
18,91	0,50	33,44	0,33	27,86	0,35	25,84	0,20
17,04	0,55	32,25	0,33	23,86	0,35	23,42	0,20
16,30	0,61	30,21	0,33	22,72	0,35	21,90	0,21
14,68	0,70	27,56	0,33	22,18	0,35	17,99	0,21
14,17	0,74	26,74	0,34	20,36	0,37	17,37	0,21
13,30	0,79	24,10	0,34	17,10	0,49	14,54	0,23
12,39	0,88	21,18	0,36	14,89	0,70	13,02	0,31
11,94	0,94	19,08	0,43	13,37	0,91	12,09	0,52
11,51	1,47	16,05	0,60	12,98	1,29	11,05	1,58
11,49	1,51	15,30	0,78	12,89	1,65	10,98	2,09
11,39	1,78	14,78	1,05	12,89	1,96	10,87	2,28
11,32	1,84	14,48	1,63	12,80	2,02	10,74	2,97
11,31	1,94	14,44	1,93	12,70	2,58	10,74	3,07
11,29	2,23	14,34	2,18	12,47	3,02	10,69	3,19
11,18	2,62	14,18	2,71	12,42	3,39	10,63	3,32
11,14	3,15	14,13	3,04	12,38	3,73	10,46	3,80
		14,11	3,16	12,36	4,21	10,46	4,47
		14,07	3,58			10,27	6,37
		13,76	4,21			10,15	7,76

Fonte: Do autor

Nota: ^a As incertezas (σ) da temperatura e pressão são: $\sigma(T)=0,05$ K e $\sigma(p)=0,5$ kPa, respectivamente.

^b 100w1 e 100w2 representam a percentagem mássica de PEG 1500 g mol⁻¹, Triton X-114 e água, respectivamente, e o erro (e) associado é $e = (\Sigma SN1 \rightarrow 3) Vm / x100 \leq 5,30\%$, onde S é o desvio padrão médio para os quatro sistemas avaliados. A incerteza padrão da fração mássica é $\sigma(w) \leq 0,5\%$

Tabela A5 - Dados de composição de mistura no equilíbrio para o SAB formado por PEG 4000 g mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H₂O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15;293,15) a K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.

LA	CLA	Composição Global ^b			Fase Superior ^b			Fase Inferior ^b			ILA
		100w1	100w2	100w3	100w1	100w2	100w3	100w1	100w2	100w3	
278,15 K											
1	9,10	8,81	3,19	89,22	11,42	0,23	86,80	5,97	7,51	86,52	-0,75
2	10,34	10,12	3,21	87,17	12,15	0,22	87,39	6,55	8,13	83,79	-0,63
3	10,53	11,31	3,25	85,49	13,00	0,21	88,19	7,43	9,14	83,43	-0,62
4	11,11	12,61	3,27	84,13	14,01	0,20	85,90	8,40	9,80	81,70	-0,58
5	12,00	13,70	3,34	82,96	16,08	0,20	84,90	9,23	10,06	80,51	-0,69
283,15 K											
1	7,49	8,50	3,17	88,06	9,52	0,24	88,62	6,41	7,87	86,64	-0,74
2	8,16	9,37	3,27	87,36	10,23	0,22	87,32	7,52	8,38	85,38	-0,70
3	8,92	10,50	3,51	85,99	11,87	0,21	87,48	8,18	9,04	84,71	-0,66
4	9,91	11,85	3,66	84,49	12,48	0,20	87,69	10,40	10,05	83,62	-0,80
5	9,92	13,74	3,85	82,41	14,70	0,19	89,82	12,05	11,34	82,91	-0,78
288,15 K											
1	8,24	8,26	3,07	88,67	9,52	0,24	90,24	6,41	7,87	85,72	-0,41
2	8,59	9,68	3,18	87,14	10,23	0,22	89,57	7,52	8,38	84,10	-0,33
3	9,56	10,69	3,31	86,62	11,87	0,21	87,92	8,18	9,04	82,78	-0,42
4	10,06	12,02	3,36	86,00	12,48	0,20	87,32	10,40	10,05	79,55	-0,21
5	11,46	14,05	3,49	82,46	14,70	0,19	85,11	12,05	11,34	76,61	-0,24
293,15 K											
1	9,88	9,29	3,01	88,70	10,84	0,37	90,01	6,42	8,19	84,74	-0,61
2	10,85	10,50	3,41	87,40	12,18	0,36	89,45	6,62	9,68	83,01	-0,60
3	12,92	11,70	3,63	85,27	14,71	0,34	87,24	7,03	10,73	81,78	-0,74
4	14,15	13,08	4,02	83,99	16,64	0,32	86,58	7,50	11,12	79,71	-0,85
5	14,94	14,70	4,27	82,03	17,15	0,31	84,98	8,55	12,52	76,14	-0,70

Fonte: Do autor

Nota: ^a As incertezas (σ) da temperatura e pressão são: $\sigma(T)=0,05$ K e $\sigma(p)=0,5$ kPa, respectivamente.

^b 100w1, 100w2 e 100w3 representam a percentagem mássica de PEG 4000 g mol⁻¹, Triton X-114 e água, respectivamente, e o erro (e) associado é $e = (\sum SN1 \rightarrow 3) Vm / x100 \leq 4,20\%$, onde S é o desvio padrão médio para os quatro sistemas avaliados. A incerteza padrão da fração mássica é $\sigma(w) \leq 0,4\%$. O comprimento de amarração (CLA) e valores da inclinação da linha de amarração (ILA) foram calculados a partir das equações (34) e (35), respectivamente.

Tabela A6 - Dados da curva binodal para o sistema formado por PEG 4000 g mol⁻¹ (1) + Triton X-114 (2) + H₂O (3), nas temperaturas (278,15; 283,15; 288,15; 293,15) K e pressão atmosférica de (≈94 kPa), expressos em percentagem mássica.

278,15 K		283,15 K		288,15 K		293,15 K	
<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>	<i>100w^b1</i>	<i>100w^b2</i>
26,87	0,29	30,16	0,26	31,56	0,25	28,27	0,32
24,35	0,29	29,09	0,27	30,49	0,25	26,74	0,34
23,44	0,29	27,32	0,27	28,56	0,26	23,84	0,34
22,34	0,29	25,68	0,29	27,68	0,26	22,93	0,35
20,74	0,31	22,98	0,29	26,85	0,26	21,84	0,35
18,50	0,31	22,83	0,29	23,98	0,27	19,23	0,35
16,64	0,31	21,65	0,29	22,71	0,27	17,53	0,35
15,22	0,31	19,55	0,31	20,15	0,27	16,13	0,36
11,31	0,32	17,62	0,31	17,73	0,28	14,32	0,36
10,21	0,34	15,99	0,31	16,23	0,29	10,42	0,37
8,21	0,49	13,44	0,32	14,93	0,30	9,13	0,88
7,07	0,82	12,82	0,33	12,92	0,31	7,92	1,56
6,90	1,15	10,01	0,34	10,72	0,33	7,53	1,92
6,38	1,55	8,19	0,50	8,93	0,38	7,48	2,12
6,36	1,93	7,29	0,75	8,20	0,52	7,34	2,35
6,35	2,17	7,04	0,95	6,73	0,98	7,29	2,41
6,33	2,28	7,00	1,39	6,71	1,45	7,26	2,47
6,30	2,36	6,92	1,85	6,69	1,88	7,17	2,77
6,30	2,58	6,92	2,19	6,62	2,05	7,13	2,86
6,23	2,99	6,92	2,30	6,59	2,39	7,09	2,94
6,23	3,12	6,92	2,49	6,56	2,53	6,98	3,38
6,21	3,38	6,92	2,56	6,53	2,93	6,94	3,66
6,20	3,52	6,84	2,84	6,53	3,44	6,92	3,84
6,18	3,68	6,76	3,14	6,47	3,78	6,81	4,68
6,09	4,29	6,65	3,67	6,47	4,83	6,69	5,37
6,02	4,84	6,55	4,13	6,47	5,98	6,69	6,17
5,95	5,73	6,51	4,44	6,31	6,87	6,56	7,19

Fonte: Do autor

Nota: ^a As incertezas (σ) da temperatura e pressão são: $\sigma(T)=0,05$ K e $\sigma(p)=0,5$ kPa, respectivamente.

^b 100w1 e 100w2 representam a percentagem mássica de PEG 4000 g mol⁻¹, Triton X-114 e água, respectivamente, e o erro (e) associado é $e = (\sum SN1 \rightarrow 3) Vm / x100 \leq 5,30\%$, onde S é o desvio padrão médio para os quatro sistemas avaliados. A incerteza padrão da fração mássica é $\sigma(w) \leq 0,5\%$

COMO O USO DE SURFACTANTES AFETA A PARTIÇÃO DO CORANTE DE URUCUM (*BIXA ORELLANA L.*) EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS FORMADOS POR SAL E POLÍMERO?

Resumo

Neste trabalho, a partição de pigmentos naturais de urucum em sistemas aquosos bifásicos formados por polietileno glicol (1500 ou 4000 ou 6000 g mol⁻¹) ou copolímero tribloco L35 (2000 g mol⁻¹) + citrato de sódio + água foi estudada na presença de brometo de cetiltrimetilamônio. A hipótese investigada foi de que o uso de surfactantes como aditivos em sistemas aquosos bifásicos tradicionais, podem melhorar a solubilidade do extrato de urucum nas fases desses sistemas através de um mecanismo de formação de micelas mistas. Isso torna possível implementar o uso desses sistemas no processo de extração de corante de urucum, assim vários experimentos foram realizados. A razão de distribuição do extrato de anato de urucum nos SAB foi determinada em função do pH, concentração do surfactante, massa molar e hidrofobicidade do polímero, comprimento da linha de amarração e natureza do eletrólito. Estes resultados mostraram o potencial do surfactante como agente modulador da transferência dos corantes entre as fases do sistema aquoso bifásico. O efeito como agente modulador foi atribuído à sua interação com a norbixina, interação estudada por meio de medidas de tensão superficial e espectrofotometria. Foi observado que a partição do extrato do anato é dependente da composição do sistema e da temperatura. Dentro dos valores de razão de distribuição encontrados no estudo de partição os menores valores de razão de distribuição foram obtidos na presença do surfactante, demonstrando o potencial dos sistemas aquosos bifásicos micelares na extração e/ou purificação do urucum.

Palavras-chave: Bixina. Norbixina. Sistemas aquosos bifásicos. Extração. Surfactante iônico. *Bixa orellana L.*

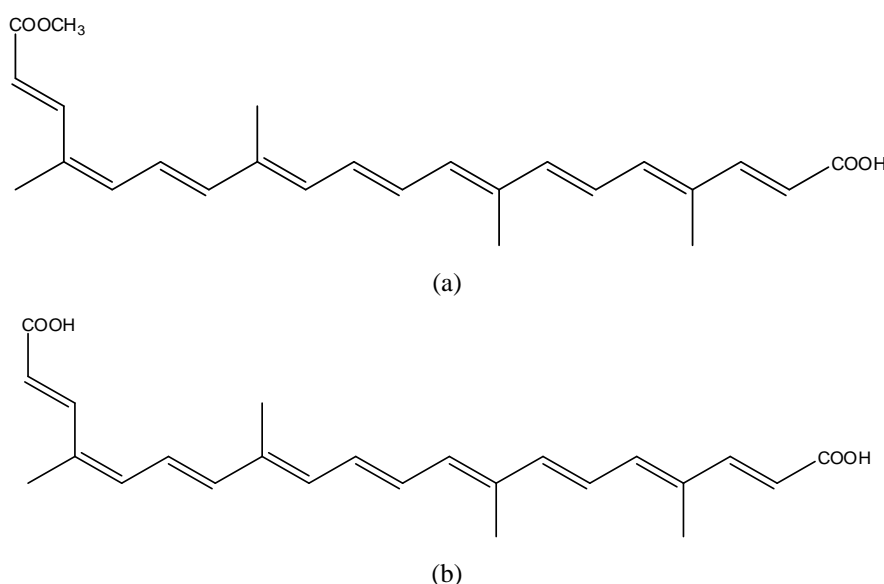
Trabalho publicado: *Fluid Phase Equilibria*, v. 478, p. 14-22, 25/12/2018.

2.1 INTRODUÇÃO

O uso de corantes sintéticos tem sido amplamente questionado, pois muitos desses compostos são carcinogênicos e/ou mutagênicos, e sua presença no meio aquático restringe a penetração da luz, afetando a fotossíntese. A toxicidade dos compostos sintéticos levou ao crescimento do mercado de corantes naturais, que já estão sendo usados nos setores alimentício, farmacêutico e de cosméticos, e como sensibilizadores de células solares.¹ Apesar das vantagens do uso de corantes naturais, eles podem ser difíceis de se obter, e há necessidade de métodos de extração que sejam eficientes, baratos, preservem as propriedades dos compostos e evitem a geração de resíduos tóxicos.

Entre os corantes naturais, o anato (E160b), extraído do pericarpo das sementes de *Bixa orellana* L., é utilizado mundialmente em grande escala, pois não apresenta a toxicidade encontrada para corantes sintéticos²⁻⁵ e pode ser utilizado em uma ampla gama de produtos industrializados. Os principais corantes extraídos das sementes de *Bixa orellana* L. são bixina e norbixina, cujas concentrações no extrato de urucum dependem do método de extração.⁶ Três processos são geralmente usados para obter urucum: i) extração em óleo, ii) extração em solvente orgânico e iii) extração em solução alcalina.⁶

Figure 2.1 - Estrutura química dos apocarotenoides: (a) bixina e (b) norbixina.



Fonte: Do autor

As diferenças estruturais entre a bixina (Figura 1 a) e a norbixina (Figura 1 b) levam a que esta última seja caracterizada como hidrossolúvel, devido à presença do grupo carboxila,

enquanto a primeira é lipossolúvel, devido à presença do grupo metil éster na molécula.⁶ A demanda por urucum aumentou significativamente devido a seu amplo espectro de cores, capacidade de interagir com proteínas lácteas, capacidade de ser usado em meios hidrofóbicos e hidrofílicos, não toxicidade e abundância.⁷ Portanto, é importante desenvolver métodos para a extração de urucum que sejam eficientes, ambientalmente seguros e economicamente viáveis.

Sistemas com duas ou mais fases líquidas em equilíbrio termodinâmico são muito úteis para extração e/ou purificação de compostos em muitos processos tecnológicos.^{8,9} No entanto, as técnicas convencionais usam solventes orgânicos tóxicos, inflamáveis e/ou voláteis. Já as que empregam sistemas aquosos bifásicos (SAB) oferecem vários benefícios. Estes sistemas são formados quando dois polímeros hidrossolúveis quimicamente distintos, ou um polímero e um sal, ou dois sais são misturados em água sob condições específicas de temperatura, pressão e composição.¹⁰ Ambas as fases do SAB são compostas majoritariamente de água, possibilitando seu uso como uma tecnologia de extração sem solvente orgânico, o que agrega valor ao produto final.

Na última década, vários trabalhos descrevem a aplicação de SAB na extração de corantes naturais e sintéticos,¹⁰⁻¹⁴ incluindo a partição da norbixina comercial em um SAB.¹¹ Neste último trabalho, apenas a norbixina foi utilizada, uma amostra menos complexa e solúvel em água. Até o presente momento, não há estudos sobre a partição do extrato bruto de anato (EA) em SAB. O extrato bruto é uma matriz extremamente complexa e insolúvel em água, sendo um desafio analisar seu comportamento de partição no SAB e identificar compostos capazes de modular seu comportamento. Além disso, tais estudos são de fundamental importância para o desenvolvimento de uma tecnologia que permita a extração de um pigmento bruto com alto grau de pureza.

Alguns agentes podem ser usados para modular o particionamento, entre esses se incluem os surfactantes, tais como o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) um surfactante catiônico, que forma agregados com a norbixina (NO), podendo alterar significativamente a distribuição do corante entre as fases do SAB. Esta interação foi observada por Alves *et al.*¹⁵ em um estudo da interação entre a norbixina e microbolhas encapsuladas com multicamadas de surfactantes (CGAs) formados por CTAB. Verificou-se que a interação eletrostática entre o norbixilato de potássio e o surfactante catiônico do gás comprimido resultou na formação de um complexo norbixina-CTAB. A avaliação da influência dos surfactantes no comportamento de partição do corante é necessária porque estes compostos são amplamente utilizados em uma ampla variedade de produtos. No entanto, embora muitos estudos tenham investigado a partição de

corantes em SAB, não há estudos de como a presença de um surfactante afeta a distribuição de corantes entre as fases do SAB.

Para que os surfactantes sejam utilizados como moduladores da partição de corantes em SAB, é necessário caracterizar os mecanismos de interação destes compostos com os corantes, o que pode levar à alteração do ambiente cromóforo da molécula do corante. A espectroscopia UV-visível pode ser usada para estudar essa interação,^{16,17} enquanto técnicas tradicionalmente usadas para avaliar o comportamento de surfactantes em solução aquosa, tais como condutivimetria, medidas de tensão superficial e calorimetria, podem ser usadas para avaliar o comportamento de agregação do surfactante na presença do corante.¹⁷ A determinação destes parâmetros na ausência e na presença do corante pode permitir a elucidação do mecanismo de interação entre corante-surfactante.

O objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos da temperatura, pH, dos agentes moduladores de transferência e a composição das fases na partição do extrato de anato (EA) em diferentes SAB. Mudanças no corante norbixina (NO) em massa devido à presença do surfactante são descritas, e um mecanismo é proposto para a interação entre o NO e o surfactante. A determinação dos parâmetros termodinâmicos possibilitou a compreensão do mecanismo de particionamento.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Materiais

Os reagentes químicos utilizados no estudo estão apresentados na (TABELA 2.1). As sementes de urucum foram adquiridas em um mercado local na cidade de Alfenas (MG). A solução alcalina de norbixina foi doada por Hansen Ind. Com. Ltda. (Valinhos, São Paulo, Brasil).

Tabela 2.1 - Lista de Produtos Químicos

Nome	Formula Química	Pureza (fração mássica)	Método de purificação	Origem
Citrato de sódio	$\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$	0,99	Não ^a	Vetec (Brasil)
óxido poli(etileno)-bloco- óxido poli(propileno)-bloco- óxido poli(etileno) copolímero/L35	$(\text{EO})_{11}(\text{PO})_{16}(\text{EO})_{11}$	0,99	Não ^a	Aldrich (USA)
poli(etileno) glicol 1500	$\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n \text{OH}$	0,99	Não ^a	Aldrich (USA)
poli(etileno) glicol 4000	$\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n \text{OH}$	0,99	Não ^a	Aldrich (USA)
poli(etileno) glicol 6000	$\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n \text{OH}$	0,99	Não ^a	Aldrich (USA)
Hexano	C_6H_{14}	0,95	Não ^a	Isofar (Brasil)
Acetato de etila	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	>0,99	Não ^a	Isofar (Brasil)
Metanol	CH_4O	>0,99	Não ^a	Proquímios (Brasil)
Hidróxido de sódio	NaOH	0,97	Não ^a	Vetec (Brasil)
dodecil sulfato de sódio/SDS	$\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$	>0,98	Não ^a	Vetec (Brasil)
Brometo de cetiltrimetilamônio/CTAB	$\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$	0,96	Não ^a	Isofar (Brasil)
Água	H_2O	>0,99	Mili-Q (Milipore, USA)	-

^a O reagente foi usado sem purificação adicional como declarado pelo fornecedor.

2.2.2 Métodos

2.2.2.1 Preparação do extrato bruto de urucum (EA)

A metodologia de Rios e Mercadante,¹⁸ com modificações, foi utilizada para obter o extrato das sementes de urucum. Pesou-se uma quantidade de 50 g de sementes utilizando uma balança analítica (modelo Shimadzu AG220, incerteza de 0,0001 g) e lavou-se duas vezes agitando separadamente durante 15 min com 100 mL de hexanol e metanol. Um volume de 100 mL de acetato de etila foi então adicionado às sementes lavadas, seguido de agitação e filtração, obtendo-se uma solução de corante de urucum. Esta solução foi armazenada a baixa temperatura no escuro.

2.2.2.2 Preparação da partição nos SAB do EA

Soluções de polímero e $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ foram preparadas em diferentes porcentagens de massa, de acordo com dados de composição obtidos da literatura.¹⁹⁻²⁴ As quantidades apropriadas dessas soluções foram pesadas em tubos de centrífuga (Centribio, Brasil) para obtenção dos SAB. Esses sistemas foram deixados em 298,15 K em banho termostatizado (modelo SL 152-10, Solab, Brasil, precisão $\pm 0,1^\circ\text{C}$) ($\pm 0,05$ K) até atingir o equilíbrio

termodinâmico. As duas fases foram então coletadas e novos tubos foram preparados com o extrato de urucum e 4,0 g de cada fase. Todas as experiências foram realizadas em triplicata.

2.2.2.3 Agentes moduladores de transferência do EA

Sistemas compostos por PEG 6000 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água na CLA 40,99% de fração mássica,²¹ com 50 µL de extrato de urucum, foram preparados, agitados em vórtice (modelo AP 56, Phoenix, Brasil), colocados em banho-maria a 298,15 K. Após atingir o equilíbrio termodinâmico, 20 Alíquotas de -90 µL de uma solução de um quinto componente (NaOH 6 mol L⁻¹, CTAB 0,27 mol L⁻¹, ou SDS 0,27 mol L⁻¹) foram adicionadas a estes sistemas.

2.2.2.4 CTAB como agente modulador da transferência de EA

Sistemas com PEG + NaH₂C₆H₅O₇ + água²⁰⁻²¹ foram preparados usando a mesma composição, com 20 µL de extrato de urucum. Polímeros com massas moleculares de 1500, 4000 e 6000 g mol⁻¹ foram utilizados nas análises nas CLAs 39,91; 41,47 e 40,99% fração mássica. Os sistemas foram agitados em vórtice e em cada SAB, a solução de CTAB foi adicionada para que a concentração de surfactante no sistema variasse de 4,5 x 10⁻⁴ a 8,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹. Estes sistemas foram agitados e deixados no banho com temperatura controlada até atingirem o equilíbrio termodinâmico. As fases foram coletadas e diluídas antes da quantificação do corante utilizando um espectrofotômetro (modelo UV-2401 PC, Shimadzu, EUA) operado a 415 nm (o comprimento de onda da absorbância máxima).

O fator de distribuição do extrato de anato (K_{EA}) foi calculado a partir da razão das concentrações de corante nas duas fases. De acordo com a lei de Beer-Lambert, a concentração é proporcional a absorbância. Assim, o K_{EA} foi calculado usando a Equação 1:

$$K_{AE} = \frac{(Abs_{415\text{ nm}}^{FS})(f_d^{FS})}{(Abs_{415\text{ nm}}^{FI})(f_d^{FI})} \quad (1)$$

onde $Abs_{415\text{ nm}}^{FS}$ and $Abs_{415\text{ nm}}^{FI}$ são as absorbâncias da fase superior e inferior, respectivamente, e f_d e o fator de diluição das fases.

A transferência da energia padrão de Gibbs, $\Delta_{trs}G^0$, foi determinada utilizando a Equação 2.

$$\Delta_{trs}G^0 = -RT \ln K_{AE} \quad (2)$$

2.2.2.5 Interações entre CTAB e os carotenóides do EA

A seguir métodos utilizados para compreender as interações entre CTAB e o corante de urucum.

2.2.2.5.1 *Medidas de tensão superficial*

Para avaliar o efeito observado no SAB na presença do surfactante, foram realizados estudos com as moléculas de norbixina com SDS e CTAB. Na Figura 1, é possível observar a diferença nas estruturas das moléculas de bixina e norbixina, a molécula de norbixina apresenta uma carga negativa devido ao grupo carboxila desprotonado presente em sua estrutura. Considerando que a bixina não tem carga, ela não pode ser a responsável pela estabilização das micelas formadas pelos surfactantes iônicos presentes nas fases do SAB.

Preparou-se uma solução de norbixina a 0,05% (m/v) a partir de uma solução alcalina de norbixina fornecida por Hansen Ind. Com. Ltda. (Valinhos, São Paulo, Brasil). As soluções de CTAB e SDS foram preparadas em concentrações de $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol kg}^{-1}$ e $3,5 \times 10^{-1} \text{ mol kg}^{-1}$, respectivamente, usando a solução de norbixina como solvente. As tensões superficiais foram determinadas pelo método de Du Nouy (Kross), utilizando-se uma célula de vidro acoplada a um banho maria com a temperatura controlada a 298,15 K. A solução de norbixina foi adicionada à célula e diferentes concentrações de surfactante foram obtidas pela adição de alíquotas de 20 μL de solução concentrada de modo que as concentrações de surfactante variaram de $4,0 \times 10^{-6}$ a $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$ (CTAB), e de $4,0 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol kg}^{-1}$ (SDS).

2.2.2.5.2 *Medidas de espectrometria UV-visível*

As soluções de CTAB e SDS com concentrações de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$ e $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol kg}^{-1}$, respectivamente, foram preparadas utilizando a solução alcalina de norbixina a 0,05% (m/v) como solvente. Estas soluções contendo norbixina e surfactante foram usadas para preparar outras soluções contendo CTAB em concentrações de 0 mol kg^{-1} a $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol kg}^{-1}$, e SDS em concentrações de 0 mol kg^{-1} a $8,0 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$. Os espectros das soluções foram registados utilizando um espectrômetro Varian Cary 100 Bio UV-Vis.

2.2.2.6 Efeito do comprimento da linha de amarração na partição do EA

Os experimentos foram realizados a 298,15 K utilizando cinco composições diferentes dos sistemas formados por PEG + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água¹⁹⁻²² preparados utilizando PEG com massas molares de 1500, 4000 e 6000 g mol^{-1} . Alíquotas de 20 μL de EA e CTAB foram adicionadas a cada sistema, de modo que a concentração final de CTAB foi de $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

2.2.2.7 Efeito da hidrofobicidade

O sistema L35 1900 g mol^{-1} + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água²³ foi preparado usando cinco diferentes composições. Alíquotas de 20 μL de extrato de urucum e CTAB foram adicionadas a cada sistema para que a concentração final de CTAB fosse de $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. As experiências foram realizadas a 298,15 K.

2.2.2.8 Influência do pH na partição do EA

Alíquotas de soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio foram adicionadas para se ajustar o valor do pH. A preparação do sistema PEG 1500 g mol^{-1} + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água na CLA 21.39% de fração mássica²⁰ foi realizada em pH 4 a 10, usando uma composição fixa. Alíquotas de 20 μL de CTAB e extrato de urucum foram adicionadas, de forma que a concentração final de CTAB fosse de $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. As experiências foram realizadas a 298,15 K.

2.2.2.9 Influência da temperatura na partição do EA

O SAB PEG 1500 g mol^{-1} + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água²⁰ foi preparado utilizando-se uma composição fixa, com adição de alíquotas de 20 μL de CTAB e extrato de urucum, para que a concentração final de CTAB fosse de $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Este experimento foi realizado nas temperaturas de 283,15, 298,15, 308,15 e 318,15 K.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através das técnicas mencionadas foram tratados e discutidos a seguir.

2.3.1 Avaliação da partição de EA em diferentes SAB

A adição de um soluto a um SAB pode resultar em uma distribuição heterogênea entre as fases do sistema e a compreensão de seu comportamento de partição é de fundamental importância para a aplicação do processo em larga escala.²⁴⁻²⁷ A Figura 2.2 mostra o particionamento do EA no SAB composto por PEG 6000 g mol⁻¹ + citrato de sódio + água,²¹ do qual o EA migrou espontaneamente para a fase superior do sistema. Comportamento semelhante foi observado para todos os SAB testados e foi atribuído às interações específicas entre os compostos do EA e as moléculas do polímero¹¹ e ao efeito de salting-out do sal que leva à exclusão de tais compostos na fase inferior.¹²

Figura 2.2 - Partição do EA nos SAB (a) PEG 6000 g mol⁻¹ + citrato de sódio + água, e (b) PEG 6000 g mol⁻¹ + citrato de sódio + água + CTAB, a 298,15 K.



Fonte: Do autor

Quando são adicionados alguns solutos nos SAB, esses tendem a se concentrar preferencialmente em apenas uma fase. Esse comportamento torna impossível estudar a partição desses solutos porque é necessário detectar a presença do soluto em ambas as fases para entender seu comportamento de particionamento. Quando adicionado ao sistema, o anato

estudado concentrou-se apenas na fase superior e não foi possível detectar sua presença na fase inferior.

2.3.2 Avaliação dos compostos que possam atuar como agente de modulação da transferência do EA entre as fases do SAB

A partição de um soluto em um SAB é um fenômeno altamente complexo, porque existem muitas interações diferentes entre o soluto e os componentes do SAB. Fatores como pH, temperatura, a composição das fases e a adição de um quarto componente ao SAB podem modular a partição do soluto entre as fases.^{10, 11, 25} No presente trabalho, surfactantes catiônicos e aniônicos foram testados como agentes de modulação da transferência do corante de urucum no SAB. O surfactante aniônico (SDS) não foi eficaz na transferência do corante para a fase inferior do sistema, enquanto o surfactante catiônico (CTAB) reverteu o comportamento de partição, como mostrado na Figura 2.2.

No ambiente molecular, as interações surfactante-polímero ainda não são bem compreendidas, embora vários trabalhos tenham sido realizados ao longo de pelo menos 5 décadas, esses tem acumulado informações sobre a formação e estabilidade do complexo para diferentes misturas de polímeros com surfactantes. Em geral, os estudos abordam as interações polímero-surfactante em termos de três diferentes regimes de concentração. A primeira faixa de concentração, é conhecida como concentração de agregação crítica (cac) na qual ocorrem as próprias interações polímero-surfactante. Posteriormente, o aumento da concentração do surfactante alcança o ponto de saturação do polímero onde ocorre a saturação das cadeias poliméricas pelas moléculas de surfactante e, portanto, não ocorre mais interações entre o polímero e surfactante e, finalmente, no terceiro regime de concentração é relatado como aquele em que apenas micelas formadas por surfactantes começam a se formar.²⁸ Embora as interações entre PEG-surfactantes (SDS e CTAB) não tenham sido estudadas nesta proposta, é possível estabelecer, com base em dados da literatura, que devido à grande proporção de polímero nas fases e às concentrações proporcionalmente baixas dos surfactantes utilizados, todos os estudos estão dentro do primeiro regime de concentração onde a interação polímero-surfactante deve ocorrer. Existem vários trabalhos na literatura^{28, 29} que avaliaram, por diferentes técnicas, as interações envolvidas em misturas de PEG de diferentes massas molares com SDS em meio aquoso. Entretanto, estudos envolvendo interação PEG-CTAB em meio aquoso ainda são pouco relatados na literatura. Em geral, os estudos prévios mostraram que o polímero (PEG) tende a interagir fortemente com surfactantes aniônicos, como o SDS, fracamente com surfactantes

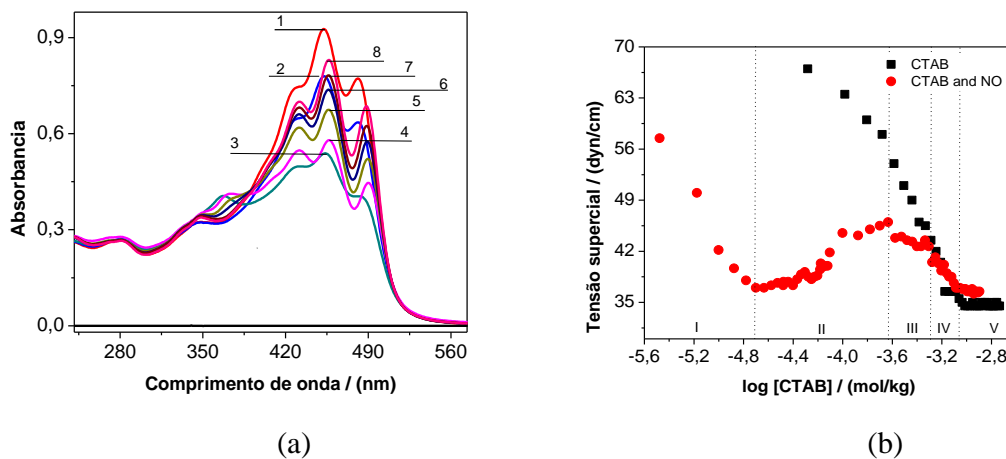
não-iônicos, e ainda mais fracamente ou mesmo não interage com surfactantes catiônicos como o CTAB a temperatura ambiente.

No caso de agentes surfactantes catiônicos, tais como os brometos de alquiltrimetilamônio, a dificuldade de interação pode ser explicada pelo fato desses agentes surfactantes terem um grupo de cabeça, com carga positiva muito grande nas suas micelas, que impede as moléculas de polímero de interagir dentro das micelas. Particularmente, Manna e Panda³⁰ estudando a interação entre o CTAB-PEG em meio aquoso, observaram por medições de espalhamento de luz que os oligômeros do PEG causam um aumento no tamanho das micelas de CTAB. Um aumento na concentração micelar crítica (cmc) do CTAB, e a subsequente presença de um elevado número de espécies iônicas na sua forma dissociada é observada, por meio de um aumento global nos valores do potencial zeta na presença de oligômeros de PEG. Propõe-se que o PEG possa envolver as micelas através de suas mudanças conformacionais. Os resultados também sugerem que os oligômeros de PEG podem levar a um efeito solvofóbico que leva a um aumento da cmc do CTAB quando comparado com em água pura.

Como o comportamento de partição do EA foi fortemente dependente da natureza do surfactante, experimentos de espectroscopia UV-Vis e tensão superficial (γ) foram realizados para investigar a interação entre o surfactante e o carotenóide norbixina (NO).

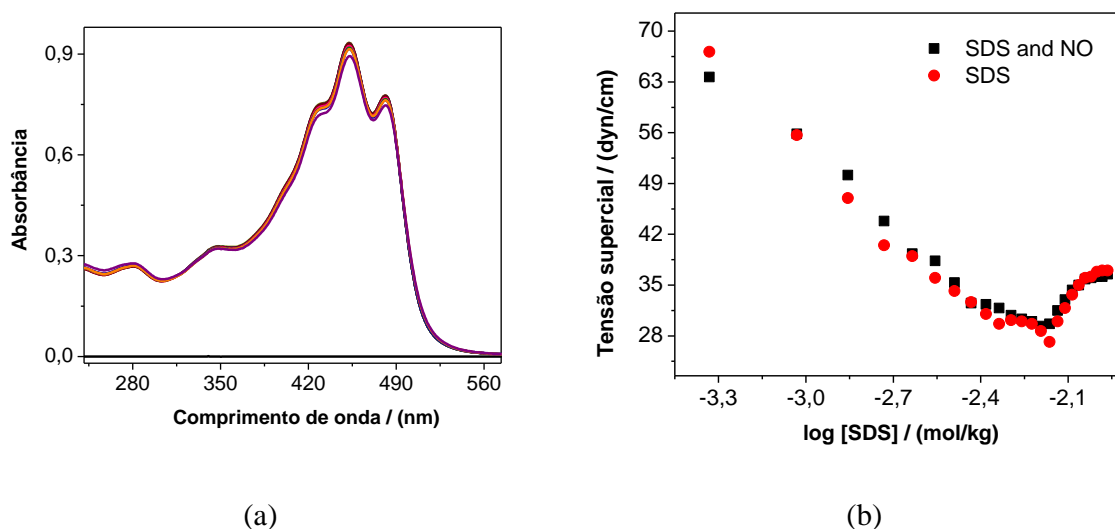
A Figura 3a mostra os espectros da região visível de 0,05% (m/v) de soluções de NO com diferentes concentrações de CTAB, a 25 °C. A Figura 3b mostra as tensões superficiais das soluções CTAB e NO-CTAB. A presença de um grupo cromóforo na molécula de corante permite o monitoramento das interações corante-surfactante por espectroscopia UV-Vis.¹⁶ O espectro para a solução aquosa de NO exibiu um pico máximo de absorção a 452 nm e dois ombros a 481 nm e 424 nm, de acordo com a literatura.³¹ O espectro de absorção do NO foi muito influenciado pela adição do surfactante (CTAB). Em uma concentração de surfactante de 1×10^{-5} mol kg⁻¹, o valor da absorção diminuiu devido à formação da interação entre o cátion (CTAB) e a molécula de corante (NO). A formação de pares iônicos entre corantes iônicos e surfactantes de carga oposta está bem estabelecida e tem sido intensamente estudada.^{16,17,32} A formação do par iônico NO-CTAB também foi indicada pelas medidas de tensão superficial (Figura 2.3b). Pode-se observar que em baixas concentrações de CTAB (região I) os valores de tensão superficial foram aproximadamente 50% menores com NO, comparado ao CTAB puro, e que um pequeno aumento da concentração de CTAB na solução de NO causou saturação da interface. Isso ocorreu devido à maior hidrofobicidade dos complexos corante-surfactante, em relação ao monômero CTAB, e é frequentemente observado para sistemas formados por surfactantes com corantes de cargas opostas.³³

Figura 2.3- (a) Espectros de absorção de norbixina a 0,05% (m/v) na presença de concentrações de CTAB de (1) 0 mol kg^{-1} , (2) $1 \times 10^{-5} \text{ mol kg}^{-1}$, (3) $2 \times 10^{-5} \text{ mol kg}^{-1}$, (4) $2 \times 10^{-4} \text{ mol kg}^{-1}$, (5) $4 \times 10^{-4} \text{ mol kg}^{-1}$, (6) $6 \times 10^{-4} \text{ mol kg}^{-1}$, (7) $8 \times 10^{-4} \text{ mol kg}^{-1}$ e (8) $1 \times 10^{-3} \text{ mol kg}^{-1}$. (b) Alterações na tensão superficial de acordo com a concentração de CTAB em água, com norbixina a 0,05% (m/v), a 298,15 K.



Fonte: Do autor

Figura 2.4 - Espectros de absorção de norbixina a 0,05% (m/v) na presença de diferentes concentrações de SDS. (b) Alterações na tensão superficial de acordo com a concentração de SDS em água, com norbixina a 0,05% (m/v), a 298,15 K.



Fonte: Do autor

Quando a concentração de CTAB foi aumentada para $2 \times 10^{-5} \text{ mol kg}^{-1}$, a absorção diminuiu e uma nova banda apareceu em 366 nm, o que poderia ser atribuído à dimerização do corante na presença do surfactante.³⁴ Para as concentrações de CTAB de $2 \times 10^{-5} \text{ mol kg}^{-1}$ a

$\times 10^{-4}$ mol kg^{-1} , a presença da turbidez foi um indicativo da formação de NO-agregados ricos em dímeros do corante. Os agregados hidrofóbicos foram dispersos na solução e proporcionaram um ambiente favorável à adsorção de pares iônicos na interface. Nesta faixa de concentração de CTAB, a tensão superficial aumentou (região II), sugerindo a substituição de monômeros de CTAB por pares iônicos de NO-CTAB na superfície. Os pares iônicos foram incorporados por agregados ricos em NO no meio da solução. À medida que a concentração de CTAB aumentou, a turbidez diminuiu devido à substituição de moléculas de água em torno dos agregados ricos em NO pelo CTAB. Este mecanismo foi observado anteriormente para outros sistemas de corante-surfactante de carga oposta.³⁵

A 2×10^{-4} mol kg^{-1} de CTAB, os agregados reorganizaram-se em agregados ricos em CTAB e a turbidez desapareceu. No entanto, os valores de comprimento de onda máximos da solução de corante mudaram de 452, 482 e 424 nm para 457, 489 e 431 nm, e os valores de absorção aumentaram. Essa mudança espectral poderia ser explicada por uma mudança no microambiente do cromóforo.³⁶⁻⁴⁰ Para concentrações de CTAB de 2×10^{-4} mol kg^{-1} a $4,6 \times 10^{-4}$ mol kg^{-1} , os valores de tensão superficial diminuíram (região III), sugerindo que a formação de agregados ricos em CTAB favoreceu a substituição de pares iônicos NO-CTAB na superfície por monômeros de CTAB. Quando a concentração de CTAB atingiu $4,6 \times 10^{-4}$ mol kg^{-1} , as curvas de tensão superficial para CTAB em água e na solução de NO se sobrepuseram (região IV), enquanto os valores de γ indicaram que os monômeros de CTAB foram preferencialmente adsorvidos na superfície e que parte do surfactante adicionado foi incorporado nos agregados ricos em CTAB. Este processo foi refletido em valores de absorção mais altos (Figura 2.3a). Para concentrações de CTAB superiores a $8,0 \times 10^{-4}$ mol kg^{-1} , formaram-se micelas de CTAB na solução e a tensão superficial permaneceu constante (região V). Os valores de absorção continuaram a aumentar à medida que a concentração de CTAB aumentou, indicando solubilização do corante nos núcleos hidrofóbicos das micelas (micelas de NO-CTAB).⁴¹⁻⁴⁴

A interação entre NO e SDS também foi avaliada por espectroscopia UV-Vis e medidas de tensão superficial (γ). Os resultados são mostrados nas Figuras 2.4a e 2.4b, respectivamente. A adição de SDS não alterou as características do espectro de NO e não surgiram novas bandas, enquanto um aumento na concentração de SDS causou uma diminuição no valor da absorção. Essa diminuição indicou que a repulsão eletrostática entre o surfactante aniônico e o grupo ácido do NO prevaleceu sobre outras interações que poderiam ocorrer entre esses compostos (ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido (London) e forças de Van der Waals). Além disso, os gráficos da tensão superficial em função da concentração de SDS (Figura 2.4b) não mostraram diferença na presença de NO, em

comparação com a água pura. Isso apoiou os resultados da espectroscopia, indicando que não houve interação entre o NO e o surfactante aniônico.

O efeito da adição de CTAB na partição do EA no SAB (Figura 2.3) pode ser explicado pela formação de pares iônicos e, posteriormente, micelas de NO-CTAB com cargas desbalanceadas em suas superfícies. Os agregados micelares formados entre CTAB e norbixina foram excluídos da fase superior pelos polímeros, devido à competição por espaço (efeito do volume de exclusão), forçando a transferência dos agregados para a fase inferior. As interações entre as cargas desbalanceadas nas superfícies das micelas e os cátions e ânions agiram para estabilizar os agregados na fase inferior.

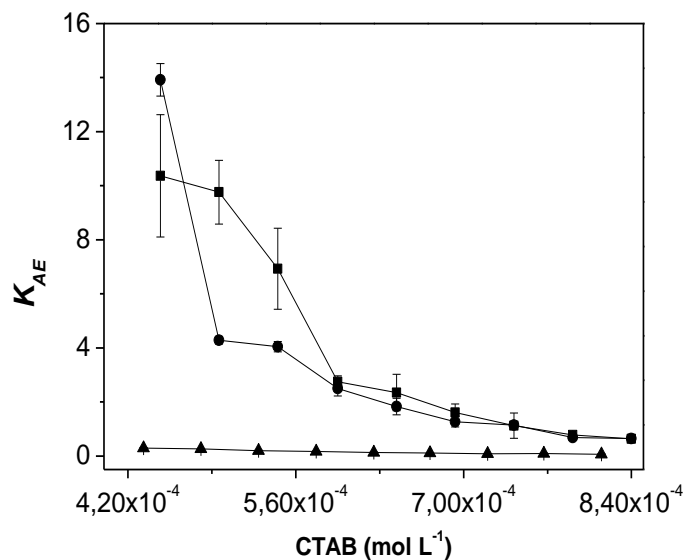
2.3.3 Efeitos da massa molecular do polímero e concentração de CTAB na partição do EA

A solubilidade de um segundo soluto adicionado em uma solução de surfactante é altamente dependente da concentração de surfactante, que influencia o arranjo das moléculas de surfactante dentro da solução. Em concentrações abaixo da cmc (concentração micelar crítica), as moléculas são dispersas na solução na forma de monômeros, pares iônicos e, acima da cmc, formam-se micelas com núcleo hidrofóbico.

O efeito da concentração do surfactante na partição de EA no SAB foi avaliado e pode ser observado, que com o aumento da concentração de CTAB no sistema, leva a uma maior transferência do corante para a fase inferior. Isto está de acordo com o mecanismo de transferência proposto, onde as micelas de NO-CTAB foram estabilizadas na fase inferior dos SAB. No entanto, em todas as concentrações de surfactante, houve um acúmulo de corante na interface do SAB. Como resultado, a análise teria um erro substancial, porque a maior parte do corante seria descartado junto com a interface. Quando quantidades de EA superiores a 40 μL foram adicionadas, o extrato se acumulou na interface. Assim, uma pequena quantidade de EA foi necessária para cumprir os critérios do diagrama de fases, um volume de 20 μL de extrato bruto foi selecionado para o estudo de partição.

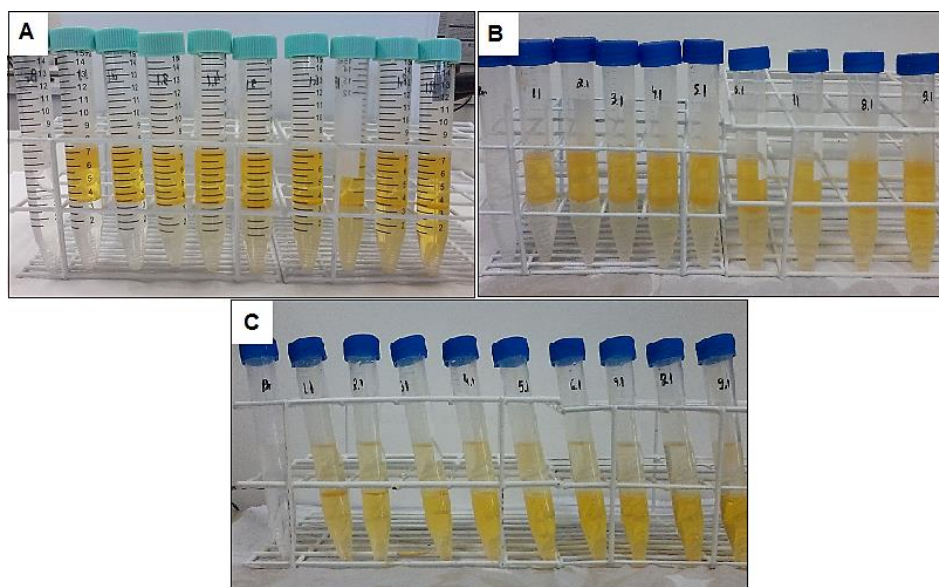
A Figura 2.5 mostra a razão de distribuição do extrato de urucum, de acordo com a concentração de CTAB, para os SAB formados por PEG com diferentes massas moleculares e citrato de sódio.

Figura 2.5 - Efeito da concentração de CTAB na razão de distribuição do extrato de urucum em diferentes sistemas, a 298,15 K. (■) PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, (●) PEG 4000 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, (▲) PEG 6000 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água.



Fonte: Do autor

Figura 2.6 - Variação na concentração de CTAB nos SAB, contendo extrato de urucum, a 298,15 K. Para todos os sistemas, a concentração de CTAB variou de 4,5 x 10⁻⁴ a 8,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹. (a) PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, (b) PEG 4000 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, e (c) PEG 6000 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água.



Fonte: Do autor

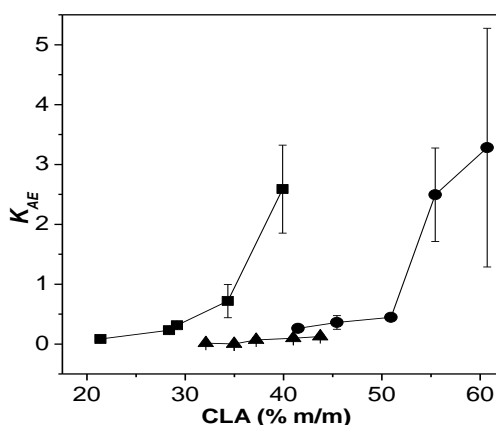
Nos SAB formados por PEG com massas moleculares de 4000 e 6000 g mol⁻¹ e CTAB nas concentrações entre 4,5 x 10⁻⁴ e 5,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, não houve transferência do corante para a fase inferior (Figura 2.5). Isso poderia ser explicado pelo fato de que a concentração de CTAB

era muito menor do que a quantidade de corante, havia apenas formação de pares iônicos hidrofóbicos que eram mais estáveis no SAB. À medida que a concentração de CTAB se aproximou da cmc, a adição de uma pequena quantidade de CTAB causou uma transferência detectável de corante para a fase inferior, permitindo uma análise mais precisa da taxa de distribuição. Confirmado o mecanismo proposto de formação de micelas de NO-CTAB.

O efeito de exclusão das micelas de NO-CTAB da fase superior pelas macromoléculas de polímero foi muito maior para o PEG 6000 g mol^{-1} , como pode ser visto no detalhe da Figura 2.6. Todos os coeficientes de partição foram menores que 0,35, indicando que a adição de CTAB foi altamente eficaz na transferência do corante de urucum para a fase inferior.

A Figura 2.7 (Apêndice TABELA B 1) mostra o efeito da massa molecular do polímero nos valores de K_{EA} em diferentes valores de CLA (comprimento da linha de amarração). O aumento da CLA levou a uma maior razão de distribuição da norbixina, para todos os SAB estudados. Quando a CLA aumenta em um dado sistema, a diferença entre as propriedades termodinâmicas intensivas das fases inferior e superior também aumenta, as propriedades intensivas independentes da composição, como temperatura, pressão e densidade. Altas concentrações de eletrólitos causam maior separação dos componentes, tornando a fase superior mais rica em polímeros, com menos moléculas de água. Este ambiente mais hidrofóbico resultou na estabilização dos monômeros de CTAB e das micelas de NO-CTAB.

Figura 2.7 - Efeito da massa molecular do polímero na K_{EA} para diferentes CLA no sistema PEG + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água, a 298,15 K. (■) 1500, (●) 4000, (▲) 6000 g mol^{-1} .



Fonte: Do autor

Outros efeitos que devem ser considerados incluem maior emaranhamento dos polímeros na fase superior. Isso pode aumentar o efeito de volume de exclusão, o que explica porque um

aumento acentuado de K_{EA} com a CLA no sistema formado com PEG 6000 g mol^{-1} não foi observado.

2.3.4 Influência da hidrofobicidade no comportamento de partição do EA no SAB com CTAB

Há um número infinito de combinações de polímeros e sais que podem formar SAB. Essa versatilidade permite a ampla aplicação de SAB na purificação e/ou extração de diferentes solutos. Dependendo do polímero utilizado, o sistema pode ser mais hidrofóbico ou hidrofílico, influenciando significativamente o comportamento de partição do soluto.

A Figura 2.8 mostra a partição de EA no SAB formado por copolímero L35 1900 g mol^{-1} + citrato de sódio + água. Na presença do copolímero, o CTAB foi incapaz de transferir o EA para a fase inferior do SAB, portanto, para este sistema não foi possível quantificar o EA na fase inferior usando espectroscopia UV-Vis.

Figura 2.8 - Partição do extrato de urucum utilizando CTAB a $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ no sistema L35 1900 g mol^{-1} + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água, a 298,15 K.



Fonte: Do autor

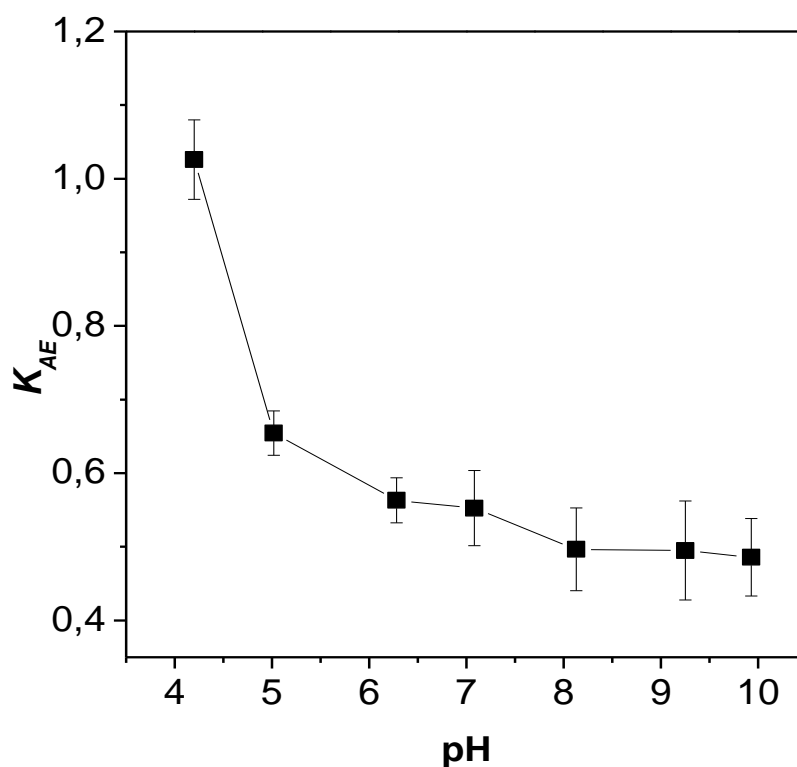
O copolímero formou micelas com núcleos hidrofóbicos que permitiram a solubilização da cadeia de carbono do EA e CTAB, direcionando as partes carregadas dessas moléculas para as regiões hidrofílicas das micelas. Assim, as fortes interações intermoleculares no ambiente hidrofóbico do núcleo levaram a razão de distribuição infinita observado experimentalmente. Uma vez que o agente de modulação de transferência não migrou para a fase inferior, o corante foi mais termodinamicamente estável na fase superior do SAB.

2.3.5 Influência do pH do SAB no comportamento de partição do EA

O aumento do pH do sistema pela adição de uma base forte causa a saponificação dos grupos éster presentes na bixina, produzindo norbixina.¹⁸ Portanto, era essencial investigar o efeito do pH no comportamento de partição do EA.

A Figura 2.9 (Apêndice TABELA B 2) mostra os valores K_{EA} para a CLA 21,39% de fração mássica dos SAB formados por PEG 1500 g mol⁻¹ + citrato de sódio + água + CTAB, a diferentes valores de pH. O aumento do pH resultou em uma maior concentração de EA na fase inferior do SAB, devido às reações de hidrólise do grupo éster das moléculas de bixina, formando norbixina. A presença de grupos carboxílicos na norbixina proporcionou ao corante maior solubilidade em água e facilitou a formação de pares iônicos com as micelas de CTAB e NO-CTAB.

Figura 2.9 - Efeito do pH na razão de distribuição do extrato de urucum para o sistema PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, com CTAB 8,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, a 298,15 K.

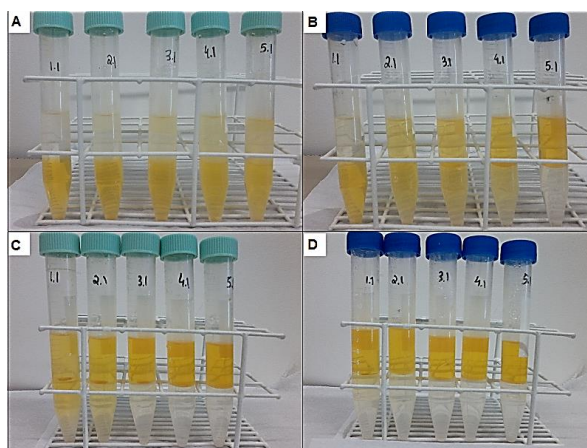


Fonte: Do autor

2.3.6 Efeito da temperatura na partição do EA nos SAB

A temperatura é um parâmetro termodinâmico que pode ter um efeito significativo nas interações entre os componentes dos SAB. Por exemplo, surfactantes catiônicos apresentam interações fracas ou mesmo inexistentes com o PEG em temperaturas até 298,15 K, enquanto essas interações são intensificadas em temperaturas superiores a 308,15 K (Figura 2.10).⁴⁵

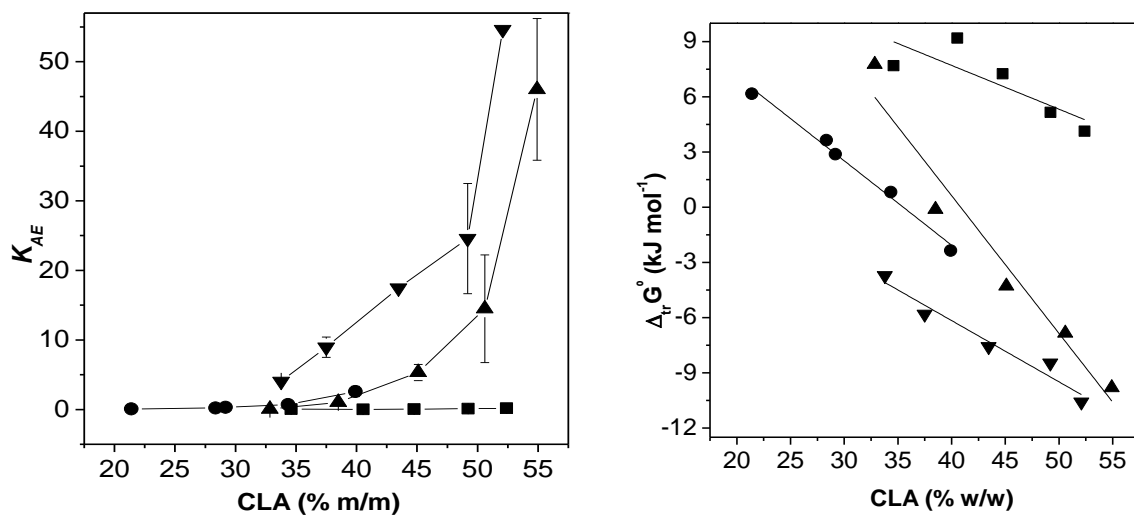
Figure 2.10 - Efeito da temperatura na partição do extrato de urucum no sistema PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, 8,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB em diferentes CLAs. (a) 283,15 K, (b) 298,15 K, (c) 308,15 K, (d) 318,15 K.



Fonte: Do autor

A distribuição do EA no SAB formado por PEG 1500 g mol⁻¹ + citrato de sódio + água + CTAB, a diferentes temperaturas, foi avaliado e os coeficientes de partição do EA foram determinados (Apêndice TABELA B 3) (Figura 2.11). Estes parâmetros mostraram que a melhor temperatura para transferência das micelas de NO-CTAB para a fase inferior foi 273,15 K. A uma temperatura de 318,15 K, o EA migrou para a fase superior, para todas as CLA.

Figura 2.11 - Efeito da temperatura no razão de distribuição do extrato de urucum para o sistema PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, com 8,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB e efeito da temperatura no $\Delta_{tr}G^\circ$ para o sistema PEG 1500 g mol⁻¹ + NaH₂C₆H₅O₇ + água, com 8,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ CTAB. (■) 273,15 K, (●) 298,15 K, (▲) 308,15 K, (▼) 318,15 K.



Fonte: Do autor

O aumento da energia térmica nas fases causou a transferência espontânea de moléculas de água da fase superior para a fase inferior, com o consequente aumento da hidrofobicidade da fase superior favorecendo a estabilização das micelas de NO-CTAB na fase superior. O aumento da temperatura levou à transferência de EA da fase inferior para a fase superior, demonstrando que a temperatura de 318,15 K o processo de partição foi conduzido entropicamente, enquanto que a uma temperatura de 283,15 K o processo foi governado pela entalpia.

Anthony e Zana⁴⁵ avaliaram o efeito da temperatura nas interações entre o PEG 20000 g mol⁻¹ e o surfactante catiônico brometo de Tetradeciltrimetilamônio (TTAB) por condutividade, espectrofluorometria e extinção da fluorescência resolvida no tempo. Os pesquisadores observaram que, acima de 30°C, há uma interação maior entre TTAB e PEG em meio aquoso, resultando na formação de micelas de TTAB com PEG, essas menores e mais ionizadas do que micelas de TTAB livre, é o conteúdo de PEG no sistema. Este comportamento foi atribuído à diminuição da polaridade do PEG com o aumento da temperatura. De fato, no presente trabalho é possível imaginar que o aumento da temperatura provoca a desestabilização da formação do par de íons NO-CTAB e consequentemente a migração e o aumento da interação CTAB-PEG na fase superior. Entretanto, esses aspectos devem ser melhores investigados em estudos futuros, pois a influência dos sais presentes em altas proporções nesses SAB não pode ser desconsiderada.

2.4 CONCLUSÕES

Ao final desta etapa do trabalho, chegou-se a um melhor entendimento sobre os aspectos interativos e termodinâmicos envolvidos no processo de partição de corantes de *Bixa orellana* L. que efetivamente contribuirão para o desenvolvimento de novas metodologias de extração destes corantes com base no uso de SAB.

A interação entre brometo de cetiltrimetilamônio e norbixina foi estudada por espectroscopia e medidas de tensão superficial. Os resultados revelaram a formação de pares iônicos entre o surfactante e a norbixina do extrato de urucum e a formação de micelas de norbixina-cetiltrimetilamônio. Nenhuma interação foi observada entre a norbixina e o dodecil sulfato de sódio. Isto suporta a hipótese inicial da formação de micelas mistas envolvendo surfactante catiônico e pigmentos de urucum contendo grupos carboxílicos.

A partição do extrato de urucum na presença de brometo de cetiltrimetilamônio foi avaliada utilizando diferentes temperaturas, valores de pH e composições do sistema. Observou-se que o brometo de cetiltrimetilamônio agiu como um agente modulador para a transferência do extrato de urucum entre as fases do sistema. A adição de extrato de urucum aos sistemas aquosos bifásicos contendo brometo de cetiltrimetilamônio resultou na formação de micelas de norbixina-cetiltrimetilamônio. Estes agregados estabilizaram-se na fase inferior dos sistemas aquosos bifásicos. Em altas temperaturas, $\Delta_{tr}G^{\circ} < 0$ que indicou que as micelas mistas estavam estabilizadas na fase superior.

Os resultados obtidos mostram um grande potencial de adequação dos sistemas aquosos bifásicos contendo brometo de cetiltrimetilamônio para extração do extrato de anato. A separação do corante dos outros interferentes presentes no extrato bruto, de preferência para uma das fases, como vimos no estudo, é ideal para aplicação industrial. Os processos já utilizados para extração geralmente usam grandes equipamentos ou grandes quantidades de solventes orgânicos para separação de corantes em escala industrial, o que pode levar a altos custos de produção e problemas ambientais. O extrato de urucum obtido pelo processo estudado pode ser utilizado em processos de fabricação nos quais os corantes e surfactantes são utilizados simultaneamente; o citrato de sódio, usado como principal componente da fase inferior, não é tóxico e é usado como conservante em ampla faixa; e o uso de sistemas aquosos bifásicos é um processo ambientalmente seguro. Nas etapas futuras do trabalho, pretende-se avaliar o aumento de escala a fim de reduzir o número de estágios para extrair o corante diretamente das sementes do urucum, tornando o processo ainda mais atraente.

REFERÊNCIAS

1. SARITHA, A; MANGALARAJA, R. V; ANANDAN, S. High-efficiency dye-sensitized solar cells fabricated using DD- π -A (donor-donor/ π -spacer-acceptor) architecture. **Solar Energy**, v. 146, p. 150-160, 2017.
2. HAGIWARA, A. et al. A thirteen-week oral toxicity study of annatto extract (norbixin), a natural food color extracted from the seed coat of annatto (*Bixa orellana* L.), in Sprague–Dawley rats. **Food and chemical toxicology**, v. 41, n. 8, p. 1157-1164, 2003.
3. ANANTHARAMAN, A. et al. Studies on interaction of norbixin with DNA: multispectroscopic and in silico analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 144, p. 163-169, 2015.
4. PAUMGARTTEN, F. J. R. et al. Evaluation of the developmental toxicity of annatto in the rat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 11, p. 1595-1601, 2002.
5. GIULIANO, G; ROSATI, C; BRAMLEY, P. M. To dye or not to dye: biochemistry of annatto unveiled. **TRENDS in Biotechnology**, v. 21, n. 12, p. 513-516, 2003.
6. PRESTON, H. D.; RICKARD, M. D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 47-56, 1980.
7. SATYANARAYANA, A; RAO, P. P.; RAO, D. G. Influence of source and quality on the color characteristics of annatto dyes and formulations. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 1456-1460, 2010.
8. ELUMALAI, S. et al. Recovery of dye from textile effluents using phenol as an extractant. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1958-1964, 2014.
9. WOJCIECHOWSKA, A. et al. Lead (II) extraction from aqueous solutions by pyridine extractants. **Separation and Purification Technology**, v. 177, p. 239-248, 2017.
10. MAGESTE, A. B. et al. Aqueous two-phase systems: an efficient, environmentally safe and economically viable method for purification of natural dye carmine. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 45, p. 7623-7629, 2009.
11. MAGESTE, A. B. et al. Thermodynamics and optimization of norbixin transfer processes in aqueous biphasic systems formed by polymers and organic salts. **Separation and purification technology**, v. 98, p. 69-77, 2012.
12. SHIBUKAWA, M. et al. Effects of phase-forming cations and anions on the partition of ionic solutes in aqueous polyethylene glycol-inorganic salt two-phase systems. **Analytical sciences**, v. 16, n. 10, p. 1039-1044, 2000.
13. DE SOUZA, R. L. et al. Effect of ionic liquids as adjuvants on PEG-based ABS formation and the extraction of two probe dyes. **Fluid Phase Equilibria**, v. 375, p. 30-36, 2014.

14. BORGES, G. A. et al. A method for dye extraction using an aqueous two-phase system: Effect of co-occurrence of contaminants in textile industry wastewater. **Journal of environmental management**, v. 183, p. 196-203, 2016.
15. ALVES, R. W. et al. Recovery of norbixin from a raw extraction solution of annatto pigments using colloidal gas aphrons (CGAs). **Separation and purification technology**, v. 48, n. 2, p. 208-213, 2006.
16. RASHIDI-ALAVIJEH, M. et al. Intermolecular interactions between a dye and cationic surfactants: effects of alkyl chain, head group, and counterion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 380, n. 1-3, p. 119-127, 2011.
17. ASADZADEH SHAHIR, A. et al. Comprehensive study of tartrazine/cationic surfactant interaction. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 49, p. 14435-14444, 2011.
18. RIOS, A. de O.; MERCADANTE, A. Z. Otimização das condições para obtenção de padrão de bixina e das etapas de extração e saponificação para quantificação de bixina em “snacks” extrusados por CLAE. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 3, p. 203-213, 2008.
19. DE OLIVEIRA, R. M. et al. Liquid–Liquid equilibria of biphasic systems composed of sodium citrate+ polyethylene (glycol) 1500 or 4000 at different temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 53, n. 4, p. 895-899, 2008.
20. CARVALHO, C. P. et al. Influence of the temperature and type of salt on the phase equilibrium of peg 1500+ potassium phosphate and peg 1500+ sodium citrate aqueous two-phase systems. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 209-213, 2008.
21. ZAFARANI-MOATTAR, M. T; SADEGHI, R; HAMIDI, A. A. Liquid–liquid equilibria of an aqueous two-phase system containing polyethylene glycol and sodium citrate: experiment and correlation. **Fluid phase equilibria**, v. 219, n. 2, p. 149-155, 2004.
22. ALVARENGA, B. G. et al. Measurement and correlation of the phase equilibrium of aqueous two-phase systems composed of polyethylene (glycol) 1500 or 4000+ sodium sulfite+ water at different temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 59, n. 2, p. 382-390, 2014.
23. VIRTUOSO, L. S. et al. Measurement and modeling of phase equilibrium in aqueous two-phase systems: L35+ sodium citrate+ water, L35 sodium tartrate+ water, and L35+ sodium hydrogen sulfite+ water at different temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 57, n. 2, p. 462-468, 2012.
24. HAN, J. et al. Liquid– liquid equilibria of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate+ sodium and ammonium citrate aqueous two-phase systems at (298.15, 308.15, and 323.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 9, p. 3749-3754, 2010.
25. DE ALVARENGA, J. M. et al. Partition study of textile dye Remazol Yellow Gold RNL in aqueous two-phase systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 391, p. 1-8, 2015.

26. KHAYATI, G; ANVARI, M; SHAHIDI, N. Partitioning of β -galactosidase in aqueous two-phase systems containing polyethyleneglycol and phosphate salts. **Fluid Phase Equilibria**, v. 385, p. 147-152, 2015.
27. BARROS, K. V. G. et al. PEG/NaPA aqueous two-phase systems for the purification of proteases expressed by *Penicillium restrictum* from Brazilian Savanna. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 12, p. 2305-2312, 2014.
28. BAYAT, E; SADEGHI, R. Vapor pressure osmometry, volumetry and conductometry investigations on the interaction of sodium dodecyl sulfate with poly (ethylene glycol) and poly (propylene glycol) in aqueous solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 436, p. 260-269, 2013.
29. 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.
30. MANNA, K; PANDA, A. K. Physicochemical studies on the interfacial and micellization behavior of CTAB in aqueous polyethylene glycol media. **Journal of surfactants and detergents**, v. 14, n. 4, p. 563-576, 2011.
31. SANTOS, Letícia F. et al. Spectroscopic and photothermal characterization of annatto: applications in functional foods. **Dyes and Pigments**, v. 110, p. 72-79, 2014.
32. EL ACHOURI, M. et al. Corrosion inhibition of iron in 1 M HCl by some gemini surfactants in the series of alkanediyl- α , ω -bis- (dimethyl tetradecyl ammonium bromide). **Progress in Organic Coatings**, v. 43, n. 4, p. 267-273, 2001.
33. GOHAIN, B; DUTTA, R. K. Premicellar and micelle formation behavior of dye surfactant ion pairs in aqueous solutions: deprotonation of dye in ion pair micelles. **Journal of colloid and interface science**, v. 323, n. 2, p. 395-402, 2008.
34. BIELSKA, M; SOBCZYŃSKA, A; PROCHASKA, K. Dye-surfactant interaction in aqueous solutions. **Dyes and pigments**, v. 80, n. 2, p. 201-205, 2009.
35. ROSENDORFOVÁ, J; ČERMÁKOVÁ, L. Spectrophotometric study of the interaction of some triphenylmethane dyes and 1-carbethoxypentadecyltrimethylammonium bromide. **Talanta**, v. 27, n. 9, p. 705-708, 1980.
36. BUWALDA, R. T.; ENGBERTS, J. BFN. Aggregation of dicationic surfactants with methyl orange in aqueous solution. **Langmuir**, v. 17, n. 4, p. 1054-1059, 2001.
37. TUNÇ, S; DUMAN, O; KANCI. Spectrophotometric investigation of the interactions between cationic dye (CI Basic Yellow 2) and anionic surfactant (sodium dioctylsulfosuccinate) in the premicellar and micellar region. **Dyes and Pigments**, v. 94, n. 2, p. 233-238, 2012.
38. BUWALDA, R. T.; JONKER, J. M.; ENGBERTS, Jan BFN. Aggregation of azo dyes with cationic amphiphiles at low concentrations in aqueous solution. **Langmuir**, v. 15, n. 4, p. 1083-1089, 1999.

39. NOVAKI, L. P.; EL SEOUD, O. A. Microscopic polarities of interfacial regions of aqueous cationic micelles: effects of structures of the solvatochromic probe and the surfactant. **Langmuir**, v. 16, n. 1, p. 35-41, 2000.
40. SABATÉ, R; ESTELRICH, J. Determination of micellar microenvironment of pinacyanol by visible spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 17, p. 4137-4142, 2003.
41. GOHAIN, B; DUTTA, R. K. Premicellar and micelle formation behavior of dye surfactant ion pairs in aqueous solutions: deprotonation of dye in ion pair micelles. **Journal of colloid and interface science**, v. 323, n. 2, p. 395-402, 2008.
42. SABATÉ, R. et al. A spectroscopy study of the interaction of pinacyanol with n-dodecyltrimethylammonium bromide micelles. **Langmuir**, v. 17, n. 21, p. 6433-6437, 2001.
43. MUNTAHA, S. T; KHAN, M. N. Study of changes in conductivity and spectral behaviour before and after micelle formation in the dye-surfactant system. **Journal of Molecular Liquids**, v. 197, p. 191-196, 2014.
44. GOHAIN, B; SARMA, S; DUTTA, R. K. Protonated dye-surfactant ion pair formation between neutral red and anionic surfactants in aqueous submicellar solutions. **Journal of Molecular Liquids**, v. 142, n. 1-3, p. 130-135, 2008.
45. ANTHONY, O; ZANA, R. Effect of temperature on the interactions between neutral polymers and a cationic and a nonionic surfactant in aqueous solutions. **Langmuir**, v. 10, n. 11, p. 4048-4052, 1994.

APÊNDICE B

Tabela B 1 - Efeito da massa molecular no K_{AE} em diferentes CLAs nos sistemas formados PEG + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água, a 298,15 K.

Polímero	CLA	K_{AE}
PEG 1500	21,39	$0,083 \pm 0,007$
	28,35	$0,230 \pm 0,029$
	29,17	$0,313 \pm 0,043$
	34,34	$0,718 \pm 0,277$
	39,91	$2,587 \pm 0,734$
PEG 4000	41,48	$0,263 \pm 0,045$
	45,42	$0,361 \pm 0,115$
	50,93	$0,447 \pm 0,014$
	55,42	$2,494 \pm 0,782$
	60,72	$3,280 \pm 1,994$
PEG 6000	32,09	$0,014 \pm 0,002$
	34,98	$0,002 \pm 0,000$
	37,20	$0,068 \pm 0,041$
	40,99	$0,098 \pm 0,001$
	43,74	$0,126 \pm 0,033$

Fonte: Do autor

Tabela B 2 - Efeito do pH na separação do extrato de anato (K_{AE}) no sistema CLA 21,39 % PEG 1500 + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água, com $8,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ CTAB, at 298,15 K.

pH	K_{AE}
4,20	$1,03 \pm 0,08$
5,02	$0,65 \pm 0,03$
6,28	$0,56 \pm 0,03$
7,08	$0,55 \pm 0,08$
8,13	$0,46 \pm 0,09$
9,25	$0,46 \pm 0,07$
9,93	$0,49 \pm 0,13$

Fonte: Do autor

Tabela B 3 - Efeito da temperatura e valores de $\Delta_{\text{trs}}G^\circ$ e razão de distribuição do extrato de anato do sistema PEG 1500 + $\text{NaH}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ + água, com $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ CTAB: 273,15 K, 298,15 K, 308,15 K, 318,15 K.

CLA	K_{AE}	$\Delta_{\text{trs}}G^\circ$ (kJ mol ⁻¹)
283,15 K		
34,60	0,04 ± 0,02	7,70
40,55	0,02 ± 0,01	9,19
44,76	0,05 ± 0,01	7,25
49,22	0,11 ± 0,04	5,16
52,39	0,17 ± 0,02	4,13
298,15 K		
21,39	0,08 ± 0,01	6,17
28,35	0,23 ± 0,03	3,65
29,17	0,31 ± 0,04	2,88
34,34	0,72 ± 0,28	0,82
39,91	2,59 ± 0,73	-2,36
308,15 K		
32,85	0,05 ± 0,03	7,76
38,50	1,05 ± 0,12	-0,12
45,10	5,33 ± 1,17	-4,29
50,59	14,49 ± 7,75	-6,85
54,92	46,02 ± 10,18	-9,81
318,15 K		
33,78	4,06 ± 0,17	-3,71
37,50	8,97 ± 1,46	-5,80
43,46	17,47 ± 0,01	-7,57
49,18	24,57 ± 7,93	-8,47
52,08	54,63 ± 0,01	-10,58

Fonte: Do autor