

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE
MINAS GERAIS - IFSULDEMINAS**

Joyce Alves de Oliveira

**PARTIÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES EM SISTEMAS AQUOSOS
BIFÁSICOS FORMADOS POR POLÍMEROS, SAL E ÁGUA: UMA ALTERNATIVA
AMBIENTALMENTE SEGURA PARA A EXTRAÇÃO DE CORANTES DO
AÇAFRÃO (*Curcuma long L.*)**

POUSO ALEGRE/MG

2018

Joyce Alves de Oliveira

PARTIÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS, FORMADOS POR POLÍMEROS, SAL E ÁGUA: UMA ALTERNATIVA AMBIENTALMENTE SEGURA PARA A EXTRAÇÃO DE CORANTES DO AÇAFRÃO (*Curcuma long L.*)

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Martins

Co-orientador: Prof. Dr. Olímpio Gomes da Silva Neto

POUSO ALEGRE/MG

2018

O47p

Oliveira, Joyce Alves de

Partição de corantes curcuminóides em sistemas aquosos bifásicos formados por polímeros, sal e água: uma alternativa ambientalmente segura para extração de corantes do açafrão (*Curcuma Long L*) / Joyce Alves de Oliveira. – Pouso Alegre: [s.n.], 2018.

84 p.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Martins.

Dissertação (pós-graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais.

Inclui bibliografia

1. Coeficiente de partição. 2. Corante curcuminóides. 3. Sistema Aquoso bifásico. I Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. II. Título.


CDD: 664

Joyce Alves de Oliveira


PARTIÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS TERNÁRIOS, FORMADOS POR POLÍMEROS, SAL E ÁGUA: UMA ALTERNATIVA AMBIENTALMENTE SEGURA PARA A EXTRAÇÃO DE CORANTES DO AÇAFRÃO (*Curcuma long L.*)

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 13 de dezembro de 2018.



Prof. Dr. Flávio Adriano Bastos
IFSULDEMINAS



Prof. Dr. Olímpio Gomes da Silva Neto
Co-orientador – IFSULDEMINAS



Prof. Dr. João Paulo Martins
Orientador – IFSULDEMINAS

Dedico este trabalho à minha família, especialmente a minha querida esposa Micaela e meus queridos e amados filhos, Pedro Augusto e Murilo Mendes, pelo amor, apoio, e incentivo que sempre me proporcionaram.

AGRADECIMENTOS

À Deus, São Francisco de Assis e Nhá Chica fiéis companheiros que sempre estiveram e sempre estarão comigo em tudo que fizer nesta vida.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais pela disponibilização dos laboratórios para realização desta pesquisa, concessão de período de afastamento para término desta pesquisa e financiamento do projeto.

A FAPEMIG, Capes e ao CNPq pelo apoio e desenvolvimento do Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos no IFSULDEMINAS.

Ao Professor João Paulo Martins pela orientação, acima de tudo amizade, atenção, paciência, conselhos, ensinamentos, confiança e disponibilidade de atendimento até na sua casa diante de sua família maravilhosa, sua esposa Vera e sua filha Lavínia que sempre me acolheram com carinho. Te admiro muito João, por sua capacidade e imenso conhecimento de físico-química especialmente da Termodinâmica.

Ao Professor Olímpio Gomes da Silva Neto pela amizade, coorientação, que sempre foram importantes para conclusão deste projeto.

A minha querida esposa Micaela e meus queridos e amados filhos Pedro Augusto e Murilo Mendes, pela compreensão da minha ausência durante o período de realização de todo o mestrado.

Ao meu querido e amado sogro Vitor Calheiros *in memoriam*, por sempre acreditar que eu conseguiria entrar no mestrado, além de me ensinar grandes lições de vida, um pai de ensinamentos. Seu lema sempre foi: viver simples é simplesmente viver. VALEU TINHANHA.

Aos alunos da engenharia química Karina, Pedro, Danilo, Viviane, Caio e Renato pela grande contribuição durante o desenvolvimento desta pesquisa laboratorial.

As Técnicas de laboratório, Juliana, Andressa e Priscila por estarem sempre à disposição para ajudar com equipamentos, reagentes, até desligando equipamentos na minha ausência.

A empresa Cooperaçafrão – Cooperativa dos Produtores de Açafrão de Mara Rosa (GO) em nome de Laís Martins P. Vaz, pela doação de amostras de açafrão em pó e desidratado.

Ao meu amigo Davi Muro e família pela disposição de acomodação em seu apartamento em Pouso Alegre durante todo tempo que precisei.

A sobrevivência e a dependência de qualquer ser humano neste mundo, sempre estará ligada ao próximo, mesmo que sejam irmãos.

Do Autor – Pensamentos

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de partição de corantes curcuminóides oriundos do rizoma em pó do açafrão em sistemas aquosos bifásicos formados por polímero + sal + água. Foram utilizados os SAB formados por PEG1500+Na₂CO₃, PEG1500+Na₂SO₄, PEG400+Na₂SO₄ e PEG1500+NaOH em diferentes temperaturas e comprimentos de linhas de amarração. Todos os diagramas foram obtidos da literatura com exceção do sistema formado por PEG1500+Na₂CO₃+H₂O. O comportamento de partição da curcumina foi analisado baseado nos princípios da termodinâmica clássica por meio dos parâmetros $\Delta_{tr}G$, $\Delta_{tr}H$ e $\Delta_{tr}S$. O processo de transferência dos corantes entre as fases exibe coeficientes de partição (K) maior que um (K>1) em todos os sistemas estudados em pH = 12. Em sistemas com pH = 10 o K é menor que um (K<1) na maioria dos casos. O comportamento de partição é fortemente influenciado pelo pH, temperatura, natureza do eletrólito e composição das fases. Os sistemas formados por PEG1500+Na₂CO₃ obtiveram maiores coeficiente de partição quando comparados aos sistemas formados por PEG1500 ou 400 + Na₂SO₄ e PEG1500+NaOH. Os parâmetros termodinâmicos de transferência foram obtidos usando as equações clássicas da termodinâmica por meio do coeficiente de partição. Os cálculos revelam que $\Delta_{tr}G$ é negativo em todos os sistemas estudados mostrando que o processo de transferência dos corantes para a fase superior é espontâneo a temperatura e pressão constantes. Os cálculos de $\Delta_{tr}H$ e $\Delta_{tr}S$ mostram que ambas as variáveis termodinâmicas contribuem para a transferência dos corantes para a fase rica em polímero. A análise dos resultados mostra que há interações especiais dos corantes (entálpicas e entrópicas) com o polímero garantindo uma transferência majoritária dos corantes para a fase superior. Os resultados obtidos mostram claramente a viabilidade técnica de um novo processo para purificação/separação de corantes presentes no açafrão utilizando sistemas formados por polímero, água e sal em meio alcalino.

Palavras-chave: Sistema aquoso bifásico (SAB). Coeficiente de partição. Curcumina. Corante natural. Corante curcuminóides. Açafrão.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the partitioning behavior of natural dye turmeric powder in aqueous two-phase systems (ATP) composed of polymer + salt + water. The ATP formed by PEG1500 + Na₂CO₃, PEG1500 + Na₂SO₄, PEG400 + Na₂SO₄ and PEG1500 + NaOH were used for the partitioning experiments at different temperatures and tie line lengths (TLL). All the phase diagrams used were obtained from the scientific literature except the system formed by PEG1500+Na₂CO₃, which was built. The curcumin partitioning behavior was analyzed based on the principles of classical thermodynamics using the $\Delta_{tr}G$, $\Delta_{tr}H$ and $\Delta_{tr}S$ parameters. The dye transfer process between the phases exhibited partition coefficients (K) greater than one ($K > 1$) in all systems studied at pH = 12. In systems with pH = 10, K is less than one ($K < 1$) in most cases. The partitioning behavior was shown to be strongly influenced by the pH, the temperature, the nature of the electrolyte and the composition of the phases. The systems formed by PEG1500 + Na₂CO₃ obtained the highest partitioning coefficients when compared to the systems formed by PEG1500 or 400 + Na₂SO₄ and PEG1500 + NaOH. The thermodynamic transfer parameters were obtained using the classical thermodynamic equations by means of the partition coefficient. The results of the $\Delta_{tr}G$ obtained by calculations were negative in all systems studied, showing that the dye transfer process to the top phase is spontaneous at constant pressure and temperature. The calculations of $\Delta_{tr}H$ and $\Delta_{tr}S$ showed that both thermodynamic variables contributed to dye transfers to the polymer-rich phase. The results showed that there are special interactions between the dyes (enthalpic and entropic) and the polymer, guaranteeing a major transfer of the dyes to the top phase. The results obtained clearly show the technical viability of a new process for purification / separation of dyes present in turmeric by using systems formed by polymer, water and salt in alkaline environment.

Key words: Aqueous Two-Phase Systems (ATPS). Partition coefficients. Curcumin. Dye curcuminoid. Turmeric.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Abs. – Absorbância

a – Atividade

ATPS – Aqueous Two Phase Systems

BDMC – Bis-Demetoxicurcumina

CC – Curcumina

CFI – Composição da fase inferior (%(m/m))

CFS – Composição da fase superior (%(m/m))

CG – Composição Global

CLA – Comprimento da Linha de Amarração

CO₃²⁻ – Ânion carbonato

DMC – Demetoxicurcumina

ELL – Extração Líquido-Líquido

EO – Óxido de etileno (parte repetitiva do PEG)

FI – Fase Inferior

FI – Fase Inferior do Sistema Aquoso Bifásico

FS – Fase Superior

FS – Fase Superior do Sistema Aquoso Bifásico

GRAS – Generally Recognized As Safe

i – componente arbitrário i

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ILA – Inclinação da Linha de Amarração

IUPAC – International Union Pure Applied Chemistry

j – componente arbitrário j

K – Coeficiente termodinâmico de partição

LA – Linha de Amarração

M_{GF1} – Massa Molar do grupo funcional 1 do polímero (g mol⁻¹)

M_{GF2} – Massa Molar do grupo funcional 2 do polímero (g mol⁻¹)

M_{mon} – Massa Molar do monômero (g mol⁻¹)

M_{pol} – Massa Molar do polímero (g mol⁻¹)

N – Número total de sítios reticulares no modelo de Haynes

Na₂CO₃ – Carbonato de sódio

Na₂SO₄ – Sulfato de Sódio

NaOH – Hidróxido de Sódio

n^{FI} – Número de moléculas na fase inferior

n^{FS} – Número de moléculas na fase superior

OH⁻¹ – Ânion hidróxido

OMS – Organização Mundial da Saúde

PC – Ponto Crítico

PEG – Polímero Polietileno glicol

PEG1500 – Polímero Polietileno glicol de massa molar média numérica 1500 g mol⁻¹

PEG400 – Polímero Polietileno glicol de massa molar média numérica 400 g mol⁻¹

PG – Ponto Global

pH – Potencial hidrogeniônico

R² – Coeficiente de determinação

SAB – Sistemas Aquosos Bifásicos

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio as micro e pequenas Empresas

SO₄⁻² – Ânion sulfato

SVS/MS – Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde

T – Temperatura na escala absoluta (Kelvin)

UV/VIS – Ultravioleta na Região do Visível

V^{Fi} – Volume de moléculas na fase inferior

V^{FS} – Volume de moléculas na fase superior

Wi,j – Parâmetro interacional do par potencial i–j (J.mol⁻¹) no modelo de Haynes

X_i – Grau de polimerização do polímero no modelo de Haynes

Z – Número de moléculas vizinhas no modelo de Haynes

[H₂O] – concentração de água (%(m/m))

[PEG] – Concentração de PoliEtileno Glicol (%(m/m))

[POL^{FI}] – Concentração de polímero na fase inferior (%(m/m))

[POL^{FS}] – Concentração de polímero na fase superior (%(m/m))

[SAL^{FI}] – Concentração de sal na fase inferior (%(m/m))

[SAL^{FS}] – Concentração de sal na fase superior (%(m/m))

[ΔH₂O] – Diferença de concentração de água entre as fases superior e inferior (%(m/m))

[ΔPEG] – Diferença de concentração de polímero PoliEtileno Glicol entre as fases superior e inferior %(m/m))

[ΔSAL] – Diferença de concentração de Sal entre as fases superior e inferior %(m/m))

°C – Grau Celsius

ΔG_{sist} – energia livre de Gibbs do sistema (kJ mol^{-1})

$\Delta_{\text{mix}} H$ – Variação da entalpia do processo de mistura (J mol^{-1})

$\Delta_{\text{mix}} S$ – Variação de entropia do processo de mistura ($\text{kJ mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)

$\Delta_{\text{mix}} U$ – Variação da energia interna do processo de mistura (kJ mol^{-1})

$\Delta_{tr} G$ – Variação energia livre de Gibbs de transferência (kJ mol^{-1})

$\Delta_{tr} G$ – variação da energia livre de Gibbs de transferência (kJ mol^{-1})

$\Delta_{tr} H$ – Variação da entalpia de transferência (kJ mol^{-1})

$\Delta_{tr} S$ – Variação da entropia de transferência (kJ mol^{-1})

λ – Comprimento de onda (nm)

α – Coeficiente de atividade

ρ – Densidade numérica de sítios reticulares no modelo de Haynes

Φ – Fração volumétrica de sítios reticulares no modelo de Haynes

Γ_{ii} – Energia de rompimento das interações intermoleculares no modelo de Haynes entre o componente i

Γ_{ij} – Energia de rompimento das interações intermoleculares no modelo de Haynes entre os componentes i e j

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Rizomas do açafrão da terra/corante curcuminóides.....	20
Figura 2 - Estruturas químicas bidimensionais e nomes oficiais IUPAC dos corantes curcuminóides.....	21
Figura 3 – Hipótese de estruturas químicas em 3D espaciais dos corantes curcuminóides.....	22
Figura 4 - Representação de um Sistema Aquoso Bifásico (SAB) com polímero.....	25
Figura 5 – Diagrama de fase de SAB expresso em coordenadas retangulares.....	25
Figura 6 - Estruturas químicas do polímero Polietileno Glicol.....	27
Figura 7 - Sistema Aquoso Bifásico (SAB) formado por polímero + sal + água.....	39
Figura 8 - SAB com curcumina concentrada na fase superior e tubo em “branco”.....	39
Figura 9 - Diagrama de equilíbrio de fase para sistema formado por PEG1500+Na ₂ CO ₃ +H ₂ O a 288,15K, 298,15K e 308,15K em pH 12.....	42
Figura 10 – Diagrama da correlação linear entre absorvância e a concentração de curcumina em pH 12 e 469,0 nm.....	43
Figura 11 – Diagrama do coeficiente de partição da curcumina para o ponto global 1 PEG1500 + Na ₂ SO ₄ em pH 10 e pH 12.....	44
Figura 12 - Diagrama do Coeficiente de partição da curcumina para o ponto global 2 PEG1500 + Na ₂ SO ₄ em diferentes pH.....	44
Figura 13- Solubilidade da curcumina em solução 20% de NaOH (à esquerda) e Solução de PEG1500 pH 12 (à direita).....	46
Figura 14 - Diagrama do K médio x Massa de curcumina no ponto global 1 em PEG400+Na ₂ SO ₄ em pH 12 a 298,15K.....	47
Figura 15 - Diagrama do K médio x Massa de curcumina no ponto global 2 em PEG400+Na ₂ SO ₄ em pH 12 a 298,15K.....	48
Figura 16 – Diagrama $\Delta_r G$ x Massa de corante curcuminóides nos pontos globais 1 e 2 em PEG400+Na ₂ SO ₄ , pH = 12 a 298,15K.....	49
Figura 17 – Diagrama do Influência da temperatura e do comprimento da linha de amarração no coeficiente de partição para 10 mg de curcumina em PEG1500 + Na ₂ CO ₃ em pH 12 nas temperaturas 288,15K, 298,15K e 308,15K.....	50
Figura 18 - Diagrama da Variação da Entalpia de transferência de Gibbs ($\Delta_r H$) versus Comprimento da Linha de Amarração (CLA) em PEG1500+Na ₂ CO ₃ nas temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K em pH 12.....	51
Figura 19 - Diagrama da Influência dos pontos globais e a massa de curcumina no coeficiente de partição em PEG1500+Na ₂ CO ₃ a temperatura de 288,15K em pH 12.....	52
Figura 20 - Diagrama da Influência dos pontos globais e da energia livre de transferência no coeficiente de partição em PEG1500+Na ₂ CO ₃ a temperatura de 288,15K em pH 12.....	53
Figura 21 - Diagrama da Influência da massa de curcumina com o coeficiente de partição em PEG1500+Na ₂ CO ₃ a temperatura de 298,15K em pH 12.....	54
Figura 22 - Diagrama da Influência dos pontos globais e da energia livre de transferência no coeficiente de partição transferência em PEG1500+Na ₂ CO ₃ a temperatura de 298,15K em pH 12.....	55
Figura 23 - Diagrama da Relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e a entalpia de transferência ($\Delta_r H$) em PEG1500+Na ₂ CO ₃ em diferentes temperaturas em pH 12.....	56
Figura 24 - Diagrama da Relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e a entropia de transferência ($\Delta_r S$) em PEG1500+Na ₂ CO ₃ em diferentes temperaturas em pH 12.....	56

Figura 25 - Diagrama $\ln K$ versus $1/T$ do SAB PEG1500+Na ₂ CO ₃ em pH = 12 nas temperaturas de 288,15, 298,15 e 308,15K.....	57
Figura 26 - Diagrama da Influência dos pontos globais e a massa de curcumina no coeficiente de partição a em PEG1500+NaOH a temperatura de 298,15K.....	59
Figura 27 – Diagrama da Relação entre energia livre de transferência de Gibbs ($\Delta_{tr}G$) e a massa de curcumina em PEG1500+NaOH a temperatura de 298,15K em pH 12.....	60
Figura 28 - Diagrama do Coeficiente de partição (K) da curcumina em função do comprimento da linha de amarração (CLA) em sistemas formados por PEG1500+Na ₂ CO ₃ , a 298,15K em pH = 12.....	61
Figura 29 - Diagrama do Coeficiente de partição (K) da curcumina em função do comprimento da linha de amarração (CLA) em sistemas formados por PEG400+Na ₂ SO ₄ , a 298,15K em pH = 12.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composições globais utilizadas para construção do diagrama formado por PEG 1500 + Na ₂ CO ₃ + H ₂ O nas temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K.....	38
Tabela 2 - Dados de equilíbrio para o sistema PE1500+Na ₂ CO ₃ em temperaturas de 288,15K, 298,15K e.....	41
Tabela 3 - Relação de solubilidade de curcumina por grama de solução.....	46
Tabela 4 - Medidas entre o coeficiente de partição (K) com massa de curcumina e variação de energia Livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para PEG400 + Na ₂ SO ₄ em pH = 12 a 298,15K.....	47
Tabela 5 - Relação entre o coeficiente de partição (K) e variação de energia livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para 10 mg de corante para três pontos globais de PEG1500+Na ₂ CO ₃ em 288,15K, 298,15 e 308,15K.....	50
Tabela 6 - Relação entre o coeficiente de partição (K) e variação de energia livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para 10, 20, 40 e 60mg de curcumina para três pontos globais de PEG1500+Na ₂ CO ₃ em 288,15.....	52
Tabela 7 - Relação entre o coeficiente de partição (K) e variação de energia livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para 10, 20, 40 e 60mg de curcumina para três pontos globais de PEG1500+Na ₂ CO ₃ em 298,15.....	54
Tabela 8 - Parâmetros termodinâmicos $\Delta_{tr}G$, $\Delta_{tr}H$ e $\Delta_{tr}S$ obtidos para transferência da curcumina no SAB PEG1500 + Na ₂ CO ₃ em temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K...	55
Tabela 9 - Relação entre o coeficiente de partição (K), massa de curcumina e variação de energia livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para o sistema PEG1500 + NaOH a 298,15K.....	59
Tabela 10 - Relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e o coeficiente de partição (K) para 10 mg de curcumina com PEG1500+Na ₂ CO ₃ , Na ₂ SO ₄ e NaOH em pH 12 na temperatura de 298,15K.....	62
Tabela 11 - Influência do comprimento da linha de amarração (CLA) com o coeficiente de partição (K) para 10 mg de curcumina com PEG1500+Na ₂ SO ₄ e PEG400+Na ₂ SO ₄ em pH 12 na temperatura de 298,15K.....	64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 Corantes/Aditivos.....	19
2.2 Açafrão.....	19
2.3 Curcumina.....	21
2.3.1 Propriedades Medicinais/Farmacológicas da curcumina.....	22
2.4 Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB).....	23
2.4.1 Interpretação do Diagrama de fases expresso em coordenadas retangulares.....	25
2.4.2 Componentes das fases.....	27
2.4.2.1 Polietileno Glicol (PEG).....	27
2.4.2.2 Hidróxido de Sódio (NaOH).....	28
2.4.2.3 Carbonato de Sódio (Na ₂ CO ₃).....	28
2.4.2.4 Sulfato de Sódio (Na ₂ SO ₄).....	28
2.4.3 Partição de Solutos.....	29
2.4.4 Parâmetros Termodinâmicos de transferência.....	29
2.4.5 Parâmetros termodinâmicos de transferência versus coeficientes de partição (K).....	31
2.4.6 Teoria de Flory-Huggins sobre os parâmetros de partição em SAB.....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1 Materiais.....	36
3.1.1 Reagentes.....	36
3.1.2 Equipamentos.....	36
3.2 Método.....	37
3.2.1 Construção de diagramas de fases.....	37
3.2.2 Partição dos corantes curcuminóides.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
4.1 Diagramas de fases.....	41
4.2 Resultados da partição de corantes curcuminóides.....	42
5 CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS.....	67
ANEXO A - “PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”.....	72

1 INTRODUÇÃO

A cor de um produto está totalmente relacionada com sua aceitação pelo consumidor exercendo efeito estimulante ou inibidor na sua aquisição. A aparência de um produto antecipa-se na recepção a todas as outras informações e pode produzir respostas fortes pelo consumidor como: “sensação de água na boca”. A frase “A beleza é fundamental” do poeta Vinícius de Moraes é também seguida à risca pela indústria de alimentos que recorre a vários corantes sintéticos e naturais para melhorar a aparência dos produtos e atrair o consumidor. A indústria tem buscado substituir corantes sintéticos por corantes naturais, devido ao fato destes apresentarem baixo risco a saúde dos consumidores. Por essa razão, a demanda de corantes naturais pela indústria tem aumentado substancialmente, pois a população tem evitado o consumo de produtos que são coloridos artificialmente. Neste contexto o corante natural tem encontrado um grande espaço de uso na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica.

Os corantes curcuminóides são encontrados naturalmente nos rizomas do açafrão (*Curcuma long L.*) e exibem coloração amarelo ouro *in natura*. Eles são amplamente utilizados como condimento alimentício e possuem atividades antimicrobianas e antioxidantes que lhes conferem a possibilidade de uso nas áreas alimentícia, medicinal, têxtil e cosméticos. As espécies químicas que lhes conferem a cor são formadas basicamente por três análogos de cromóforos curcuminóides: A curcumina (CC) e seus dois derivados dimetoxilados, a dimetoxi-curcumina (DMC) e a bis-dimetoxi-curcumina (BDMC).

Existem inúmeras técnicas capazes de remover os corantes oriundos do rizoma, sendo a extração líquido-líquido (ELL) a mais empregada. Os solventes são em sua maioria compostos orgânicos voláteis. Todavia, o uso desta técnica clássica apresenta vários problemas de ordem ambiental e de saúde devido à alta toxicidade dos compostos utilizados. Neste sentido é necessário o uso de novas tecnologias de extração que visem a redução ou eliminação de produtos nocivos ao meio ambiente em acordo com os princípios da química verde (LENARDÃO et al., 2003).

Dentro deste contexto, os sistemas aquosos bifásicos (SAB) se destacam como processo de extração líquido-líquido (ELL) ambientalmente seguro, podendo ser utilizado para extrair e recuperar muitos tipos de moléculas de interesse biotecnológicos, tais como proteínas, peptídeos e outras pequenas moléculas bioativas. Os Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB) são sistemas constituídos em sua grande parte por água, sendo seus demais constituintes polímeros e sais (compostos de baixa toxicidade e não inflamáveis), o que torna esse sistema de extração seguro. Estes sistemas têm um enorme potencial de extração e separação de biomoléculas como

os corantes curcuminóides. A literatura descreve uma extensa quantidade de combinações de substâncias químicas capazes de originar um Sistema Aquoso Bifásico (SAB). Estas combinações são obtidas por tentativa e erro, uma vez que não há uma teoria capaz de prever quais relações entre as espécies químicas resultariam na segregação de fases e consequentemente a formação destes sistemas.

O presente trabalho tem como objetivo geral o estudo da partição/extração dos corantes curcuminóides presentes no açafrão, utilizando sistemas aquosos bifásicos, com vistas ao desenvolvimento de um processo eficiente, economicamente viável e ambientalmente seguro para a obtenção de corantes curcuminóides com elevado grau de pureza a partir do rizoma do açafrão além dos objetivos específicos: Analisar os efeitos da temperatura, natureza do polímero, natureza do eletrólito e efeito do pH na partição de corantes curcuminóides, avaliando os parâmetros termodinâmicos entálpicos e entrópicos na partição de corantes curcuminóides.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Corantes/Aditivos

De acordo com o item 1.2 da Portaria 540/97 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SVS – MS),

Corantes são aditivos alimentícios definidos como toda substância que confere, intensifica ou restaura a cor de um alimento, os sucos e extratos vegetais estão excluídos desta definição. Existem três categorias de corantes permitidas pela legislação para uso em alimentos: os corantes naturais, o corante caramelo e os corantes artificiais. Considera-se corante natural, o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal. O corante caramelo é o produto obtido a partir de açúcares pelo aquecimento em temperatura superior ao seu ponto de fusão e ulterior tratamento indicado pela tecnologia. Já o corante artificial é a substância obtida por processo de síntese (com composição química definida) (BRASIL, 1997, n. p.).

O uso de aditivos químicos pela indústria alimentícia é um dos avanços tecnológicos mais questionados atualmente (RITA, 2009).

A literatura reporta um vasto portfólio de processos tecnológicos de extração líquido-líquido (ELL) que recorrem a solventes orgânicos voláteis, tóxicos, cancerígenos e inflamáveis para efetuar a purificação/pré-concentração de inúmeras moléculas com finalidades de explorar seus potenciais econômicos e científicos (DA SILVA, 2005)

Inúmeras agências de proteção ambiental de vários países, tem instigados os governos a criarem leis ambientais mais severas que visam minimizar a utilização de espécies químicas potencialmente prejudiciais à saúde humana e ao ecossistema (NAMEROFF; GARANT; ALBERT, 2004).

“Alimentos ‘mais limpos’ e saudáveis será objetivo futuro da indústria de alimento, introduzindo nos seus produtos aditivos naturais. O uso de corantes naturais será a estratégia de sucesso das grandes empresas do setor para diferenciar da concorrência” (QUIROGA, 2016).

2.2 Açafrão

O açafrão é uma planta que tem sua origem na Ásia (leste indiano) e foi introduzida no Brasil pelos colonizadores. O nome científico do açafrão é *Curcuma long* L., pertencente à família das *Zingiberácea* e produtora de rizomas (raízes/tubérculos) tradicionalmente conhecidos no mercado internacional como “turmeric” (DUARTE et al., 1989). Ela é

conhecida popularmente como açafrão, açafrão-da-terra, gengibre amarelo e cúrcuma. O açafrão é cultivado em países como: Índia, China, Peru, Haiti, Paquistão e Brasil. Atualmente a maior produtora desta planta é a Índia e detém aproximadamente 80% da produção mundial com uma produtividade média de 22 t.ha⁻¹ de rizoma *in natura*. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) o Brasil cultiva o açafrão nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás. O município de Mara Rosa (GO) se destaca como o maior produtor brasileiro e responsável por 90% da produção nacional (SEBRAE, 2007). A produção brasileira corresponde a 1% da produção mundial tendo uma produtividade média em algumas regiões da ordem de 16,5 t.ha⁻¹ do produto verde (*in natura*) e 3,2 t.ha⁻¹ do produto processado seco, com a vantagem de a colheita ser realizada na entressafra indiana (junho a setembro) agregando maior valor ao nosso açafrão (MARQUES; BIANCHINI; BATISTA, 2015). Os principais importadores desta especiaria são os Estados Unidos, Alemanha, Japão e Holanda.

Figura 1 - Rizomas do açafrão da terra/corante curcuminóides



Fonte: <https://www.brasildefato.com.br/2017/04/27/acafrao-tem-acao-anti-inflamatoria-e-antibacteriana>

O interesse nos últimos anos pela cúrcuma tem aumentado, devido ao fato dela conter pigmentos naturais curcuminóides de cor similar a tartrazina, que é um corante amarelo sintético muito utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica, porém estudos apontam que seu uso tem provocado reações adversas à saúde humana (SOMASUNDARAM et al., 2002). A cúrcuma é bastante conhecida e explorada pela medicina asiática tradicional, sendo amplamente utilizada como digestivo, cominativo, antiespasmódico, antioxidante,

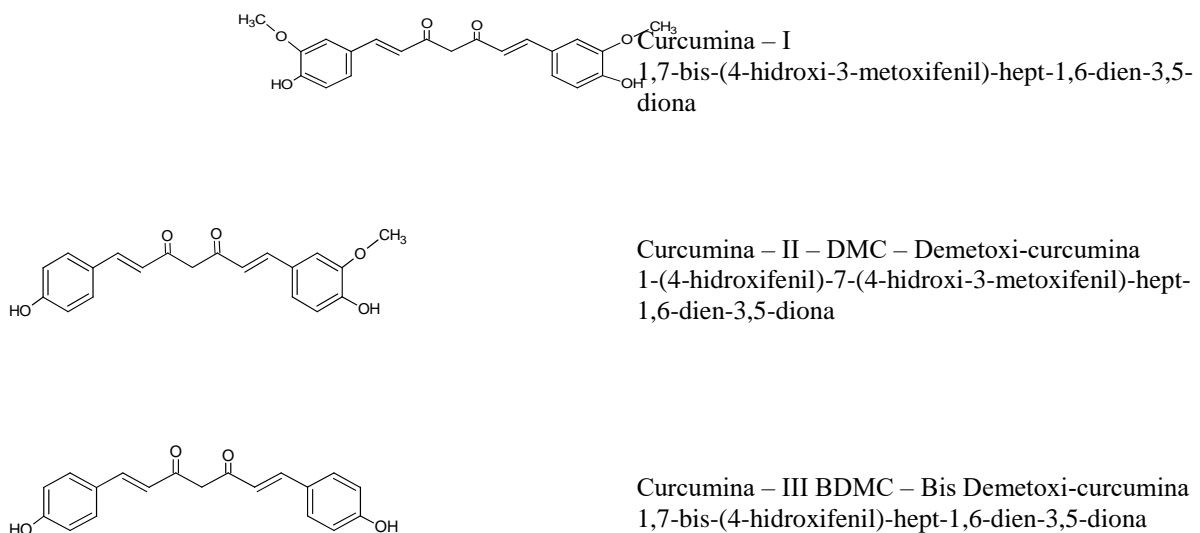
antidiarreico, diurético, excitante, nas doenças do fígado, como tônico no tratamento de úlceras, no tratamento de tosse e resfriados comuns e, externamente, como pomada na cicatrização de feridas (GOVINDARAJAN, 1980).

2.3 Curcumina

A curcumina é o principal corante presente nos rizomas da cúrcuma (*Cúrcuma longa* L.). Além de ser utilizada como corante e condimento, apresenta substâncias antioxidantes e antimicrobianas que lhe conferem a possibilidade de emprego nas áreas de cosméticos, têxtil, medicinal e de alimentos.

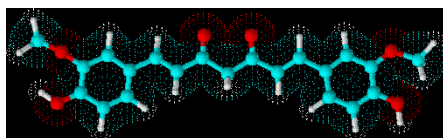
Os corantes encontrados no açafrão estão localizados no rizoma desta planta e possuem uma coloração amarelo ouro e são extraídos, atualmente, com solventes orgânicos como metanol e éter de petróleo devido sua baixa solubilidade em água. O rizoma contém de 2,5 a 8,0 (% m/m) do principal cromóforo, que é conhecido como curcumina (ARAUJO, 1999). Alguns estudos mostram que é possível solubilizar a curcumina em água utilizando-se substâncias capazes de criar um ambiente micelar e através da complexação de curcumina com ciclodextrina (TONNESEN; MASSON; LOFTSSON, 2002). A curcumina comercial contém basicamente três tipos de compostos cromóforos curcuminóides com as seguintes composições mássicas aproximadas: Curcumina I - 80%, II - 17% e III - 3% (CHIGNELL et al., 1994). Os três componentes apresentam espectro de absorção máxima na faixa de 420 a 425 nm em álcool, o que justifica a prática usual de se expressar a cor total como curcumina (IAL, 2008).

Figura 2 - Estruturas químicas bidimensionais e nomes oficiais IUPAC dos corantes curcuminóides

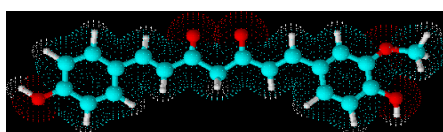


Fonte: ACD/ChemSketch® Freeware Versão 2018.

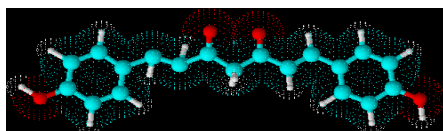
Figura 3 – Hipótese de estruturas químicas em 3D espaciais dos corantes curcuminóides



Curcumina – I



Curcumina – II – DMC



Curcumina – III - BDMC

Fonte: ACD/ChemSketch® Freeware Versão, 2018.

Os corantes curcuminóides são formados por compostos polifenólicos responsáveis pela cor amarela característica dos rizomas da *C. longa*. O rizoma possui também um óleo essencial (3 a 5%), de cor laranja, rico em sesquiterpenos.

A curcumina apresenta absorção máxima entre 415 e 420nm em acetona, coloração amarela brilhante na faixa de pH de 2,5 – 7,0 e coloração vermelha em pH > 7. A curcumina apresenta uma larga banda de fluorescência em acetonitrila ($\lambda_{\text{max}} = 557 \text{ nm}$) ou em solução micelar ($\lambda_{\text{max}} = 557 \text{ nm}$) (DAHL et al., 1994). Produz oxigênio singlete (molécula de oxigênio muito reativa, representada por $^1\text{O}_2$), após irradiação ($\lambda_{\text{max}} > 400 \text{ nm}$) em tolueno ou acetonitrila (DAS, 2002).

2.3.1 Propriedades Medicinais/Farmacológicas da curcumina

Inúmeros estudos mostram que a degradação da curcumina é um processo complexo, que depende do pH e da exposição da solução do composto a radiação na região UV/VIS (DAHL et al., 1994). Estes trabalhos serviram de base para ensaios fotobiológicos para medir a atividade da curcumina frente a sistemas com bactérias usadas como indicador. Na presença de radiação na região do visível, a curcumina se mostrou como fototóxica para *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* em baixas concentrações (TONNESEN et al.,

1987). A fototoxicidade da curcumina possibilita a criação de fototerapias para tratamento de doenças, como a psoríase, câncer e doenças de origem bacteriana e viral.

Estudos indicam uma enorme variedade de atividades farmacológicas do corante natural curcumina como: anti-inflamatório, antioxidante, anticancerígena, antiviral e antibacteriana (ARAUJO; LEON, 2001). Todas estas atividades foram observadas *in vitro* e *in vivo* (ratos).

Claeson et al. (1993), realizaram estudos e sugeriram que a ação responsável pela atividade anti-inflamatória está associada a existência de grupos dicarbonílicos e das duplas ligações conjugadas (dienos) presentes na molécula da curcumina. Aparentemente estes grupos químicos são responsáveis pela atividade antiparasitária.

Segundo a OMS – Organização Mundial da saúde, o câncer é responsável por 31,7% das mortes nos EUA e 9,5% na Índia. A alimentação dos indianos, rica em curry, pode explicar a incidência menor da doença no país. Mas, embora o estilo de vida seja um fator importante no desenvolvimento do câncer, não se pode esquecer que nos EUA as pessoas vivem mais. Como há mais idosos, a incidência de câncer tenderia a aumentar. Devido a sua alta lipofilicidade (tem afinidade e é solúvel em lipídios/gorduras) os corantes curcuminóides possuem melhor penetração na pele (ARAUJO et al., 1999) o que pode facilitar o desenvolvimento de produtos cosméticos/farmacêuticos que ajudam na prevenção e/ou tratamento de doenças dermatológicas.

Atualmente ocorre uma crescente preferência dos consumidores por alimentos livres de cores sintéticas. Na Europa essa preferência é muito mais intensa devido uma legislação bastante atuante. Nos EUA, Japão e Austrália a utilização de corantes naturais em alimentos vem ganhando muita força nos últimos anos. No Brasil há apoio de órgãos públicos a empresas alimentícias para que utilizem corantes naturais, especialmente em alimentos infantis. A curcumina pura não é ideal para aplicação direta em alimentos, devido a sua baixa solubilidade em água é necessário convertê-la em forma adequada para uso. É comum misturar a curcumina com solventes e emulsificantes de grau alimentício. Além dessa forma, é possível encontrar suspensões de curcumina em óleo vegetal.

2.4 Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB)

O Sistema Aquoso Bifásico (SAB) foi descoberto por Beijerinck em 1896, quando misturou soluções aquosas de ágar e gelatina variando as concentrações e temperatura, ocorrendo espontaneamente a separação das fases quando em repouso (RODRIGUES, 2009).

Após a década de 80, os SAB foram utilizados na extração de vários solutos como: nano partículas, complexos inorgânicos e purificar ou pré-concentrar compostos hidrofóbicos, que sempre foi considerado como uma limitação do uso da técnica (BRAAS; WALKER; LYDDIATTI, 2000).

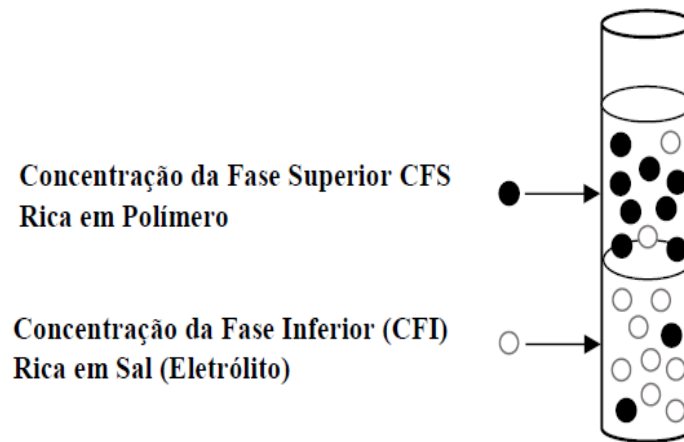
Pesquisas de novos SAB tem ganho destaque atualmente devido as legislações ambientais cada vez mais rígidas e com a necessidade de geração de metodologias ambientalmente segura além de ter sido considerada uma ferramenta de grande potencialidade e de alto desempenho (MARTINS et al., 2009).

Os SAB (em inglês Aqueous Two Phase Systems (ATPS)) desempenham um papel estratégico importante, pois as duas fases são formadas predominantemente por água (70-90%). A grande quantidade de água proporciona a formação de um ambiente adequado para biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos, vírus, entre outras, favorecendo o uso da técnica utilizando SAB na separação e purificação de biomoléculas sem afetar sua atividade e estrutura (PEREIRA et al., 2003; SU e CHIANG, 2006; TUBÍO et al., 2009). Atualmente existem poucos estudos realizados com aplicação destes sistemas, seja na extração de íons ou quando comparados com aqueles aplicados na extração/partição de biomoléculas.

A formação de um SAB ocorre quando dois polímeros quimicamente diferentes e solúveis em água, ou um polímero e um sal inorgânico, são misturados em água desde que determinadas condições termodinâmicas (temperatura, pressão e composição mássica dos constituintes) sejam estabelecidas (DA SILVA et al. 2006). Geralmente estas misturas aquosas são formadas por um polímero e um sal, por dois polímeros com estruturas químicas diferentes, ou por dois sais sendo um deles um líquido iônico, todos solúveis em água (HO-GUTIERREZ et al., 1994).

O SAB formado a partir de uma mistura de polímero, sal e água, numa certa composição global (CG) /Ponto Global (PG) origina uma da fase rica em polímero (CFS) e a outra rica em eletrólito (CFI) e em ambas as fases há predominância da água. A figura 03 abaixo ilustra simplificada o que é um SAB.

Figura 4 - Representação de um Sistema Aquoso Bifásico (SAB) com polímero

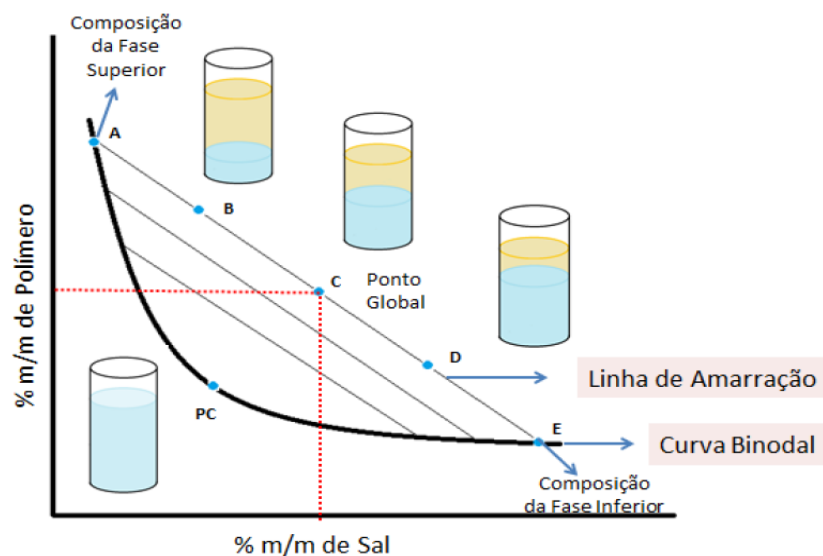


Fonte: Elaborado pelo autor.

No equilíbrio termodinâmico as propriedades intensivas de cada fase não se alteram, porém do ponto de vista de dinâmica molecular há uma transferência contínua de material de entre as fases. As fases do sistema possuem propriedades intensivas diferentes, como índice de refração, entalpia molar, composição, densidade e viscosidade. Este equilíbrio é mantido desde que certas condições termodinâmicas, como temperatura e pressão, sejam preservadas.

2.4.1 Interpretação do Diagrama de fases expresso em coordenadas retangulares

Figura 5 – Diagrama de fase de SAB expresso em coordenadas retangulares



Fonte: JUNQUEIRA, 2014.

A composição química das duas fases do SAB que se encontram em equilíbrio é geralmente representada em um diagrama retangulares.

No diagrama retangular representado na figura 5, o eixo das abscissas representa a composição do eletrólito e o das ordenadas a composição do polímero presente no sistema. O diagrama define as composições globais (CG) em que o sistema é monofásico ou bifásico além de explicitar a composição da fase superior (CFS) e inferior (CFI). A linha/curva binodal (CFS-Pc-CFI) separa a região bifásica da monofásica.

As linhas de amarração (LA) são segmentos de retas que ligam pontos no diagrama que correspondem a composição das duas fases em equilíbrio. Qualquer grupamento de pontos que pertençam à região bifásica e que estejam sobre a mesma LA fornecerá fases superiores que possuirão propriedades termodinâmicas intensivas como: densidade, volume molar, entalpia, entropia, energia livre de Gibbs etc. iguais, contudo, sendo distintas a suas variáveis termodinâmicas extensivas (massa, volume, etc.).

A medida do comprimento da linha de amarração (CLA) é um parâmetro termodinâmico intensivo importante que é utilizada no estudo da separação de fases em SAB que mostra o quão distinto são as propriedades intensivas de cada fase. O CLA é determinado utilizando a relação de Pitágoras para o triângulo retângulo, de acordo com a equação 1.

$$CLA = \sqrt{[\Delta POL]^2 + [\Delta SAL]^2} \quad (1)$$

Em que, ΔPOL e ΔSAL correspondem à diferença de concentração de polímero e de sal nas fases superior e inferior expressa em % mássica, respectivamente.

Outro parâmetro a ser considerado é o valor da inclinação da linha amarração ILA pode ser calculado pela equação 2.

$$ILA = \frac{[POL]^{FS} - [POL]^{FI}}{[SAL]^{FS} - [SAL]^{FI}} \quad (2)$$

Em que $[POL]^{FS}$ representa a concentração mássica do polímero na fase superior, $[POL]^{FI}$ a concentração mássica do polímero na fase inferior, $[SAL]^{FS}$ concentração mássica do sal na fase superior e $[SAL]^{FI}$ a concentração mássica do sal na fase inferior.

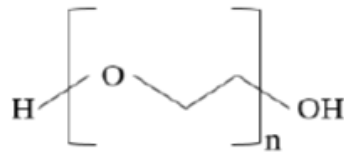
O ponto crítico (PC) é aquele em que as propriedades físico-químicas, principalmente, composição molar e volume das duas fases são teoricamente iguais. Quanto mais a composição do sistema se aproxima do PC, menor será a diferença das propriedades intensivas entre fases.

2.4.2 Componentes das fases

2.4.2.1 Polietileno Glicol (PEG)

O polietileno glicol (PEG) é um dos polímeros mais utilizados em SAB, com características hidrofílicas e não iônico. Sua estrutura consiste de monômeros de etileno glicol de acordo com a figura 6.

Figura 6 - Estruturas químicas do polímero Polietileno Glicol



O grau de polimerização de um polímero é um número que indica quantas vezes o monômero se repete ao longo da cadeia polimérica e pode ser calculado de acordo com a equação 3.

$$N = (M_{polímero} - M_{GF1} - M_{GF2}) / M_{monômero} \quad (3)$$

A letra “N” representa o grau de polimerização, $M_{polímero}$, $M_{monômero}$, M_{GF1} e M_{GF2} , as massas molares do polímero, do monômero e dos Grupos Funcionais 1 e 2 respectivamente. A unidade constitucional repetitiva está relacionada com a estrutura da cadeia macromolecular e com o processo de polimerização, ou seja, o método de síntese da macromolécula é que governará o tamanho da macromolécula.

O estado físico do PEG à temperatura ambiente está relacionado com sua massa molar, ou seja, PEG com massas molares de 400 a 600 $g.mol^{-1}$ são líquidos e PEG com massa molar igual a 1000 $g.mol^{-1}$ é um sólido pastoso enquanto que PEG com massa molar superior a 1000 $g.mol^{-1}$ são sólidos).

O PEG possui várias propriedades de interesse biotecnológico, sendo as relacionadas com SAB as mais importantes como: insolúvel em éter etílico e hexano, solúvel em água, forma

SAB com soluções aquosas de outros polímeros ou sais. É atóxico sendo classificado como produto GRAS (Generally Recognized As Safe), é biodegradável, não diminui atividades de materiais biológicos (HARRIS, 1992).

2.4.2.2 *Hidróxido de Sódio (NaOH)*

O hidróxido de sódio (NaOH), também conhecido como soda cáustica, é um hidróxido cáustico usado na indústria (principalmente como uma base química) na fabricação de papel, tecidos, detergentes, alimentos e biodiesel. É produzido por eletrólise de uma solução aquosa de cloreto de sódio (salmoura). É um sólido branco, muito higroscópico, inorgânico, comercializado na forma escamas, pó, lentilhas, pérolas e micro pérolas. Apresenta densidade de 2,12 g.ml⁻¹ quando pura e em uma solução aquosa de 20% em massa possui densidade de 1,22 g.ml⁻¹, ponto de fusão de 318,4 °C e ponto de ebulição de 1390°C, sua dissolução em água provoca uma reação vigorosa e extremamente exotérmica, liberando muito calor. O NaOH é uma típica base de Arrhenius, pois quando dissociado em água, libera íons hidroxila (-OH).

2.4.2.3 *Carbonato de Sódio (Na₂CO₃)*

O carbonato de sódio (Na₂CO₃) também conhecido como barrilha é um sal sólido, branco e translúcido com características básicas, usado principalmente na produção de vidro, em sínteses químicas e em sabões e detergentes. É produzido sinteticamente em larga escala a partir de sal de cozinha pelo Processo Solvay ou extraído de minérios de trona. Apresenta massa molar 106 g.mol⁻¹, densidade 2,54 g.ml⁻¹ quando pura, ponto de fusão 851 °C e ponto de ebulição 1600 °C, solúvel em água sendo sua dissolução provoca reação extremamente exotérmica, liberando calor. O carbonato de sódio (Na₂CO₃) é um sal com características básicas, quando dissociado em água forma um ácido fraco (H₂CO₃) e uma base forte (NaOH).

2.4.2.4 *Sulfato de Sódio (Na₂SO₄)*

O sulfato de sódio (Na₂SO₄) é um sal de sódio derivado do ácido sulfúrico anidro, sendo um sólido cristalino branco conhecido como o mineral thenardita; o deca hidratado (Na₂SO₄·10H₂O) tem sido conhecido como sal de Glauber. Apresenta massa molar de 142 g.mol⁻¹, densidade 2,66 g.ml⁻¹ quando anidro, ponto de fusão 884 °C e ponto de ebulição 1429

°C. O sulfato de sódio, ao contrário da maioria dos compostos solúveis, tem sua solubilidade diminuída com a temperatura. Acima de 32,4°C a solubilidade do sal passa a diminuir conforme a temperatura aumenta, devido a formação de cristais de sal anidro. Abaixo de 32,4°C a cristalização se dá como Sal Deca hidratado.

2.4.3 Partição de Solutos

A partição de um dado soluto entre duas fases é resultante do balanço de interações de origem entálpica e entrópica entre o soluto e as outras espécies (exemplo: polímeros, água e sais inorgânicos) presentes nas fases que coexistem no equilíbrio.

A partição é afetada por variáveis do sistema como: composição mássicas das espécies, massa molar do polímero, presença de ligantes ao longo da cadeia polimérica, pH, temperatura e hidrofobicidade.

O coeficiente de partição, K , é um parâmetro termodinâmico definido pela razão das atividades (a) do soluto presentes nas fases superior e inferior. Nos estudos de partição é comum que a concentração do soluto seja relativamente pequena, ou seja, sob diluição infinita. Nesta condição o coeficiente de atividade (α) tenderá a 1 e o valor da atividade será igual a concentração. Baseado nisto o coeficiente de partição é calculado de acordo com a equação 4.

$$K = \frac{a_{Curc}^{FS}}{a_{Curc}^{FI}} = \frac{\alpha_{Curc}^{FS}[Curc]^{FS}}{\alpha_{Curc}^{FI}[Curc]^{FI}} \cong \frac{[Curc]^{FS}}{[Curc]^{FI}} \quad (4)$$

Onde α e $[Curc]$ são, respectivamente, o coeficiente de atividade e a concentração dos corantes curcuminóides nas diferentes fases superior (FS) e inferior (FI). Os experimentos de partição/extração foram realizados nos sistemas formados por PEG 400 ou PEG 1500 + sulfatos de sódio em vários valores de pH a 298,15K conforme metodologia descrita por Martins, 2010.

2.4.4 Parâmetros Termodinâmicos de transferência

A estimativa de parâmetros termodinâmicos de transferência é importante para compreensão do processo de distribuição do soluto entre as fases. As variáveis termodinâmicas comumente analisadas abrangem a variação da energia livre de Gibbs de transferência ($\Delta_{tr}G$), a variação de entalpia de transferência ($\Delta_{tr}H$) e a variação de entropia de transferência ($\Delta_{tr}S$).

A $\Delta_{tr}G$ pode ser obtida pela equação clássica da termodinâmica por meio da equação 5.

$$\Delta_{tr}G = -RT \ln K \quad (5)$$

Em que K é o coeficiente de partição do processo de partição, R é a constante universal dos gases e T é a temperatura em Kelvin. Em geral os processos de partição ocorrem a pressão e temperatura constantes de modo que a variação de energia livre determina a espontaneidade do processo de partição.

A energia livre de Gibbs de transferência ($\Delta_{tr}G$) pode ser dividida em duas contribuições, uma entálpica ($\Delta_{tr}H$) e outra entrópica ($\Delta_{tr}S$). Para todos os fenômenos que ocorrem na natureza existe sempre um balanço entre os fatores entálpicos e entrópicos relacionados a tal fenômeno. De modo que podem ocorrer situações onde um ou outro fator esteja favorecendo a ocorrência espontânea de tal processo, ou uma situação mais favorável na qual tanto entalpia quanto a entropia favorecem a espontaneidade do fenômeno estudado. A variação de entropia de transferência é obtida a partir da energia de Gibbs na equação 6.

$$\Delta_{tr}G = \Delta_{tr}H - T\Delta_{tr}S \quad (6)$$

Neste caso, a determinação de $\Delta_{tr}H$ permite-nos a obtenção de $\Delta_{tr}S$ por diferença na equação (6). A contribuição entálpica de transferência para a partição das biomoléculas, pode também ser calculada ($\Delta_{tr}H$), por aproximação de Van't Hoff. Em geral, a entalpia de transferência pode ser estimada indiretamente a partir de estudos de dependência da temperatura com o coeficiente de partição, pela equação de Van't Hoff, a partir da inclinação da reta proveniente da regressão linear do gráfico de $\ln K$ versus $1/T$. A equação 7 é proveniente da substituição da equação 5 na equação 6.

$$\ln k = \frac{-\Delta_{tr}H}{RT} + \frac{\Delta_{tr}S}{R} \quad (7)$$

A partir dos cálculos das variáveis termodinâmicas de transferência pode-se explicar porque o soluto se concentra na fase superior ou na fase inferior.

A contribuição entrópica para a partição do biocomposto aparece em decorrência da diferença da densidade numérica entre as fases. A entropia levará o analito a particionar para a fase com maior número de moléculas por unidade de volume, o que implica num maior número de configurações possíveis para o sistema. Em sistemas aquosos bifásicos formados pela mistura

de eletrólito/polímero, a força motriz de natureza entrópica atuará no sentido de forçar o biocompostos e concentrar na fase rica em sal (JÖNSSON; JOHANSSON, 2003).

2.4.5 Parâmetros termodinâmicos de transferência versus coeficientes de partição (K)

Através dos coeficientes de partição obtidos em diferentes temperaturas, para um mesmo CLA, é possível calcular, através da Aproximação de Van't Hoff, os valores de variação de entalpia de transferência ($\Delta_{tr}H$) e variação de entropia de transferência ($\Delta_{tr}S$). A partir dos valores de K, aplica-se uma aproximação da equação não linear de van't Hoff, relacionando $\ln K$ com $1/T$ através da expressão polinomial 8.

$$\ln K = a + b \left(\frac{1}{T}\right) + c \left(\frac{1}{T}\right)^2 + d \left(\frac{1}{T}\right)^3 + \dots + \ln p \quad (8)$$

Em que a, b, c, d e $\ln p$ são constantes determináveis graficamente pelo ajuste polinomial da relação de $\ln K$ versus $1/T$. Através desta correlação gráfica obtêm-se o valor de $\Delta_{tr}H$ que é a variação energia, a pressão constante, associada ao processo através da equação 9.

$$\Delta_{tr}H^0 = -R \left[b + 2c \left(\frac{1}{T}\right) + 3d \left(\frac{1}{T}\right)^2 + \dots \right] \quad (9)$$

Para este fim, trunca-se a equação de acordo com o melhor ajuste polinomial obtido pela regressão polinomial.

A variação da energia livre de Gibbs de transferência, $\Delta_{tr}G$, será determinada a partir da equação 5.

$$\Delta_{tr}G = -RT \ln K \quad (5)$$

Por fim, a entropia de transferência, $\Delta_{tr}S$, será determinada a partir da equação 10.

$$\Delta_{tr}S = \frac{(\Delta_{tr}H - \Delta_{tr}G)}{T} \quad (10)$$

Os conhecimentos destes parâmetros termodinâmicos de transferência permitem inferir quais são possíveis causas associadas ao comportamento de partição.

Uma maior concentração de analitos na fase rica em polímero, em detrimento à fase rica em sal, ocorrerá sempre que interações específicas entre o soluto e os componentes da fase superior forem suficientemente fortes para superar o direcionamento entrópico do material para a fase de maior densidade numérica de partículas. Para sistemas com densidade numérica das fases muito próximas, é a entalpia que determinará o comportamento de partição da biomolécula. A contribuição do termo entálpica para o comportamento de partição faz com que o analito se difunda para a fase que proporcione o menor gasto energético para a formação da cavidade em que este será alojado (JÖNSSON; JOHANSSON, 2003) e (MELLER; MEIRELLES, 2001).

2.4.6 Teoria de Flory-Huggins sobre os parâmetros de partição em SAB

O pesquisador Haynes e JOHANSSON, et al. (1998), desenvolveram uma teoria baseada na obra de Flory-Huggins que explica o comportamento de partição através de uma equação que associa a distribuição dos solutos em SAB a fatores termodinâmicos cujas forças são de origem entálpica e/ou entrópica visando prever, mesmo que qualitativamente, as causas que levam um determinado soluto a se concentrar preferencialmente numa das fases do SAB. Nesse modelo, a força responsável pela transferência de um soluto no SAB é constituída por uma componente de natureza entrópica e outra entálpica.

Considerando a curcumina em solução, a distribuição dos seus segmentos é feita numa rede tridimensional descrita pelo Modelo de Lattice. Cada segmento da curcumina ocupa um sítio da rede, ou seja, o volume do segmento da curcumina no sítio da rede é idêntico ao volume das moléculas do solvente, que, por sua vez, ocupam outros sítios da rede. A partir desse formalismo, foi deduzida uma equação 11 que relaciona a variação da entropia de mistura, ($\Delta_{mix}S$), em função da fração de sítios ocupados e do grau de polimerização do Polietilenoglicol macromolécula.

$$\Delta_{mix}S = -NR \sum_{i=1}^m \frac{\Phi_i}{X_i} \ln \Phi_i \quad (11)$$

Sendo que N é o número total de sítios do retículo, Φ_i é a fração volumétrica de sítios ocupados, X_i é o grau de polimerização da macromolécula e R é a constante universal dos gases

ideais. A Equação 11 prevê que a contribuição entrópica, $\Delta_{mix}S$, diminui com o aumento de X_i , ou seja, é reflexo dos vínculos entre os segmentos da macromolécula que começam a surgir.

Outro fator no modelo de Haynes é a contribuição de natureza entálpica relacionada com as interações intermoleculares entre os componentes formadores do SAB que ocorre por meio da ruptura e formação de pares potenciais. A equação 12, é escrita considerando que o retículo contendo segmentos da macromolécula e moléculas do solvente, é incompressível. Portanto, a seguinte igualdade pode ser escrita como $\Delta_{mix}H = \Delta_{mix}U$.

$$\Delta_{mix}H = N \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m \Phi_i \Phi_j W_{ij} \quad (12)$$

Sendo que W_{ij} é a energia total dos pares potenciais proveniente da ruptura e formação de interações intermoleculares. A energia total desses pares potenciais é, matematicamente, representada pela equação 13.

$$W_{ij} = Z \left[\Gamma_{ij} - \frac{1}{2} (\Gamma_{ii} + \Gamma_{jj}) \right] \quad (13)$$

Sendo que Γ_{ii} e Γ_{jj} , são os valores de energia necessária para romper as interações intermoleculares existente entre as moléculas do tipo “i” ou entre as do tipo “j”, respectivamente, ou seja, trata-se da energia potencial dos pares “i-i” e “j-j”.

O termo Γ_{ij} é o valor das energias liberada e absorvida durante a formação de um par potencial do tipo “i-j”. O parâmetro W_{ij} também é definido como sendo a metade da energia necessária para permutar uma molécula do tipo “i” contida numa solução de “i” puro, em que as moléculas interagem com Z moléculas vizinhas e uma molécula do tipo “j” contida numa solução de “j” puro para formar $2Z$ diferentes pares do tipo “i-j”. Valores em que $W_{ij} > 0$, indicam interações endotérmicas entre os componentes “i” e “j”.

Nesse modelo, a força responsável pela transferência da curcumina no SAB é constituída por uma componente de natureza entrópica e outra entálpica. A componente entrópica é expressa, matematicamente, pela equação 14.

$$\ln K_{\text{soluto}} = \frac{M_{\text{soluto}}}{\rho} \left(\frac{n^{\text{FS}}}{V^{\text{FS}}} - \frac{n^{\text{FI}}}{V^{\text{FI}}} \right) \quad (14)$$

Sendo que M_{soluto} é a massa molar da curcumina, ρ é o número de sítios do retículo por unidade de volume e as razões $n^{\text{FS}}/V^{\text{FS}}$ e $n^{\text{FI}}/V^{\text{FI}}$ são os valores das densidades numéricas de moléculas da curcumina presente nas fases superior e inferior do SAB, respectivamente.

Portanto, a Equação 14 indica que, na ausência de efeitos entálpico dirigentes, a partição da curcumina ocorrerá, isto é, caso haja diferença no número de moléculas por unidade de volume, entre as fases superior e inferior. Nesta condição, a curcumina particionará para a fase que contiver a maior densidade numérica de moléculas, o que significa que esta fase poderá acomodar a curcumina de muitas maneiras diferentes aumentando sua partição. Por outro lado, considerando um sistema em que as contribuições devido a efeitos entrópicos são negligenciadas ou que as densidades numéricas de sítios do retículo de ambas as fases são idênticas, o coeficiente termodinâmico de partição, K , de um soluto num SAB é expresso, matematicamente, de acordo com a equação 15.

$$\ln K_{\text{soluto}} = -\frac{M_{\text{soluto}}}{RT} \left[\sum_{i=1(i \neq \text{soluto})}^m (\phi_i^{\text{FS}} - \phi_i^{\text{FI}}) W_{i-\text{soluto}} - \sum_{i=1(i \neq \text{soluto})}^{m-1} \sum_{j=i+1(j \neq \text{soluto})}^m (\phi_i^{\text{FS}} \phi_j^{\text{FS}} - \phi_i^{\text{FI}} \phi_j^{\text{FI}}) W_{ij} \right] \quad (15)$$

Sendo que Φ_i^{FS} e Φ_i^{FI} são as frações volumétricas do componente “ i ” presente nas fases superior e inferior, respectivamente. As variáveis Φ_j^{FS} e Φ_j^{FI} são as frações volumétricas do componente “ j ” presente nas fases superior e inferior, respectivamente e W_{ij} é o valor da energia do par potencial “ i - j ” definido segundo a equação 15. O somatório duplo, no lado direito da Equação 15, prevê a diferença de energia associada a cada fase do SAB, devido às diferentes interações intermoleculares entre os próprios componentes de cada fase.

O termo $\sum_{i=1(i \neq \text{soluto})}^{m-1} \sum_{j=i+1(j \neq \text{soluto})}^m \phi_i^{\text{FS}} \phi_j^{\text{FS}} W_{ij}$ na equação 15 fornece a entalpia total de formação da fase superior sem a curcumina, também conhecida como auto energia da fase. Portanto, cabe ressaltar que a relação entre $K_{\text{curcumina (soluto)}}$ e a auto energia \sum das fases superior e inferior, surge porque ao longo do processo de transferência da curcumina, a inserção do mesmo numa das fases envolve rompimento e formação de interações entre os componentes da fase para criar uma cavidade capaz de “abrigar” a curcumina.

$$\ln K_{soluto} = -\frac{M_{soluto}}{RT} \left[\sum_{i=1(i \neq soluto)}^m (\phi_i^{FS} - \phi_i^{FI}) W_{i-soluto} - \sum_{i=1(i \neq soluto)}^{m-1} \sum_{j=i+1(j \neq soluto)}^m (\phi_i^{FS} \phi_j^{FS} - \phi_i^{FI} \phi_j^{FI}) W_{ij} \right] + \frac{M_{soluto}}{\rho} \left(\frac{\eta^{FS}}{V^{FS}} - \frac{\eta^{FI}}{V^{FI}} \right) \quad (16)$$

Em outras palavras, se a fase superior de um SAB possuir uma auto energia maior do que a da fase inferior, a curcumina se concentrará preferencialmente, na fase superior para minimizar o excesso de energia livre de Gibbs do sistema, isto é, na ausência de contribuições entrópicas e interações entre a curcumina e os componentes de cada fase do SAB. O valor de $K_{curcumina(soluto)}$ é, geralmente, expresso como sendo a soma das contribuições de natureza entrópica (equação 14) e entálpica (equação 15), segundo a equação 16.

O comportamento de partição não só da curcumina como da macromolécula polimérica do PEG400 e do PEG1500 e também dos íons presentes nos SAB estudados pode ser compreendido através da formação ou do rompimento das interações intermoleculares que ocorrem ao longo do processo de transferência da curcumina da fase inferior para fase superior. A interação dos cátions sódio (Na^+) com os segmentos EO do PEG via par de elétrons livres do oxigênio, fazendo com que ocorra o rompimento das interações dipolo-dipolo das moléculas de água que antes solvatavam o PEG seguido a formação da interação íon-dipolo do Na^+ com par de elétrons livres do oxigênio do grupo EO do PEG. Esta liberação de moléculas de água antes ligadas ao PEG é dirigida por processo entrópico. Este processo de interação de íons sódio (Na^+) nos grupos EO do PEG, faz com que a interação cátion-PEG continue até que ocorra saturação dos sítios da cadeia polimérica do PEG.

Como em $pH = 12$ as cargas da superfície das moléculas de curcumina se alteram, ficando carregadas negativamente e sabendo que na fase inferior estão presentes também o ânion CO_3^{2-} , podemos inferir que para equilíbrio das cargas no sistema as moléculas de curcumina migram (transferem) para a fase superior do sistema formando as interações dipolo-íon com o pseudopolicátion Na^+ ligados nos grupos EO do PEG.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Reagentes

- Polietileno glicol (PEG) com massa molar média 1500 e 400 VETEC Química Fina com pureza de 98%;
- Sulfato de Sódio (Na_2SO_4) P.A. anidro da VETEC Química Fina com pureza de 99%;
- Hidróxido de Sódio (NaOH) P.A. – ACS da DINÂMICA Química Contemporânea com pureza mínima de 97% e máxima de 99%;
- Carbonato de Sódio (Na_2CO_3) P.A. – ACS anidro da ALPHATEC Química com pureza mínima de 96% e máxima de 99%;
- Corante Curcumina da VETEC Química Fina com 99% de pureza;
- Ácido Clorídrico HCl da LS Chemicals P.A. 37% e água destilada (H_2O) produzida no laboratório.

3.1.2 Equipamentos

- Balança analítica marca SHIMADZU modelo AUW- 320;
- Balança analítica marca BEL Engineering modelo M214Ai;
- Estufa de secagem com controle digital de temperatura da DeLeo Equipamentos Laboratoriais;
- Tubos de vidro com tampa rosqueada de 80 ml;
- Tubos de polipropileno (PP) tipo Falcon de 15 ml com tampa rosqueada;
- Banho Maria Ultra termostático Digital Microprocessado Modelo 110/22 – Marca CIENLAB;
- Agitador magnético com aquecimento marca CIENLAB;
- Agitador VORTEX EEQ9033 da Edutec;
- Espectrofotômetro UV-visível Cary 60 Marca Agilent Technologies;
- Refratômetro de bancada tipo ABBE EEQ9001 da Edutec;
- Seringas plásticas com agulha de 20 e 3 ml.

3.2 Método

3.2.1 Construção de diagramas de fases

Foram construídos diagramas de fases de PEG1500 + Na₂CO₃ nas temperaturas de 288,15, 298,15 e 308,15K. Os demais diagramas foram obtidos da literatura. As soluções concentradas de polímero e sal foram misturadas quantitativamente em tubos de ensaio de modo que a massa total do sistema fosse de 45 g conforme composições globais pré-definidas (tabela 1). Os SAB foram colocados num banho termostático nas temperaturas supracitadas. Esperou-se alcançar o equilíbrio termodinâmico, sendo que este foi caracterizado pela total limpidez das fases.

Após os sistemas entrarem em equilíbrio as fases superiores e inferiores foram coletadas cuidadosamente de modo a não perturbar a interface líquido-líquido do sistema. A quantificação do sal nas fases foi realizada através de titulação com ácido clorídrico padronizado utilizando o indicador azul de bromo fenol. A concentração de polímero foi determinada pelo valor do índice de refração, onde novamente curvas analíticas foram construídas à temperatura constante para cada polímero e sal, sendo a faixa de concentração variando entre 0 a 20% m/m para sal e 0 a 50 % m/m para o polímero. A diluição das fases para leitura do índice de refração foi da ordem de duas vezes (1:1). O resultado obtido pelo índice de refração expressa a soma das concentrações de polímero + sal, devido a aditividade encontrada em baixas concentrações. Portanto, a concentração de polímero foi encontrada subtraindo-se a concentração total encontrada menos a concentração do sal. A concentração de água foi encontrada tomando-se como complementar as concentrações de sal e polímero.

Tabela 1 - Composições globais utilizadas para construção do diagrama formado por PEG 1500 + Na₂CO₃ + H₂O nas temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K em pH = 12.

Temperatura (K)	Ponto Global	PEG 1500 (%m/m)	Na ₂ CO ₃ (%m/m)
288,15	1	16,25	6,71
	2	18,56	7,08
	3	16,51	8,51
298,15	1	16,64	6,90
	2	17,00	7,27
	3	17,36	7,65
308,15	1	15,73	5,52
	2	17,10	6,07
	3	18,47	6,62

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.2 Partição dos corantes curcuminóides

As soluções de PEG1500 e PEG400 foram preparadas a 50% m/m utilizando água destilada enquanto as soluções de eletrólitos (Na₂CO₃, Na₂SO₄ e NaOH) a 20% m/m. O sal de Na₂SO₄ foi seco em estufa a 105°C por uma hora sendo e o carbonato de sódio (Na₂CO₃) seco a 150°C por uma hora e levados para resfriamento em dessecador antes do preparo das soluções. Os estudos de partição/extração foram realizados na seguinte sequência: com sistemas aquosos bifásicos formados por soluções PEG1500 50% (m/m) + NaOH 20% (m/m) + H₂O a 298,15K utilizando um ponto global, PEG1500 50% (m/m) + Na₂SO₄ 20% (m/m) + H₂O, PEG400 50% (m/m) + Na₂SO₄ 20% (m/m) + H₂O com dois pontos globais, PEG1500 50% (m/m) + Na₂CO₃ 20% (m/m) + H₂O a temperaturas de 288,15, 298,15 e 308,15K com três pontos globais todos em pH 12, sendo as composições globais utilizadas do sal Na₂SO₄ e do eletrólito NaOH conforme metodologia descrita por Martins (2010).

Foram preparadas de 30 a 70g de SAB para cada ponto global (PG) estudado em tubos de vidro com tampa rosqueada de 80ml. Os tubos foram vigorosamente agitados e colocados em banho termostático na temperatura de estudo por um período de 24 horas até atingir o equilíbrio termodinâmico que é caracterizado pela limpidez das fases (figura 7).

Figura 7 - Sistema Aquoso Bifásico (SAB) formado por polímero + sal + água



Fonte: Elaborado pelo autor.

Attingido o equilíbrio, as fases superiores e inferiores foram coletadas com seringas plásticas de 20 ml. 3,0000g de cada uma das fases coletadas foram distribuídas em quatro tubos falcon de 15 ml. Para realização dos experimentos de partição adicionou – se em três tubos 10,20,40 ou 60 mg de curcumina sendo que um dos tubos foi deixado sem corante para utilização em teste “branco”. As misturas foram agitadas vigorosamente por meio do agitador tipo Vórtex até que fosse verificada a completa dissolução dos corantes curcuminóides. Os tubos foram levados ao banho termostático na temperatura desejada, por 24 horas (MARTINS, 2010).

Figura 8 - SAB com curcumina concentrada na fase superior e tubo em “branco”



Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o equilíbrio (figura – 8) foram retiradas alíquotas das fases superior e inferior com seringas plásticas de 3 ml (uma seringa para cada fase) de maneira que as agulhas entrem em contato com a fase a ser coletada. É necessária cautela para não haver contaminação entre as fases. As alíquotas foram diluídas quantitativamente com solução de hidróxido de sódio na

ordem de 10 a 1000 vezes. Após a diluição as amostras foram analisadas por espectrofotometria na região do Visível. A diluição aplicada se manteve dentro da faixa linear da curva analítica obtida em 469 nm em pH = 12. A concentração dos corantes curcuminóides foram determinadas por espectrofotometria utilizando espectrofotômetro UV-Visível (Cary – 60) em meio alcalino (pH =12) no comprimento de onda de 469 nm. Para a obtenção do coeficiente de partição fora utilizado a razão das concentrações de curcumina na fase superior [corante]^{FS} e inferior [corante]^{FI}. O coeficiente de partição também pode ser obtido pela razão entre as absorbâncias do corante na fase superior e inferior, respectivamente, segundo a equação 17, tendo em vista que as curvas analíticas nas fases em regime diluídos possuem o mesmo espectro. Todos os experimentos de partição foram realizados em triplicata.

$$K = \frac{[\text{corante}]^{FS}}{[\text{corante}]^{FI}} = \frac{\left| \frac{A_{FS}}{C_{\text{corante}}^{FS}} \right|}{\left| \frac{A_{FI}}{C_{\text{corante}}^{FI}} \right|} \quad (17)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Diagramas de fases

As composições de equilíbrio em três pontos globais para os sistemas estudados contendo PEG1500 e Na₂CO₃ a 288,15K, 298,15K e 308,15K estão apresentados na tabela 2, sendo os componentes das fases expressos em %m/m.

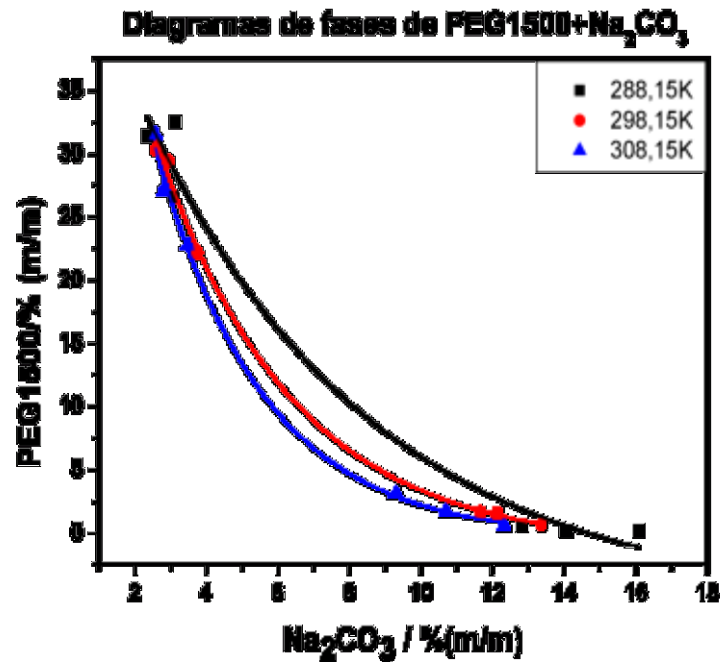
Tabela 2 - Dados de equilíbrio para o sistema PE1500+Na₂CO₃ em temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K todos em % m/m na fase superior e inferior em pH = 12.

T (K)	Ponto Global	Fase Superior (Top)			Fase Inferior (Botton)			CLA	ILA
		Sal	Desv. σ	PEG Água	Sal	Desv. σ	PEG Água		
288,15	1	3,07	0,09	26,62 70,31	12,81	0,88	0,55 74,38	27,83	2,68
	2	2,37	0,40	31,44 66,19	14,08	0,10	0,15 71,84	33,41	2,67
	3	3,12	0,32	32,54 64,34	16,09	0,60	0,13 67,82	34,91	2,50
298,15	1	2,93	0,49	29,43 67,64	12,14	1,14	1,55 86,31	29,36	3,03
	2	3,75	0,27	22,18 74,07	11,66	0,32	1,59 86,75	22,06	2,60
	3	2,60	0,14	30,34 67,06	13,38	0,29	0,65 85,97	31,59	2,75
308,15	1	3,48	0,08	22,74 73,78	9,31	0,21	3,05 87,64	20,53	3,38
	2	2,79	0,18	27,01 70,20	10,69	0,12	1,67 87,64	26,54	3,21
	3	2,58	0,17	31,49 65,93	12,34	0,16	0,57 87,09	32,42	3,17

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados de equilíbrio expressos na tabela 2 estão representados graficamente na figura 9:

Figura 9 - Diagrama de equilíbrio de fase para sistema formado por PEG1500+Na₂CO₃+H₂O a 288,15K, 298,15K e 308,15K em pH 12.



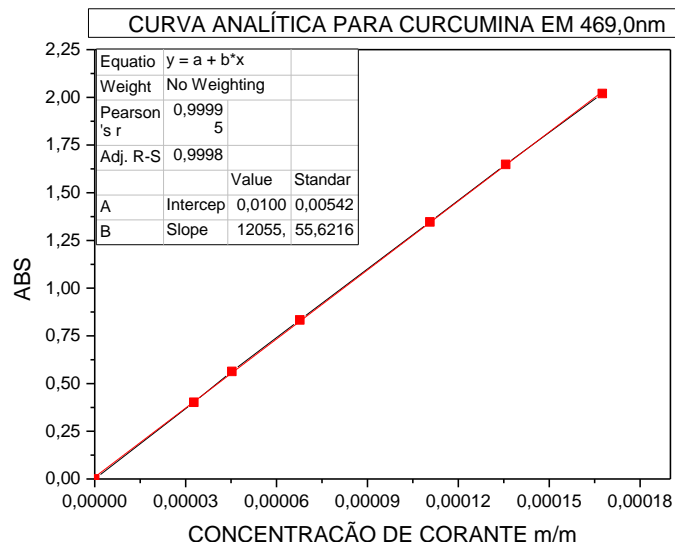
Fonte: Elaborado pelo autor.

Observa-se na figura 9 que ocorreu uma pequena variação da área bifásica a medida que a temperatura aumenta. O aumento da temperatura pode ser explicado pela transferência de água da fase superior para a fase inferior caracterizando as diferenças entre os volumes das fases gerando o aumento da hidrofobicidade da fase e conseqüentemente eliminando moléculas de água de solvatação do polímero de modo a transportá-las para a fase hidrofílica (Inferior). A hidrofobicidade em geral aumenta proporcionalmente a com a elevação da temperatura facilitando o processo de separação de fases.

4.2 Resultados da partição de corantes curcuminóides

A curva analítica representada pelo gráfico abaixo, mostra a existência da correlação linear entre a absorvância e a concentração de curcumina:

Figura 10 – Diagrama da correlação linear entre absorvância e a concentração de curcumina em pH 12 e 469,0 nm

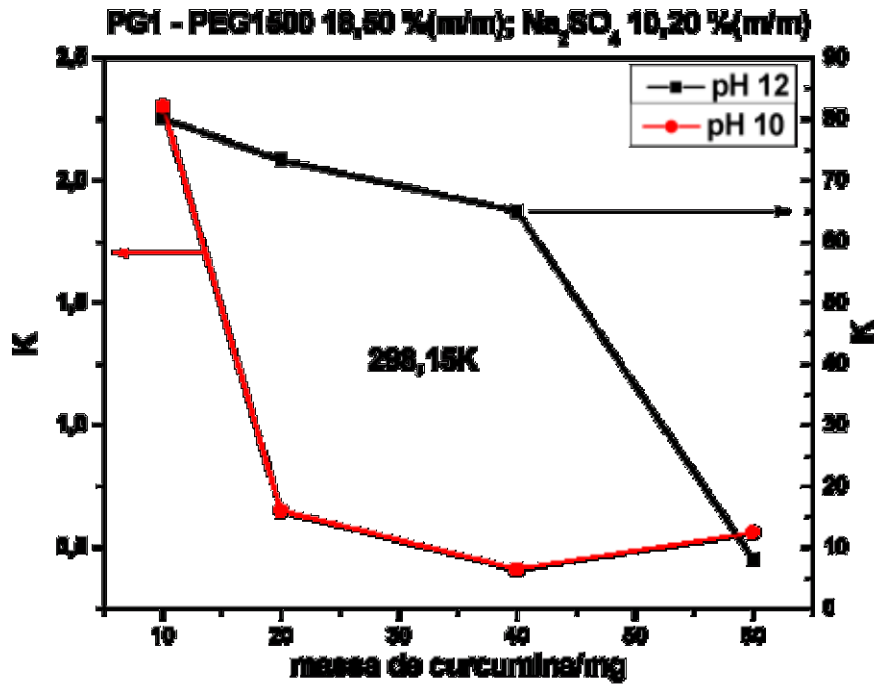


Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura 10 mostra a relação entre a ABS x Concentração de curcumina em pH 12. O coeficiente de correlação, $r = 0,99995$, indica uma relação linear consistente entre as variáveis. Observa-se que a curva admite absorvâncias próximas de 2,0 o que facilita a análise espectrofotométrica em relação as diluições. A curva analítica foi construída adicionando – se quantidades conhecidas de curcumina numa solução de pH = 12 (NaOH). As curvas são as mesmas quando são construídas usando -se a fase superior ou inferior do SAB em pH 12 e regime de diluição adequado.

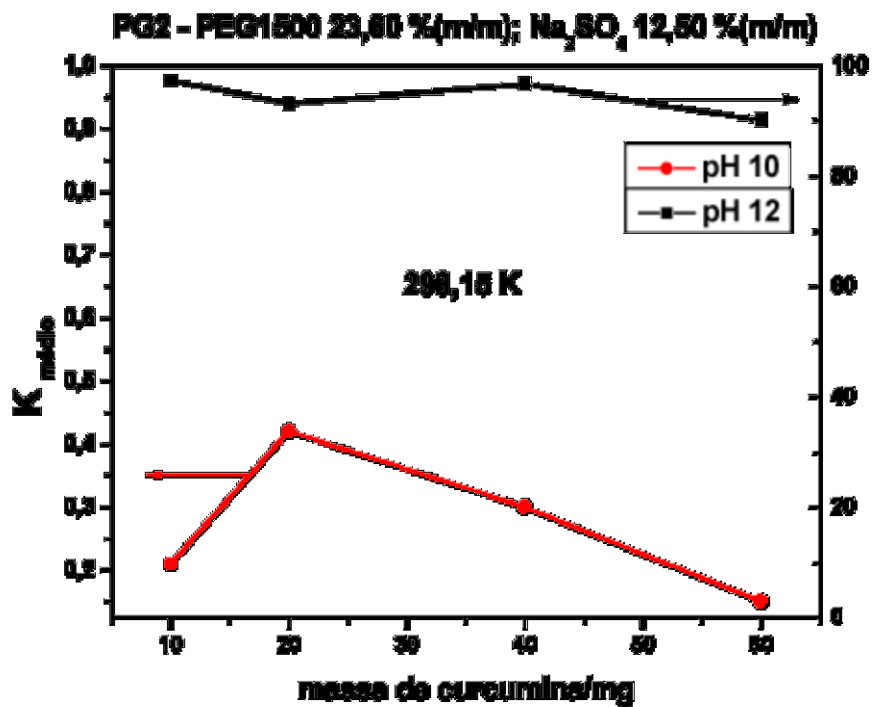
O comportamento de partição dos corantes curcuminóides em PEG1500 + Na₂SO₄ a 298,15K foram estudados em dois pontos globais em diferentes pH (10 e 12) e os resultados estão expressos nas figuras 11 e 12.

Figura 11 – Diagrama do coeficiente de partição da curcumina para o ponto global 1 PEG1500 + Na₂SO₄ em pH 10 e pH 12



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 12 - Diagrama do Coeficiente de partição da curcumina para o ponto global 2 PEG1500 + Na₂SO₄ em diferentes pH.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observa-se se pelas figuras 11 e 12 que há uma tendência de queda dos coeficientes de partição à medida (em) que há um aumento da quantidade de curcumina em pH 10. É importante salientar os baixos valores de coeficiente de partição, em geral $K < 1$, em pH 10 o que caracteriza uma transferência preferencial para a fase inferior. Este comportamento, segundo o modelo de Haynnes, pode ser explicado devido ao fato de que a fase inferior apresenta maior densidade numérica quando comparada a fase superior o que corrobora com um processo de transferência regido por forças entrópicas em detrimento das interações entálpicas. Observa-se nas figuras 11 e 12 altos coeficientes de partição em pH 12 quando comparados com os de pH 10. No ponto global 1 observa-se uma queda significativa do coeficiente de partição para uma massa de 60 mg de curcumina.

Na figura 12 observa-se uma constância nos valores de coeficiente de partição para o ponto global 2. É interessante comparar que não há diminuição do coeficiente de partição para o ponto global do 2 (pH 12) ao se adicionar 60mg de curcumina quando comparado ao ponto global 1 no mesmo pH. Este comportamento evidencia uma possível interação intermolecular preferencial entre o polímero e a curcumina, uma vez que o ponto global 2 exibe uma maior quantidade de polímero na fase superior. Este comportamento contrasta com os valores de K obtidos em pH 10. A elevação do pH ocasiona uma distribuição de cargas aumentando a solubilidade curcumina e principalmente intensificando as interações da curcumina com o polímero o que leva a uma inversão das forças regentes da partição. Segundo o modelo de Haynnes a regência passa a ser de natureza entálpica em que o par de interação polímero – curcumina se destaca diante de outras interações. Tendo em vista o efeito do pH como fator crucial para o funcionamento da técnica foram realizados estudos de solubilidade da curcumina nos seguintes meios: Solução de Hidróxido de sódio 20% m/m; Solução de Carbonato de sódio 20% m/m; Solução de polímero PEG 400 50-60% m/m (pH = 12); Solução de polímero PEG 1500 50% e 60% m/m (pH = 12). As concentrações foram medidas após atingir o equilíbrio termodinâmico. A relação da solubilidade é mostrada na tabela abaixo:

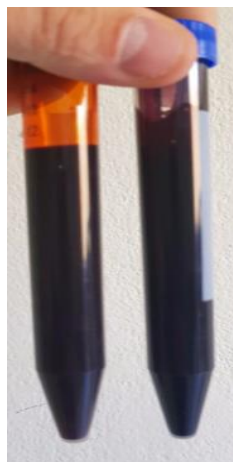
Tabela 3 - Relação de solubilidade de curcumina por grama de solução

Solução	Solubilidade (mg de curcumina/g de solução)
Solução de NaOH 20% m/m	55
Água Destilada (pH = 7,0)	Insolúvel
Solução de PEG1500 (50 – 60% m/m)	Insolúvel
Solução de PEG1500 (50 – 60% m/m) pH=12	85
Solução de PEG400 (60% m/m)	Insolúvel
Solução de PEG400 (60% m/m) pH = 12	82,5
Solução de Na ₂ CO ₃ (20% m/m)	75

Fonte: Elaborado pelo autor.

A tabela 3 expressa a solubilidade da curcumina em várias soluções. Esta experimentação mostra que o processo de transferência da curcumina entre as fases não pode ser atribuído a solubilidade destes corantes nos meios, pois a diferença de solubilidade em solução poliméricas em pH12 e solução salina (Na₂CO₃) não diferentes um do outro. A figura 13 mostra uma fotografia caracterizando a alta solubilidade em meio alcalino.

Figura 13- Solubilidade da curcumina em solução 20% de NaOH (à esquerda) e Solução de PEG1500 pH 12 (à direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

A tabela 4 mostra os valores associados a partição de corantes e a variação da energia livre de transferência em sistema de PEG400+Na₂SO₄ em pH 12.

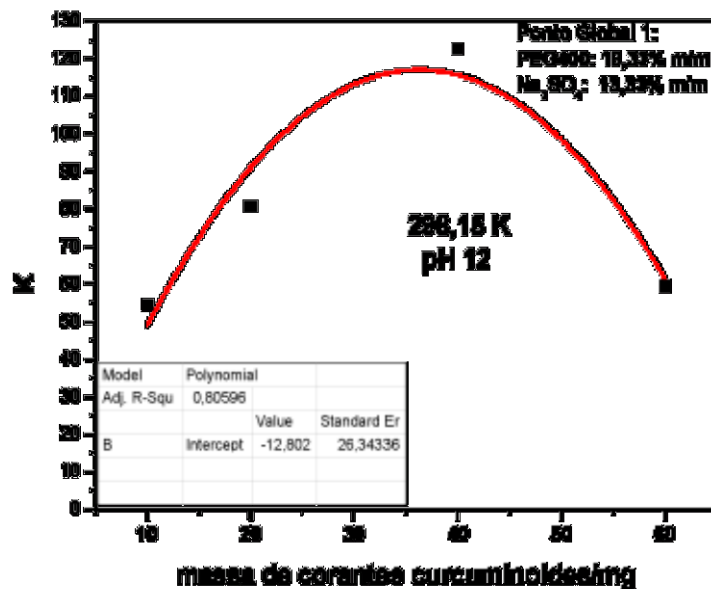
Tabela 4 - Medidas entre o coeficiente de partição (K) com massa de curcumina e variação de energia Livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para PEG400 + Na₂SO₄ em pH = 12 a 298,15K

Ponto Global	Composição PEG 400 %m/m	Composição Na ₂ SO ₄ %m/m	Massa de Curcumina (mg)	K Médio	$\Delta_{tr}G$ (kJ.mol ⁻¹)
1	19,78	13,28	10	54,46	-9,91
			20	80,72	-10,88
			40	122,67	-11,92
			60	59,57	-10,13
2	20,09	14,09	10	108,64	-11,62
			20	109,84	-11,65
			40	99,84	-11,41
			60	91,74	-11,20

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores da tabela 4 foram colocados em gráficos para melhor visualização do comportamento de partição em função da massa de curcumina em diferentes pontos globais (figura 14 e 15).

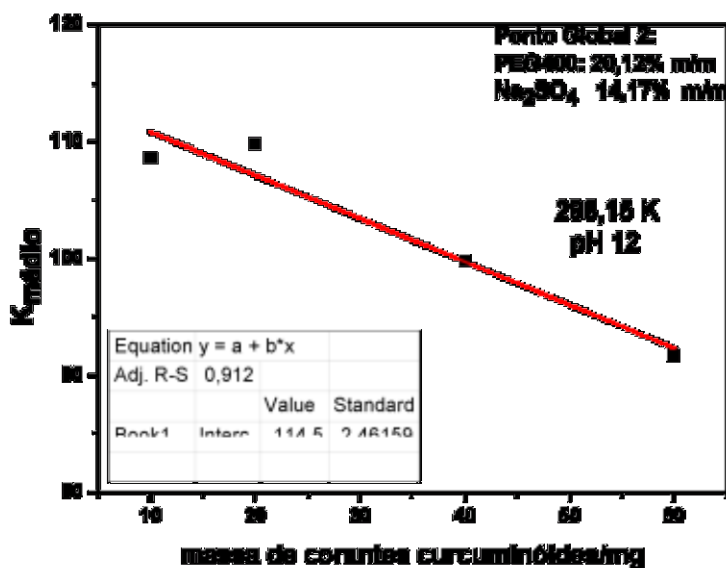
Figura 14 - Diagrama do K médio x Massa de curcumina no ponto global 1 em PEG400+Na₂SO₄ em pH 12 a 298,15K



Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a figura 14 (PG1) nota-se aumento significativo do coeficiente de partição (K) quando se aumenta a massa de curcumina na faixa de 10 a 40 mg apresentando um decréscimo acentuado de K quando este máximo é ultrapassado. Pode-se inferir que a diminuição do coeficiente de partição esteja relacionada com saturação dos sítios poliméricos (PEG400) ocupados pela curcumina na fase superior.

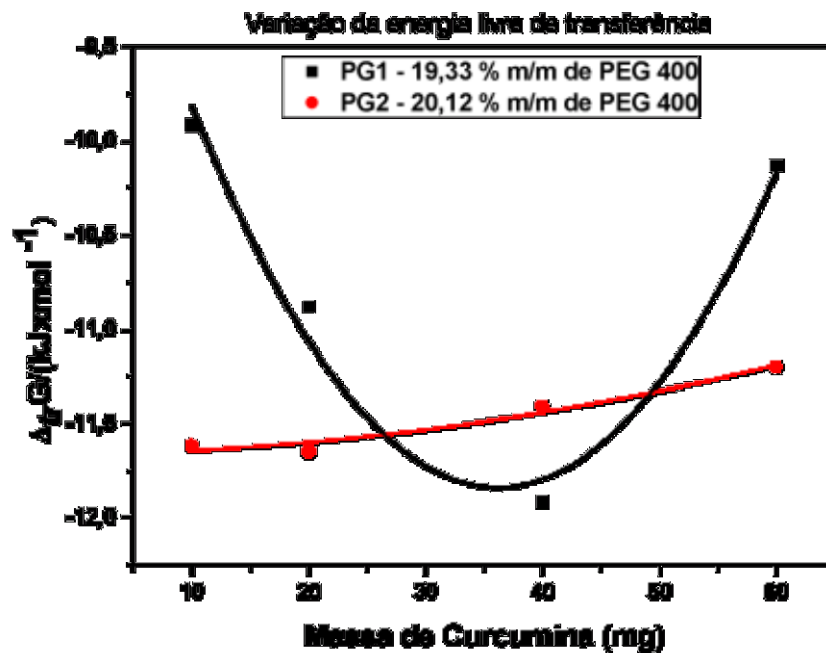
Figura 15 - Diagrama do K médio x Massa de curcumina no ponto global 2 em PEG400+Na₂SO₄ em pH 12 a 298,15K



Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a figura 15, nota-se altos valores de K com pequenas variações relacionados com aumento da massa de curcumina adicionado ao sistema. Isto ocorre devido ao aumento da concentração de PEG400, aumentando os sítios disponíveis para acomodação da curcumina. Pode-se inferir que ocorrerá uma nova distribuição dos componentes presentes no sistema (íons, moléculas de água, moléculas de polímero e moléculas de curcumina) atinja eletroneutralidade das fases.

Figura 16 – Diagrama $\Delta_{tr}G$ x Massa de corante curcuminóides nos pontos globais 1 e 2 em PEG400+Na₂SO₄, pH = 12 a 298,15K



Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura 16 nos mostra no PG 1 uma diminuição significativa da energia livre de transferência quando se aumenta a massa de curcumina na faixa de 10 a 40 mg. A partir de 60 mg o processo passa correr com menor espontaneidade. Ainda que a energia livre continue negativa, há uma tendência de aumento da mesma. Este fato pode estar relacionado com indisponibilidade de sítios de interação na fase superior. Esta argumentação pode ser sustentada tendo em vista que a variação energia livre para o PG2 varia menos, pois a quantidade polímero na fase superior é maior e consequentemente haverá mais sítios de interações e novas conformações da cadeia polimérica.

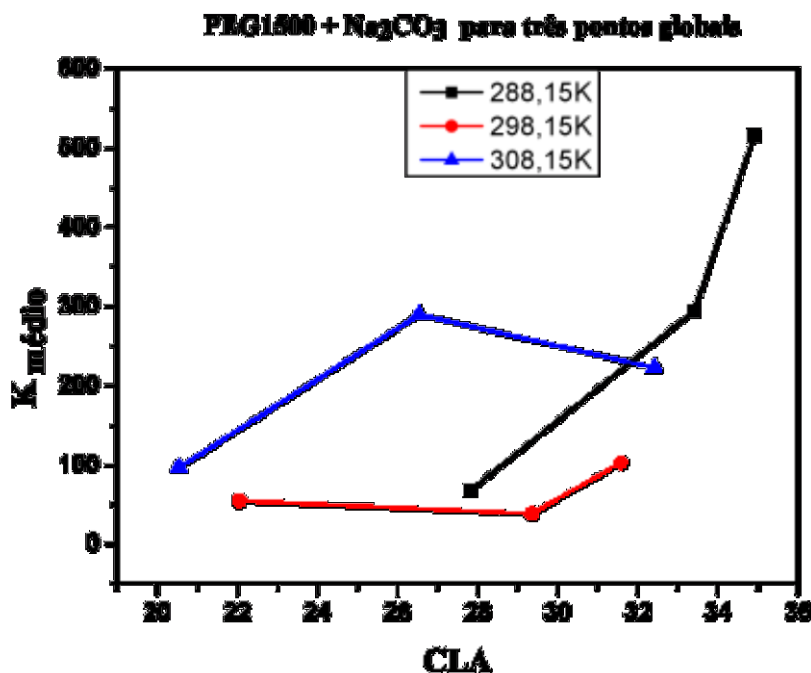
A tabela 5 nos mostra os dados entre o coeficiente de partição, variação de energia livre de transferência em três pontos globais para o sistema PEG1500+Na₂CO₃ utilizando 10 mg de curcumina expressos em composição mássica (%m/m) em 288,15K, 298,15 e 308,15K.

Tabela 5 - Relação entre o coeficiente de partição (K) e variação de energia livre de transferência (Δ_rG) para 10 mg de corante para três pontos globais de PEG1500+Na₂CO₃ em 288,15K, 298,15 e 308,15K sendo a composição %m/m em pH 12.

T (K)	Ponto Global	Composição PEG1500	Composição Na ₂ CO ₃	mg de Curcumina	K _{médio}	Δ_rG (kJ.mol ⁻¹)	ln K
288,15	1	16,19	6,69	10	67,50	-10,44	4,21
	2	18,57	7,08	10	294,00	-14,09	5,68
	3	16,31	8,41	10	516,00	-15,48	6,25
298,15	1	16,63	6,89	10	54,14	-9,89	3,99
	2	15,33	6,27	10	38,00	-9,02	3,64
	3	18,28	7,86	10	102,00	-11,46	4,62
308,15	1	15,73	6,88	10	95,58	-11,30	4,56
	2	18,41	8,25	10	289,41	-14,05	5,67
	3	17,34	7,64	10	222,50	-13,40	5,40

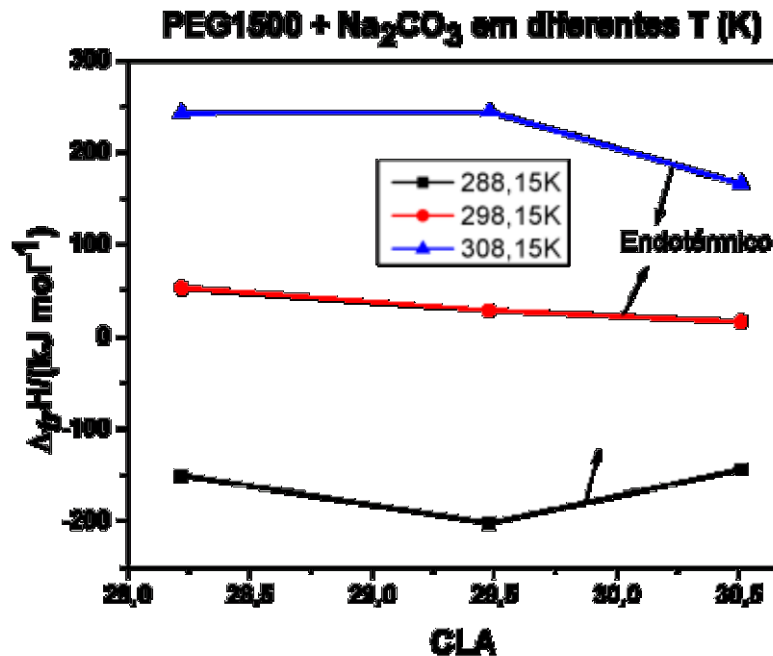
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 17 – Diagrama do Influência da temperatura e do comprimento da linha de amarração no coeficiente de partição para 10 mg de curcumina em PEG1500 + Na₂CO₃ em pH 12 nas temperaturas 288,15K, 298,15K e 308,15K



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18 - Diagrama da Variação da Entalpia de transferência de Gibbs (Δ_rH) versus Comprimento da Linha de Amarração (CLA) em PEG1500+Na₂CO₃ nas temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K em pH 12.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Verifica-se de acordo com as figuras 17 e 18 que ocorre aumento do coeficiente de partição (K) da curcumina com o aumento do comprimento da linha de amarração (CLA) em quase todas as temperaturas estudadas. Estes valores do coeficiente de partição confirmam que aumentando a concentração de polímero (aumento do CLA) aumenta a concentração e curcumina na fase superior do sistema. Naturalmente, esse fluxo de moléculas de curcumina para a fase superior é governado por aspectos de natureza entálpica, sejam eles devido a interação direta da curcumina e os componentes formadores da fase, ou auto energia de cada fase. O pH alcalino altera as cargas da superfície da curcumina aumentando sua interação com o polímero (DA SILVA, 2006). Uma das possíveis contribuições entálpicas para esta transferência é a existência de uma interação específica entre a curcumina e o polímero (CC-PEG), ou seja, uma interação entálpica específica entre o polímero e a curcumina. BLÁSQUEZ et al., (1998) encontrou comportamento semelhante estudando a partição de α -amilase em SAB.

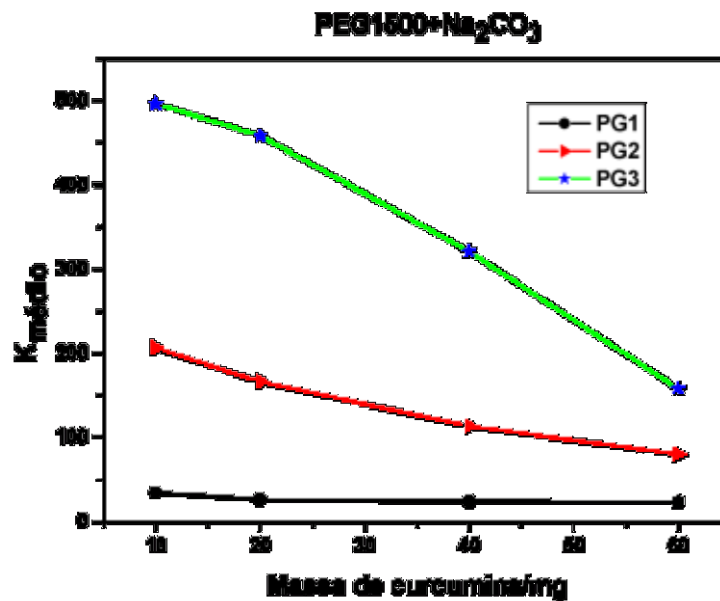
As tabelas 6 e 7 nos mostram os dados entre os coeficientes de partição, variação de energia livre de transferência em três pontos globais para o sistema PEG1500+Na₂CO₃ utilizando 10, 20, 40 ou 60mg de curcumina sendo expressas em composições mássicas (%m/m) de PEG1500 e Na₂CO₃ em 288,15K e 298,15 respectivamente.

Tabela 6 - Relação entre o coeficiente de partição (K) e variação de energia livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para 10, 20, 40 e 60mg de curcumina para três pontos globais de PEG1500+Na₂CO₃ em 288,15 sendo a composição de PEG e Sal em %m/m.

Pontos Globais	Composição PEG 1500	Composição Na ₂ CO ₃	mg de Curcumina	K médio	$\Delta_{tr}G$ (kJ.mol ⁻¹)
1	15,34	6,32	10	34,50	-8,78
			20	26,00	-8,08
			40	23,85	-7,86
			60	23,00	-7,77
2	16,40	6,93	10	206,00	-13,21
			20	166,00	-12,67
			40	113,00	-11,72
			60	80,00	-10,86
3	17,35	7,63	10	497,00	-15,39
			20	459,00	-15,19
			40	321,00	-14,31
			60	158,00	-12,55

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 19 - Diagrama da Influência dos pontos globais e a massa de curcumina no coeficiente de partição em PEG1500+Na₂CO₃ a temperatura de 288,15K em pH 12.

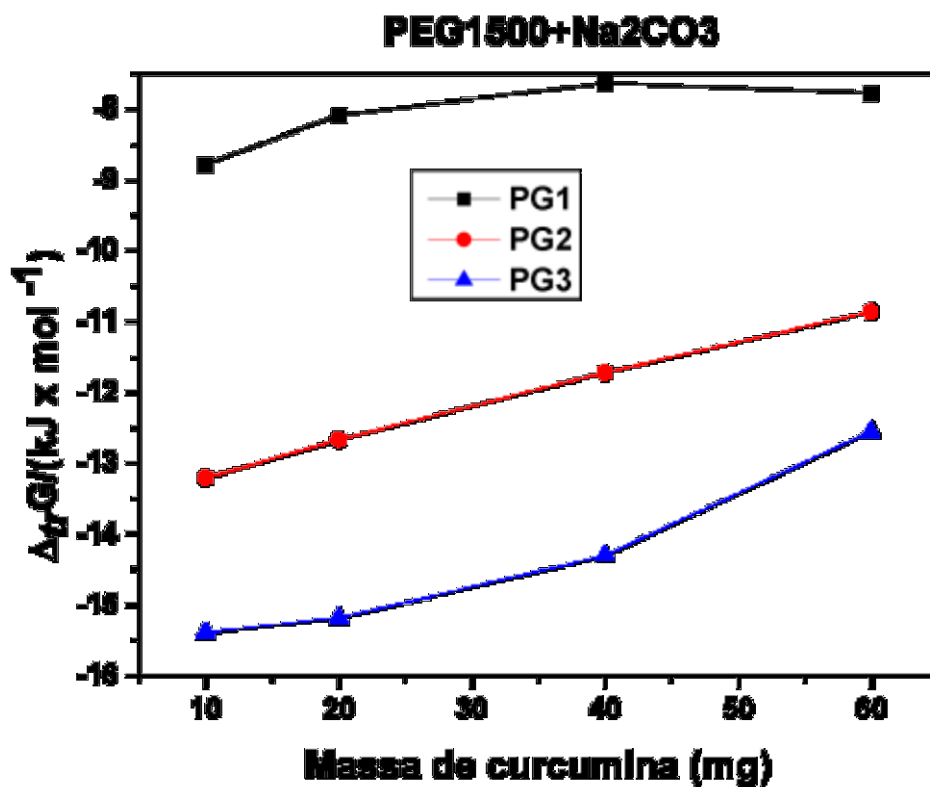


Fonte: Elaborado pelo autor.

Verifica-se a partir da figura 19 um aumento do coeficiente de partição (K) a medida que aumentamos a concentração de polímero caracterizado pelos pontos globais PG1, PG2 e PG3. Isto evidencia uma possível interação intermolecular preferencial entre o polímero e a curcumina, uma vez que o ponto global 3 contém uma maior quantidade de polímero na fase superior. Este comportamento, segundo o modelo de Haynes, pode ser explicado devido ao

fato de que a fase inferior apresenta maior densidade numérica quando comparada a fase superior o que certifica um processo de transferência regido por forças entrópicas em detrimento das interações entálpicas. Apesar dos valores altos do coeficiente de partição nota-se também um declínio do coeficiente de partição (K) quando aumentamos a massa da curcumina no sistema, isto pode ser explicado pela saturação dos sítios de acomodação da cadeia polimérica do PEG1500.

Figura 20 - Diagrama da Influência dos pontos globais e da energia livre de transferência no coeficiente de partição em PEG1500+Na₂CO₃ a temperatura de 288,15K em pH 12.



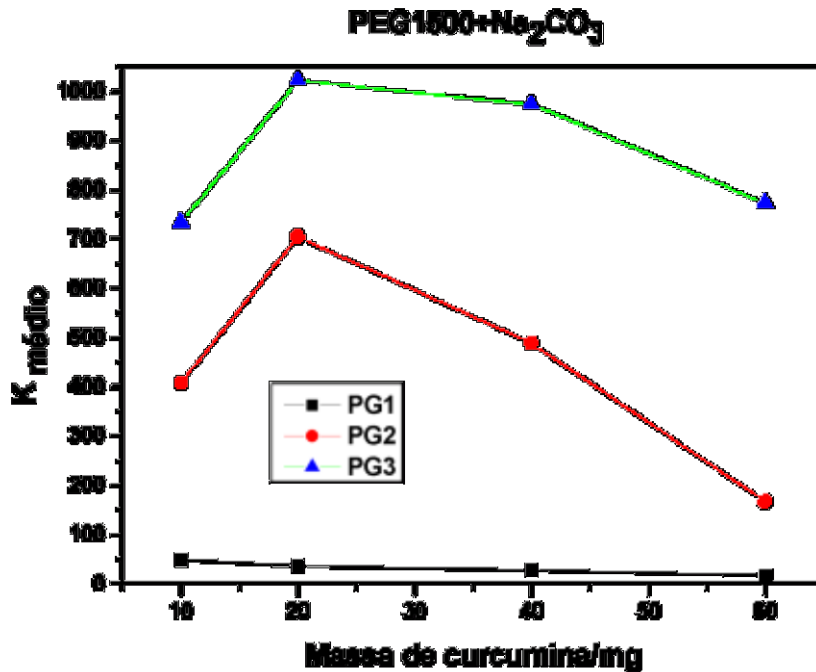
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 7 - Relação entre o coeficiente de partição (K) e variação de energia livre de transferência ($\Delta_{tr}G$) para 10, 20, 40 e 60mg de curcumina para três pontos globais de PEG1500+Na₂CO₃ em 298,15 sendo a composição de PEG e Sal em %m/m.

Pontos Globais	Composição PEG1500	Composição Na ₂ CO ₃	Massa de Curcumina	K médio	$\Delta_{tr}G$ kJ.mol ⁻¹
1	15,35	6,30	10	49,50	-9,67
			20	36,50	-8,92
			40	27,75	-8,24
			60	16,80	-6,99
2	17,49	6,89	10	408,00	-14,9
			20	705,00	-16,26
			40	489,00	-15,35
			60	167,00	-12,69
3	17,53	7,56	10	734,00	-16,36
			20	1023,00	-17,18
			40	975,00	-17,06
			60	774,00	-16,49

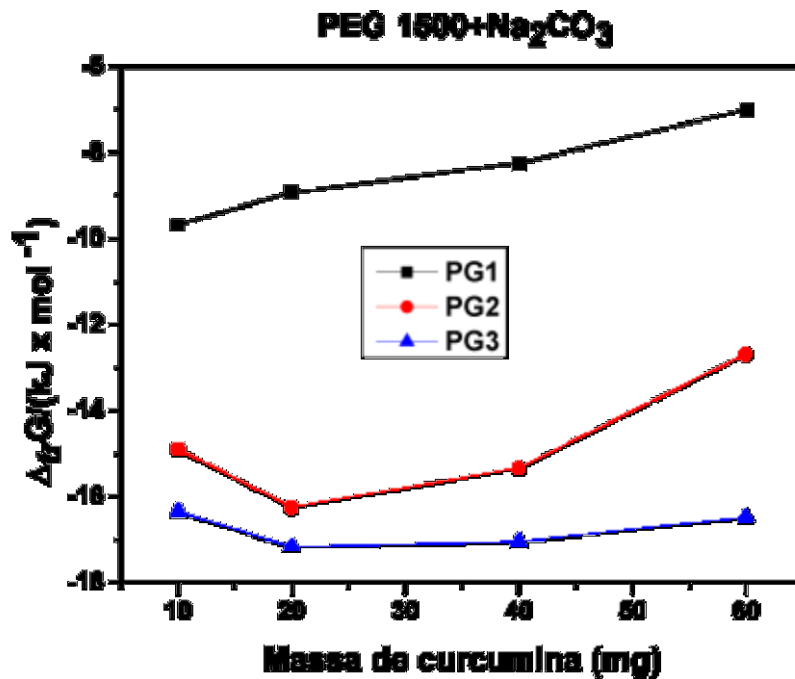
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 21 - Diagrama da Influência da massa de curcumina com o coeficiente de partição em PEG1500+Na₂CO₃ a temperatura de 298,15K em pH 12.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 22 - Diagrama da Influência dos pontos globais e da energia livre de transferência no coeficiente de partição transferência em PEG1500+Na₂CO₃ a temperatura de 298,15K em pH 12.



Fonte: Elaborado pelo autor.

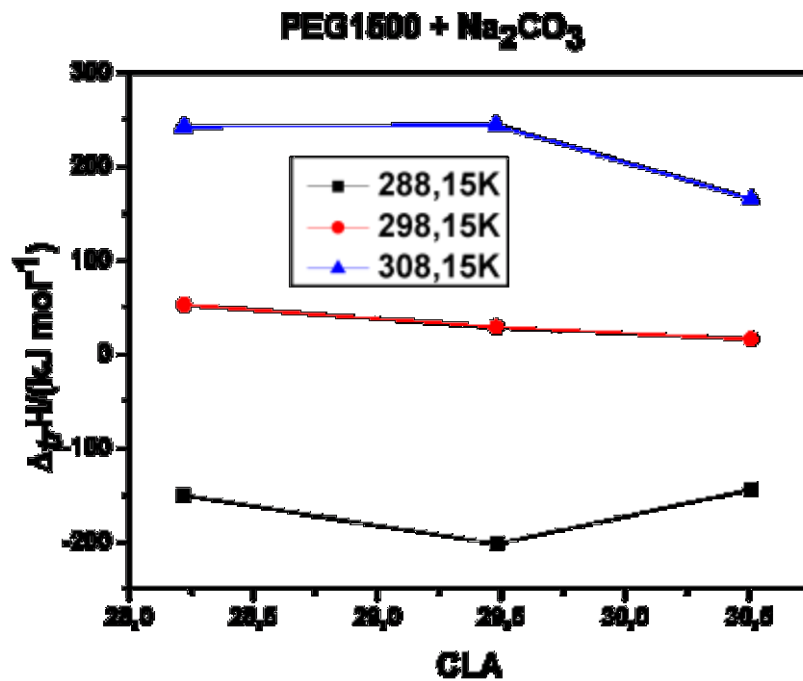
Tabela 8 - Parâmetros termodinâmicos $\Delta_{tr}G$, $\Delta_{tr}H$ e $\Delta_{tr}S$ obtidos para transferência da curcumina no SAB PEG1500 + Na₂CO₃ em temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K em pH 12.

T (K)	CLA	$\Delta_{tr}G$ (kJ.mol ⁻¹)	$\Delta_{tr}H$ (kJ.mol ⁻¹)	$\Delta_{tr}S$ (kJ.mol ⁻¹ .T ⁻¹)
288,15	28,22	-11,06	-150,38	-0,4835
	29,48	-11,03	-202,37	-0,6640
	30,51	-10,98	-143,89	-0,4613
298,15	28,22	-11,05	52,85	0,2143
	29,48	-11,06	28,53	0,1328
	30,51	-11,04	16,18	0,0913
308,15	28,22	-11,09	242,88	0,8242
	29,48	-11,09	244,45	0,8293
	30,51	-11,07	165,85	0,5741

Fonte: Elaborado pelo autor.

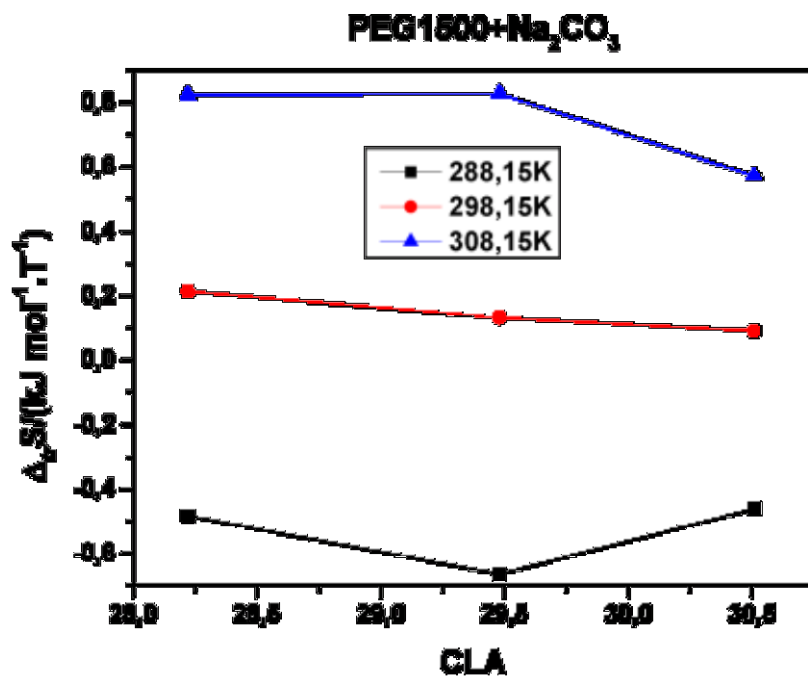
A tabela 8 mostra a relação dos parâmetros termodinâmicos com o comprimento da linha de amarração (CLA) nas temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K em pH 12.

Figura 23 - Diagrama da Relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e a entalpia de transferência ($\Delta_{tr}H$) em PEG1500+Na₂CO₃ em diferentes temperaturas em pH 12.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 24 - Diagrama da Relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e a entropia de transferência ($\Delta_{tr}S$) em PEG1500+Na₂CO₃ em diferentes temperaturas em pH 12.

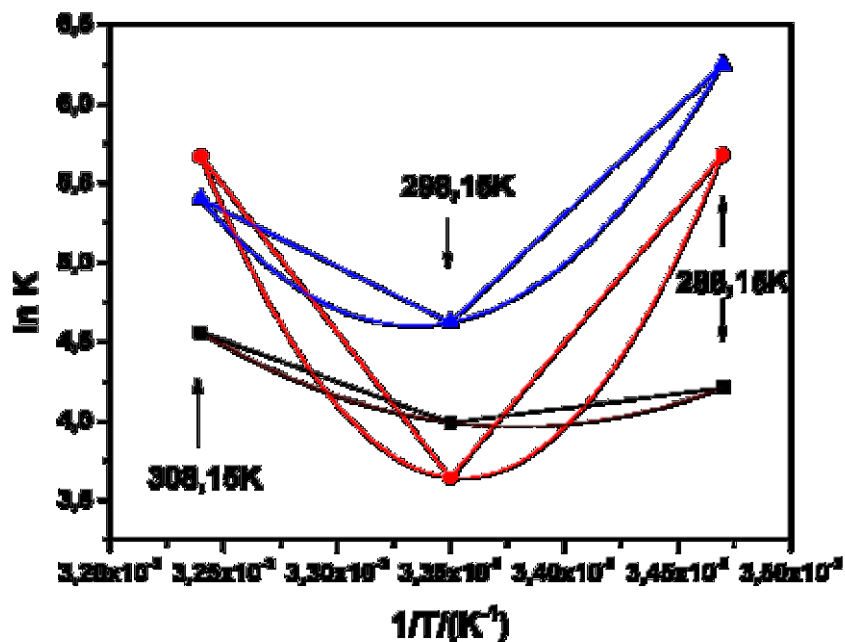


Fonte: Elaborado pelo autor.

Pode-se observar nas figuras 22, 23 e 24 que o processo de transferência de moléculas da curcumina para a fase superior é exotérmico beneficiado pelo fator entálpico ($\Delta_{tr}H < 0$) e com entropia de transferência também menor que zero na temperatura de 288,15K. Enquanto que para as outras temperaturas estudadas de 298,15K e 308,15K o processo de transferência é endotérmico beneficiado totalmente pelo fator entálpico de transferência. Em todos os processos estudados a energia livre de transferência de Gibbs ($\Delta_{tr}G$) foi menor que zero, caracterizando o processo como espontâneo.

O parâmetro termodinâmico energia livre de transferência de Gibbs foi calculado utilizando a equação clássica da termodinâmica $\Delta_{tr}G = -RT \ln K$ onde K é o coeficiente de partição da curcumina, R é a constante geral dos gases e T a temperatura do ensaio em Kelvin enquanto o cálculo da entalpia de transferência ($\Delta_{tr}H$), foi realizada derivando as equações não lineares de Van't Hoff obtidas do gráfico relacionando $\ln K$ com $1/T$ do SAB PEG1500 + Na_2CO_3 representado pela figura 25. A partir desta correlação gráfica obtêm-se o valor de $\Delta_{tr}H$ que é a variação energética entálpica de transferência a pressão e temperatura constante, associada ao processo (BOYSEN, 1999).

Figura 25 - Diagrama $\ln K$ versus $1/T$ do SAB PEG1500+ Na_2CO_3 em pH = 12 nas temperaturas de 288,15, 298,15 e 308,15K



Lembrando que a energia livre de Gibbs de transferência ($\Delta_{tr}G$) pode ser dividida em duas outras contribuições, uma entálpica ($\Delta_{tr}H$) e outra entrópica ($\Delta_{tr}S$) segundo a equação fundamental de Gibbs da termodinâmica $\Delta_{tr}G = \Delta_{tr}H - T\Delta_{tr}S$. Em posse dos valores de $\Delta_{tr}G$ e $\Delta_{tr}H$ pode-se calcular o $\Delta_{tr}S$ para cada temperatura estudada.

A $\Delta_{tr}H$ deve ser entendido em termos de formação e rompimento das interações intermoleculares que ocorrem ao longo do processo de transferência dos corantes entre as fases (ANDREA et. al., 2006).

Desta forma a variação de entalpia do processo de transferência da curcumina ($\Delta_{tr}H$) para a fase superior envolve seis tipos de pares de interação, em que $\Delta_{i-j}H$ representa a entalpia de interação entre os componentes i e j do SAB (JOHANSSON, et. al., 1988). Estes componentes são: água (H_2O), sal (S), polímero (PEG) e curcumina (CC).

$$\Delta_{tr}H = \Delta_{CC-H_2O}H + \Delta_{CC-S}H + \Delta_{H_2O-S}H + \Delta_{CC-PEG}H + \Delta_{H_2O-PEG}H + \Delta_{S-PEG}H \quad (18)$$

Nos SAB a principal característica de composição entre as fases é a alta concentração de polímero na fase superior e de íons na fase inferior. Deste modo no processo de transferência são formadas novas interações como CC-PEG, CC- H_2O e CC-S fazendo com que uma parcela energética das entalpias de interação supraditas contribua para a geração do $\Delta_{tr}H$ do processo de partição da curcumina no SAB. O modelo de Haynes fornece uma análise bastante razoável acerca do processo de transferência de solutos em SAB. Na partição da curcumina observa-se nas figuras 23 e 24 que processo tem como força motriz ora a entalpia ora a entropia. A entalpia rege a transferência segundo os cálculos dos parâmetros termodinâmicos a 288,15K. O modelo de Haynes se adequa bem a este dado, uma vez que densidade numérica para sistemas do tipo polímero, água e sal são maiores na fase inferior. Dentro deste contexto a diferença entre a quantidade partículas na fase superior e inferior será negativa o que leva a uma baixa contribuição entrópica para a transferência da curcumina para a fase superior enquanto a entalpia fica como força motriz do processo de transferência minimizando a energia livre de Gibbs. Entretanto, nas demais temperaturas o processo é regido entropicamente e neste ponto podemos ver com clareza que é necessário a adição de mais um termo ao modelo de Haynes de modo a associar as mudanças de conformação do polímero que contribui para melhor interação da curcumina com a macromolécula.

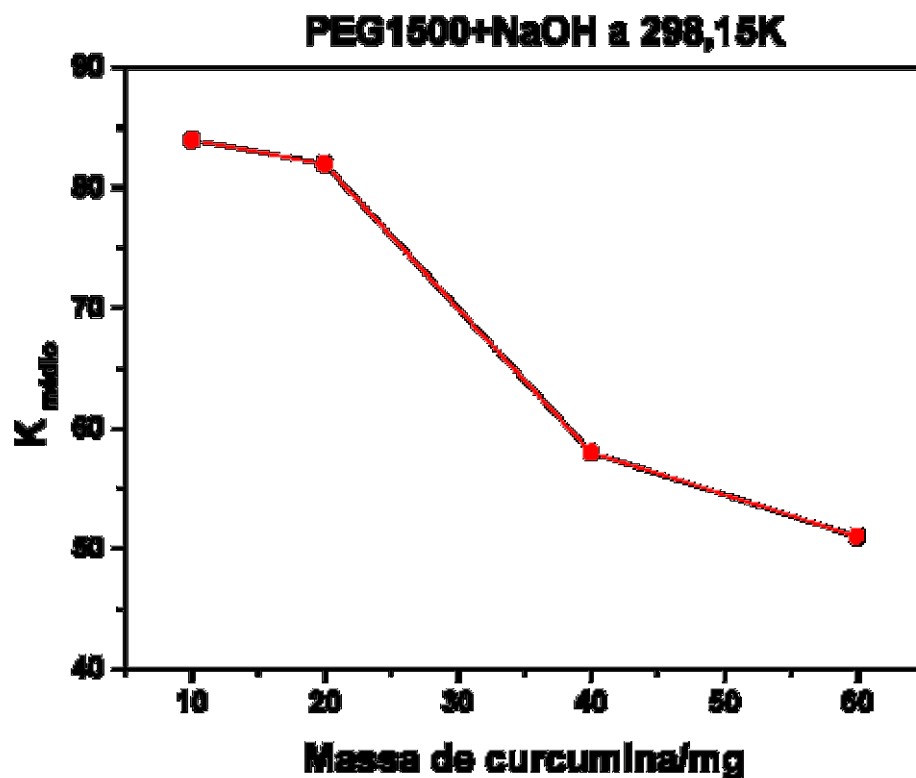
A tabela 9 nos mostra os dados entre os coeficientes de partição, variação de energia livre de transferência para o sistema PEG1500+NaOH sendo sua composição expressa em %m/m, utilizando 10, 20, 40 ou 60mg de curcumina em 298,15K.

Tabela 9 - Relação entre o coeficiente de partição (K), massa de curcumina e variação de energia livre de transferência (Δ_rG) para o sistema PEG1500 + NaOH a 298,15K em pH 12.

T (K)	Ponto Global	Composição PEG 1500	Composição NaOH	m curcumina (mg)	$K_{\text{médio}}$	Δ_rG (kJ.mol ⁻¹)
298,15	3	17,34	7,62	10	84,00	-10,98
				20	82,00	-10,92
				40	58,00	-10,07
				60	51,00	-9,75

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 26 - Diagrama da Influência dos pontos globais e a massa de curcumina no coeficiente de partição a em PEG1500+NaOH a temperatura de 298,15K

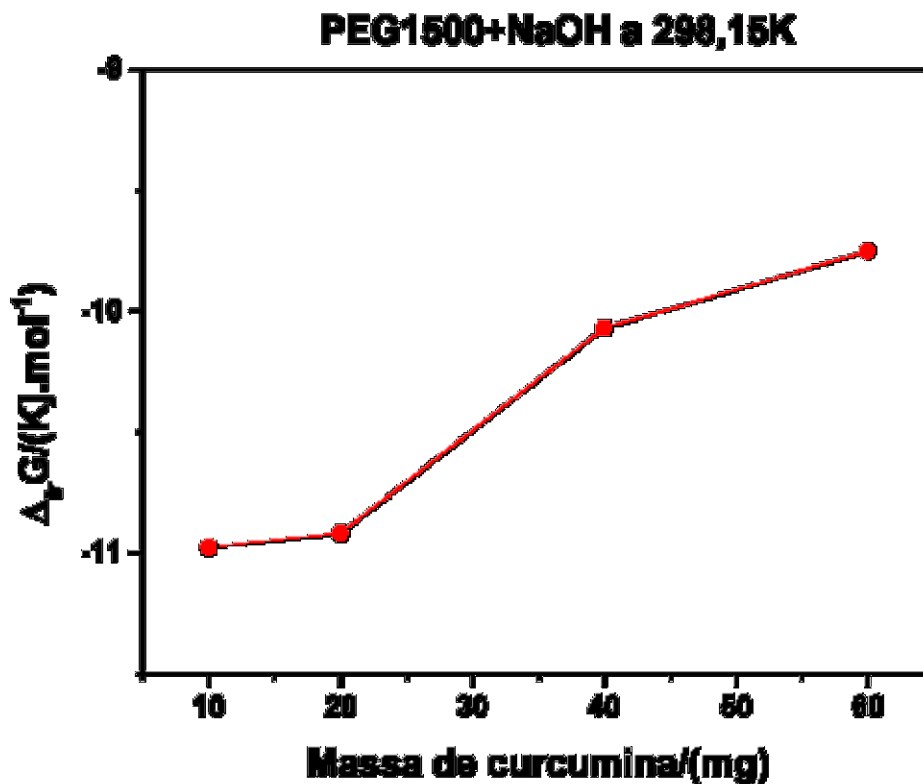


Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura 26 nos mostra que o K tende a declinar à medida que a massa de curcumina aumenta no sistema. Este comportamento enfatiza uma possível interação intermolecular preferencial entre o polímero e a curcumina. Este fato pode ser explicado pelo modelo de

Haynes, pois a transferência do corante para fase superior somente ocorre devido a contribuição entálpica. Se considerarmos a macromolécula com n de sítios de interação o comportamento exibido está associado a saturação destes sítios da cadeia polimérica o que justifica o declínio de K .

Figura 27 – Diagrama da Relação entre energia livre de transferência de Gibbs ($\Delta_{tr}G$) e a massa de curcumina em PEG1500+NaOH a temperatura de 298,15K em pH 12.

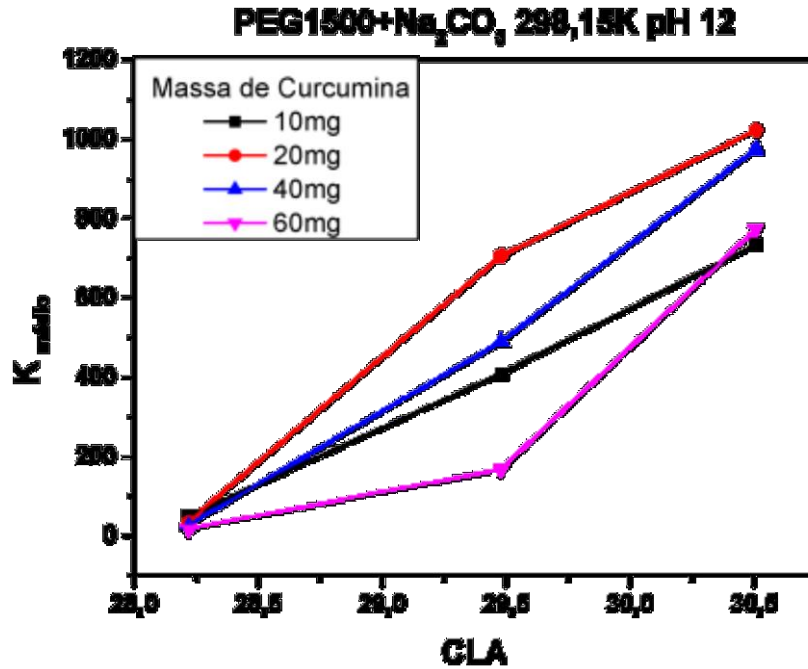


Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a figura 27 e analisando os valores da energia livre de transferência, nota-se que o processo é espontâneo para todas as massas de curcumina. A espontaneidade do processo, segundo o modelo Haynes, se deve as interações de origem entálpica devido ao coeficiente de partição ser maior que a unidade.

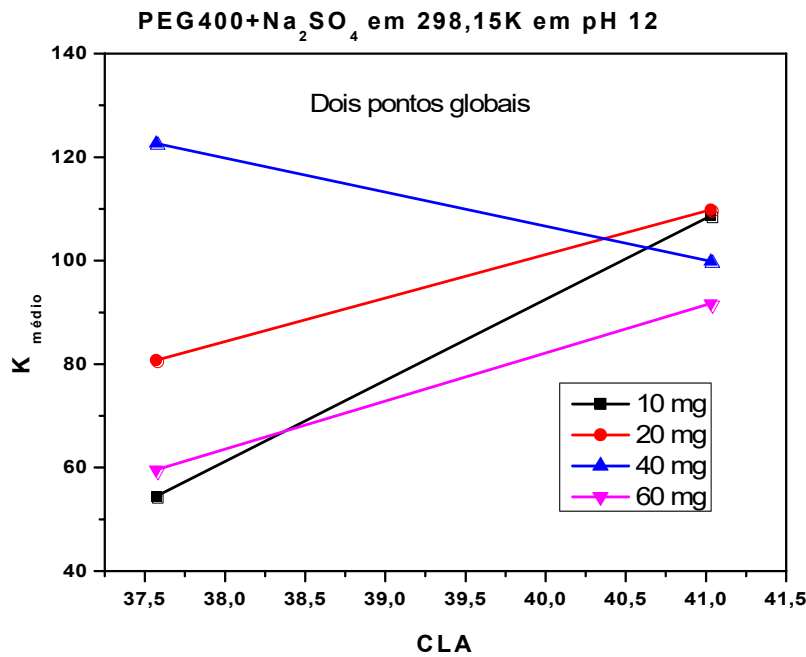
Foram realizados experimentos de partição com a curcumina em sistemas aquosos bifásicos formados por PEG400 ou PEG1500 + Na₂SO₄, Na₂CO₃ e NaOH nas temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K sendo que para o sal Na₂SO₄ e o eletrólito NaOH os experimentos foram realizados na temperatura de 298,15K.

Figura 28 - Diagrama do Coeficiente de partição (K) da curcumina em função do comprimento da linha de amarração (CLA) em sistemas formados por PEG1500+Na₂CO₃, a 298,15K em pH = 12



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 29 - Diagrama do Coeficiente de partição (K) da curcumina em função do comprimento da linha de amarração (CLA) em sistemas formados por PEG400+Na₂SO₄, a 298,15K em pH = 12



Fonte: Elaborado pelo autor.

As figuras 28 e 29 nos mostra a relação existente entre o coeficiente de partição da curcumina em SAB formados por PEG1500 + Na₂CO₃ em três linhas de amarração a 298,15K e PEG400 + Na₂SO₄ com duas linhas de amarração a 298,15K. Nota-se aumento dos coeficientes de partição da curcumina quando aumentamos os CLA. Este comportamento se deve ao aumento da diferença de polímero nas fases superior e inferior em função do aumento do CLA o que fortifica a hipótese de maior interação do polímero com a curcumina.

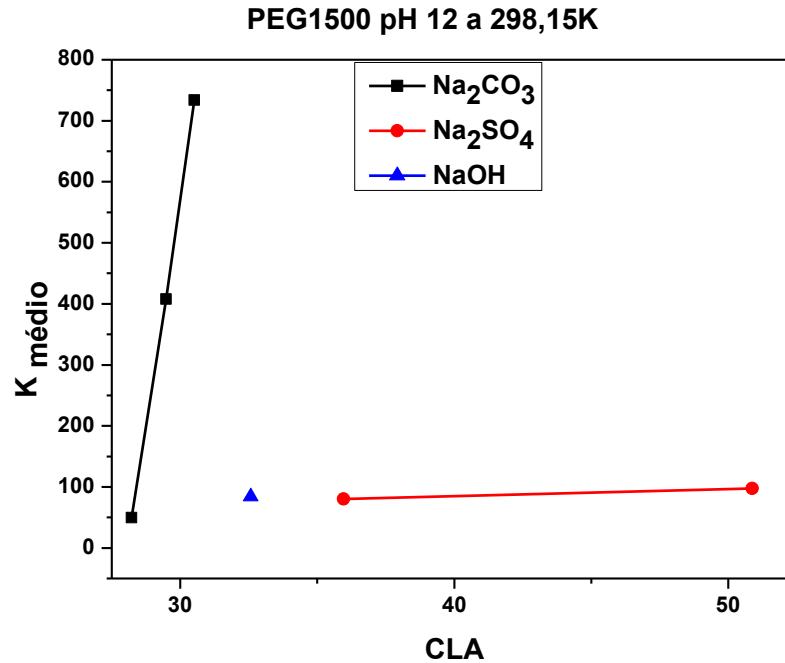
A tabela 10 mostra os dados da relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e o coeficiente de partição (K) utilizando 10 mg de curcumina em três tipos de SAB formados por PEG1500 + Na₂CO₃ + H₂O, PEG1500 + Na₂SO₄ + H₂O e PEG1500 + NaOH + H₂O em pH 12 na temperatura de 298,15K. A partir destes dados foi construído um gráfico relacionando o comportamento dos três SAB com CLA e o K representado pela figura 30 .

Tabela 10 - Relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e o coeficiente de partição (K) para 10 mg de curcumina com PEG1500+Na₂CO₃, Na₂SO₄ e NaOH em pH 12 na temperatura de 298,15K

SAB	Ponto Global	PEG % m/m	SAL % m/m	K	CLA
PEG1500 + Na ₂ CO ₃	1	15,35	6,30	49,50	28,22
	2	17,49	6,89	408,00	29,48
	3	17,53	7,56	734,00	30,51
PEG1500 + Na ₂ SO ₄	1	18,32	9,97	80,10	35,96
	2	23,44	12,39	97,40	50,88
PEG1500 + NaOH	2	17,36	7,63	84,00	32,58

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 30 - Diagrama do Coeficiente de partição (K) da curcumina em função do comprimento da linha de marração (CLA) em sistemas formados por PEG1500+Na₂CO₃, Na₂SO₄ e NaOH em pH 12 na temperatura de 298,15K



Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura 30 mostra o efeito dos ânions sobre a partição dos corantes. O modelo do pseudopolication propõe que cada cátion e ânion interage diferentemente com os segmentos EO produzindo conformações diferenciadas na macromolécula que pode reduzir ou aumentar de sítios para interação acarretando numa maior ou menor partição.

Como pode ser observado na figura 30 que para valores de CLA inferiores a 33,00, obteve-se valores de K superiores para SAB formado pelo ânion CO₃²⁻ (carbonato) relativo aos demais ânions. Os processos de transferência ocorrem espontaneamente em função do balanço de fatores entálpicos e entrópicos. Segundo o modelo de Haynes o fator entálpico é quem governa o processo de transferência da curcumina em qualquer composição global. A tendência de aumento do K em função do aumento do CLA (aumento da concentração de polímero na fase superior) remete ao termo $\sum_{i=1}^m (\phi_i^S - \phi_i^I) W$ do modelo de Haynes e se destaca sobre os demais fatores que possam influenciar na partição da curcumina. Pode-se inferir que o ânion carbonato por ter uma relação carga/raio menor que a do ânion hidróxido causa maior estruturação das moléculas de água ao seu redor diminuindo assim a entropia de hidratação, ou seja, as moléculas de água perdem graus de liberdade translacional e ao mesmo tempo há uma liberação do cátion propiciando uma maior interação com os seguimentos EO do

polímero formando assim um pseudopolication mais carregado agindo como facilitador da interação curcumina-polímero. Esta hipótese se sustenta sendo que em pH 12 há uma alteração das cargas da molécula de curcumina tornando – a mais negativa. A influência da carga da biomolécula depende muito do tipo de eletrólito presente no sistema, uma vez que diferentes tipos de eletrólitos dão origem a diferentes potenciais elétricos entre as fases (DA SILVA; LOH, 2006).

Pode-se perceber que no SAB formado por PEG1500 + Na₂SO₄ + H₂O foi necessário a utilização de solução de NaOH para se obter o pH 12 afim de proporcionar a alteração dos corantes curcuminóides.

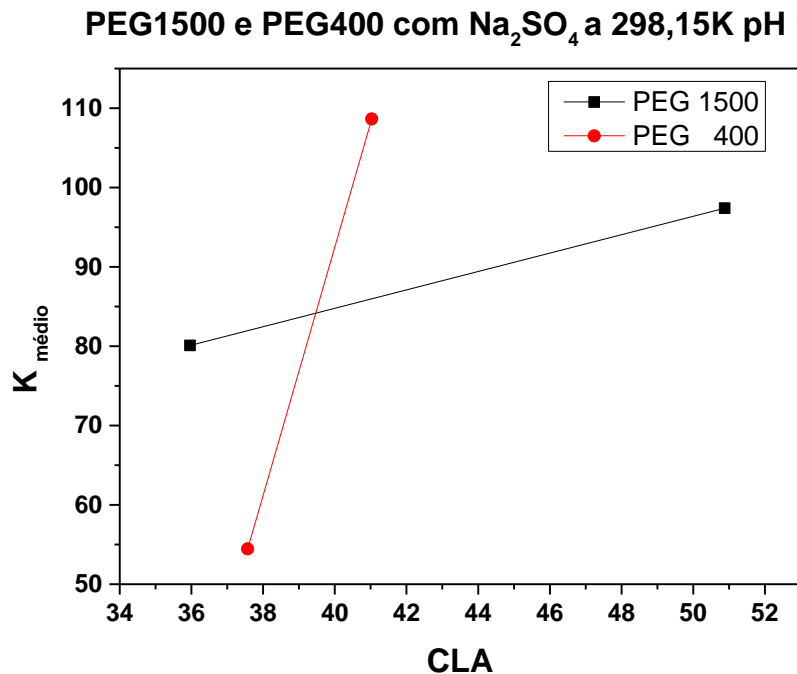
A tabela 11 mostra os dados da relação entre o comprimento da linha de amarração (CLA) e o coeficiente de partição (K) utilizando 10 mg de curcumina em dois tipos de SAB formados por PEG1500 + Na₂SO₄ + H₂O e PEG400 + Na₂SO₄ + H₂O em pH 12 na temperatura de 298,15K. A partir destes dados foi construído um gráfico relacionando o comportamento dos três SAB com CLA e o K representado pela figura 31.

Tabela 11 - Influência do comprimento da linha de amarração (CLA) com o coeficiente de partição (K) para 10 mg de curcumina com PEG1500+Na₂SO₄ e PEG400+Na₂SO₄ em pH 12 na temperatura de 298,15K

SAB	Ponto Global	Composição % m/m	Composição % m/m	K	CLA
PEG1500 + Na₂SO₄	1	18,32	9,97	80,10	35,96
	2	23,44	12,39	97,40	50,88
PEG400 + Na₂SO₄	1	19,78	13,28	54,46	37,57
	2	20,09	14,09	108,64	41,03

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 31 - Diagrama do Coeficiente de partição (K) da curcumina em função do comprimento da linha de amarração (CLA) em sistemas formados por PEG1500+Na₂SO₄ e PEG400+Na₂SO₄ em pH 12 na temperatura de 298,15K



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na figura 30 observa-se a correlação entre K vs CLA para sistemas de sulfato de sódio + PEG400 ou PEG1500 em que há um aumento de K em função do CLA para ambos sistemas. A taxa de crescimento do CLA para o PEG400 é maior que PEG1500. Pode-se inferir que o polímero PEG400 se apresenta com maior densidade numérica quando comparado ao PEG1500. Além deste fator as moléculas de PEG400 possuem menos conformações deixando seus sítios de acomodação mais livres para interagir com as moléculas de curcumina. Uma possível explicação para tal fenômeno, está relacionada com o tamanho da cadeia polimérica do PEG1500 que é maior que a do PEG400, pois o número de monômeros EO do polímero PEG1500 é cerca de 3,87 vezes superior que a do PEG400 quando comparados seus graus de polimerização N (nº de vezes que seu monômero se repete na cadeia polimérica), $N_{\text{PEG1500}} = 58$ e $N_{\text{PEG400}} = 15$. Enquanto o PEG1500 por ter cadeia polimérica maior deve sofrer conformações devido interação polímero-polímero, dificultando a interação polímero-curcumina.

5 CONCLUSÕES

O processo de partição de corantes curcuminóides possui características industriais interessantes como baixas toxicidades, materiais reaproveitáveis, além de fazer parte das tecnologias que vêm ao encontro do desenvolvimento e aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias tóxicas. Esta nova tendência tem impulsionado as pesquisas que buscam soluções inovadoras capazes de produzir menores quantidades de resíduos de acordo com os princípios da química verde.

O sistema exhibe uma partição para fase superior em meio fortemente alcalino (pH = 12).

A preferência da curcumina pela fase rica em polímero nos SAB ocorre via interações intermoleculares específicas com o polímero formador do sistema.

O modelo de Haynes fornece uma análise bastante coerente quando os fatores entálpicos são maiores que os entrópicos, porém é necessário a adição do termo ao modelo associando as diferentes contribuições por parte das mudanças de conformação da macromolécula.

Os valores dos coeficientes de partição da curcumina obtidos, principalmente nos sistemas formados por PEG1500 + Carbonato de sódio, indica a imensa viabilidade de extração deste tipo de corante natural pela indústria. Este valor é muito acima do que muitas empresas usam em seus processos de extração.

Os estudos possibilitaram também a reivindicação da patente do processo para extração de corantes curcuminóides usando SAB, pois no Brasil só existe uma patente reivindicada para extração de corante natural, especificamente do corante natural Carmim de Cochonilha usando SAB registrado com o nº BR1020120091631.

REFERÊNCIAS

ADVANCED CHEMISTRY DEVELOPMENT'S (ACD) ChemSketch® Freeware – Ferramentas para estruturação molecular – Software free Versão 2018.

ALBERTSSON, P. A.; CAJARVILLE, A.; BROOKS, D. E.; TJERNELD, F. Partition of proteins in aqueous polymer two-phase systems and effect of molecular weight of the polymer. **Biochimica et Biophysica acta**, v. 926, edição 1, p. 87-93, out. 1987.

ANANTHAPADMANABHAN, K. P.; GODDARD, E. D. Aqueous biphasic formation in polyethylene oxide-inorganic salt systems. **ACS Publications**, v. 1, n. 3, p. 25-31, jan. 1987.

ANDREA, B.; GEORGINA, B.; GUILHERMO, P.; BIBIANA, N. Features of the milk whey protein partitioning in polyethyleneglycol-sodium citrate aqueous two-phase systems with the goal of isolating human alpha-1 antitrypsin expressed in bovine milk. **Journal Chromatography B**, v. 837, ed. 1-2, p.18-23, jun. 2006.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 1999.

ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. **Atividades biológicas da curcuma longa L**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 96, n. 5, Rio de Janeiro, jul. 2001.

AMMON, H. P.; SAFAYHI, H.; SABIJERAJ, J. Mechanism of antiinflammatory actions of curcumine and boswellic acids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 38, p. 113-119, mar. 1993.

AGGARWAL, B. B.; KUMAR, A.; BHART, A. C. Anticancer potencial of curcumina: preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**, v. 23, p. 363-398, fev. 2003.

BOYSEN, R.I.; WANG, Y.; KEAH, H.H.; HEARN, M.T.W. Observations on the origin of the non-linear van't Hoff behaviour of polypeptides in hydrophobic environments. **Biophysical and Chemistry**, v. 77, p. 79-97, 1999.

BEIJERINCK, M. W.; ZBL, B. II Natur. p. 627- 698, 1896.

BRAAS, G. M.; WALKER, S. G.; LYDIATT, A. Recovery in aqueous two-phase systems of nanoparticulates applied as surrogate mimics for viral gene therapy vectors. **Journal of Chromatography B. Biomedical Sciences and applications**, v. 743, ed. (1-2), p. 409-419, jun. 2000.

BRASIL. Portaria nº 540 de 27 de outubro de 1997. Aprova Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 de outubro de 1997. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/540_97.htm> Acesso em: 25 set. 2016.

BLAZQUEZ, G.; CAMACHO, F.; GONZALEZ – TELLO; ALARCÓN, F. J. Partition coefficients of α -amylase in aqueous two – phase systems PE + MgSO₄·7H₂O + H₂O at 298 K. **Biochemistry Biophysical Acta**, n. 1379, p. 191-197, 1998.

CHIGNELL, C. F.; BILSKI, P.; RESZKA, K. J.; MOTTEN, A. G., SIK, R. H.; DAHL, T. Spectral and photochemical properties of curcuma. **Photochemistry and Photobiology**, v. 59, p. 295-302, mar. 1994.

CLAESON, P.; PANTHONG, A.; TUCHINDA, P.; REUTAKU, V.; KANJANAPOTHI, D.; TAYLOR, W.C.; SANTISUK, T. Three Non-Phenolic Diarylheptanoids with Anti-Inflammatory Activity from *Curcuma xanthorrhiza*. **Planta Medica International Open**, n. 59, ed. 5, p. 451-454, jan. 1993.

DAHL, T. A.; BILSKI, P.; RESZKA, K. J.; CHIGNELL, C. F. Photocytotoxicity of curcumin, **Photochemistry and Photobiology**, Maryland/USA, v. 59, p. 290-294, mar. 1994.

DAS, K. C.; DAS, C. K. Curcumin deferulaymethane, a singlet oxygen quencher, **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 295, n. 5, ed. (1), p.62-66, jul. 2002.

DUARTE, R. D.; BOVI, O. A.; MAIA, N. B. Corantes: programa de pesquisa do Instituto Agrônômico de Campinas. In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS, 1, 1989, Campinas. Anais... Campinas: ITAL, 1989. p. 45-53.

DA SILVA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M.; PAGGIOLI, F. J. A novel micellar medium using triblock copolymer for cobalto determination. **Analytical Sciences**, v. 21, ed. (8), p. 895-933, 2005.

_____; DA SILVA, L. H. M.; PAGGIOLI, F. J.; COIMBRA, J. S. R.; MIMIM, L.A. Sistemas aquosos bifásicos: uma alternativa eficiente para extração de íons. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1332-1339, 2006.

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

_____; DA SILVA, M. C. H.; AMIM JUNIOR, J.; MARTINS, J. P.; COIMBRA, J.S. R.; MINIM, L. A. Hydrophobic effect on the partitioning of [Fe(CN)₅(NO)]²⁻ and [Fe(CN)₆]³⁻ anions in aqueous two-phase systems formed by triblock copolymers and phosphate salts. **Journal of chemical & Engineering**, v. 60, n. 2, p. 103-112, 2008.

FLORY, J. P. **Principles of Polymer Chemistry**. New York: Ithaca, 1953.

GOVINDARAJAN, V. S. Turmeric: chemistry, technology and quality. **Critical Review Food Science Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.

HO-GUTIERREZ, I. V.; CHELUGET, E. L.; VERA, J. H.; WEBER, M. E. Líquid-líquid equilibrium of aqueous mixtures of poly(ethylene glycol) with Na₂SO₄ or NaCl. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 39, p. 245-248, 1994.

HARRIS, J. M. **Poly(Ethylene Glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications**. New York: Springer, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo, IMESP, 2008. v. 1.

JOHANSSON, H. O.; KARLSTRON, G.; TJERNELD, F.; HAYNES, C.A. Driving forces for phase separation and partitioning in aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography B. Biomedical Sciences and Applications**, n. 711, p. 3-17, 1998.

JÖNSSON, M.; JOHANSSON, H-O. Protein partitioning in thermoseparating systems of a charged hydrophobically modified ethylene oxide polymer. **Journal of Chromatography Acta**, v. 983, n. 1, p. 133-144, 2003.

JUNQUEIRA, C.M. **Partição da lipase de *Geotrichum candidum* em sistemas aquosos bifásicos**. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alfenas, Dep. Química, Alfenas, MG, 2014.

LENARDÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. C. “Química verde”: os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

MARQUES, D. J.; BIANCHINI, H. C.; BATISTA, D.E. Açafrão o tempero do lucro. **Revista Campo & Negócios Hortifrúti**, Uberlândia/MG, ano VIII, n. 126, p. 30-37, nov. 2015.

MARTINS, J. P. **Partição de cianocomplexos em sistemas aquosos bifásicos com diferentes balanços hidrofílicos-lipofílicos**. 2008. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade federal de Viçosa, Dep. de Agroquímica, Viçosa, MG, 2008.

_____. **Diagramas de sistemas ternários formados por polímero ou copolímero tribloco, sal e água e partição de proteínas do soro do leite**. 2010. 154 f. Tese (Doutorado) - Universidade federal de Viçosa, Dep. Eng. Química, Viçosa, MG, 2010.

_____; DA SILVA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M.; SENRA, T. D. A.; FERREIRA, G. M. D.; COIMBRA, J. S. R.; MIMIM, L. A. Liquid-liquid phase equilibrium of tribloc copolymer F68, poly (ethylene oxide) -b- poly (propylene oxide) -b-poly (ethylene oxide), with sulfate salts. **Journal of Chemical Engineering Data**, v. 55, n. 4, p. 1618-1622, 2010.

_____; CARVALHO, C. P.; SILVA, L. H.M.; COIMBRA, J. S. R.; SILVA, M. C. H.; RODRIGUEZ, G. D.; MINIM, L. A. Liquid-Liquid Equilibria of an Aqueous Two-Phase System Containing Poly(ethylene) Glycol 1500 and Sulfate Salts at Different Temperatures **Journal of Chemical and Engineering Data**. v. 53, p. 238-241, 2008.

MELLER, L. H. S.; MEIRELLES, A. J. A. PEG + potassium phosphate + urea aqueous two-phase systems: Phase equilibrium and protein partitioning. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 46, n. 2, p. 251-255, fev. 2001.

NAMEROFF, T. J.; GARANT, R. J.; ALBERT, M. B. Adoption of green chemistry: an analysis based on US patents. **Research Policy**, v. 33, n.7, p. 959-974, 2004.

PEREIRA, M.; WU, Y. T.; VENÂNCIO, A.; TEIXEIRA, J. Aqueous Two-Phase Extraction using Thermoseparating Polymer: a New System for the Separation of Endo-polygalacturonase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 15, p. 131-138. 2003.

QUIROGA, Ana Lúcia Barbosa: Dossiê Corantes. **Revista Food Ingredients Brasil**, São Paulo, n. 39, p. 24-46, mar. 2016.

RITA C. M. Netto: Dossiê Corantes. **Revista Food Ingredients Brasil**, São Paulo, n. 9, p. 40-59, set. 2009.

RODRIGUES, G. D.; DA SILVA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M.; TEIXEIRA, L. S.; ANDRADE, V. M. DE. Liquid-Liquid Phase Equilibrium of Triblock Copolymer L64, Poly(ethylene oxide-b-propylene oxide-b-ethylene oxide), with Sulfate Salts from (278.15 to 298.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 54, p. 1894–1898. 2009.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS (SEBRAE). **Açafrão impulsiona economia no norte de Goiás**. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/site/site.do?idArtigo=3098>>. Acesso em: 05 maio de 2017.

SILVA, L. A.; MARTINS, C. R.; ANDRADE, J. B. Porque todos os nitratos são solúveis. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 1016-1020, 2004.

SOMASUNDARAM, S.; EDMUND, N. A.; MOORE D. T.; SMALLG, W.; SHI, Y. Y.; ORLOWISKI, R. Z. Dietary curcumin inhibits chemotherapy – induced apoptosis in models human breast cancer. **Cancer Research**, v. 62, p. 3868-3875, 2002.

SU, C.; CHIANG, B. H. Partitioning and purification of lysozyme from chicken egg white using aqueous two-phase system. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 257-263. 2006.

TONNESEN, H. H.; DE VRIES, H.; KARISEN, J.; BEIGERSBERGEN VAN HENEGOUWEN, G. J. Studies on curcumin and curcuminoids. IX: Investigation of the photobiological activity of curcumina using bacterial indicator systems. **Journal of pharmaceutical sciences**, n. 76, ed. (5), p. 371-373, maio de 1987.

_____; MASSON, M.; LOFTSSON, T. Studies on curcumin and curcuminoids. XXVII: cyclodextrin complexation solubility chemical and photochemical stability. **International Journal Pharmaceutics**, v. 5, n. 244, ed. (1-2), p. 127-135, set. 2002.

TUBÍO, G.; NERLI, B. B.; PICÓ, G. A.; VENANCIO, A. T. J. Liquid-liquid equilibrium of the Ucon 50-HB5100/sodium citrate aqueous two-phase systems. **Separation and Purification Technology**, v. 65, p. 3-8. 2009.

1/7

ANEXO A - “PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”

[001] A presente invenção, objeto de pedido de patente, compreende um processo usando sistemas aquosos bifásicos formados por polímero (PEO 1500 ou PEO 400), sais ou base (Na_2SO_4 , Na_2CO_3 e NaOH) e água em determinadas temperaturas, composições e pH. As aplicações desta invenção estão voltadas para indústrias químicas, farmacêuticas e alimentícias, entre outras, que fazem a purificação e/ou extração corantes curcuminóides. A alta transferência do soluto para a fase polimérica é uma vantagem industrial para purificação e os produtos que compõe o sistema podem ser reutilizáveis, possuem baixa perda de massa no processo, por não serem voláteis, o que reduz custos de produção.

[002] ESTADO DA TÉCNICA

[003] A indústria tem buscado substituir corantes sintéticos por corantes naturais, devido ao fato destes apresentarem baixo risco a saúde dos consumidores. Por essa razão, a demanda de corantes naturais pela indústria tem aumentado substancialmente, pois a população tem evitado o consumo de produtos que são coloridos artificialmente. Neste contexto o corante natural tem encontrado um grande espaço de uso na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica.

[004] Os corantes curcuminóides são encontrados naturalmente nos rizomas do açafrão (*Curcuma long L.*) e exibem coloração amarelo ouro *in natura*. Eles são amplamente utilizados como condimento alimentício e possuem atividades antimicrobianas e antioxidantes que lhe conferem a possibilidade de uso nas áreas alimentícia, medicinal, têxtil e cosméticos. As espécies químicas que lhes conferem a cor são formadas basicamente por três análogos de cromóforos curcuminóides: A curcumina (CC) e seus dois derivados dimetoxilados, a dimetoxi-curcumina (DMC) e a bis-dimetoxi-curcumina (BDMC).

[005] A cúrcuma é bastante conhecida e explorada pela medicina asiática tradicional, sendo amplamente utilizada como digestivo, cominativo, antiespasmódico, antioxidante, antidiarreico, diurético, excitante, nas doenças do fígado, como tônico no tratamento de úlceras, no tratamento de tosses e resfriados comuns e, externamente, como pomada na cicatrização de feridas.

[006] Inúmeros estudos mostram que a degradação da CURCUMINA é um processo complexo, que depende do pH e da exposição da solução do composto a radiação na região

2/7

UV/VIS. Estes trabalhos serviram de base para ensaios fotobiológicos para medir a atividade da CURCUMINA frente a sistemas com bactérias usadas como indicador. Na presença de radiação na região do visível, a CURCUMINA se mostrou como fototóxica para *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* em baixas concentrações. A fototoxicidade da CURCUMINA possibilita a criação de fototerapias para tratamento de doenças, como a psoríase, câncer e doenças de origem bacteriana e viral.

[007] Existem inúmeras técnicas capazes de remover os corantes oriundos do rizoma, sendo a extração líquido-líquido (ELL) a mais empregada. Os solventes são em sua maioria compostos orgânicos voláteis. Todavia, o uso desta técnica clássica apresenta vários problemas de ordem ambiental e de saúde devido à alta toxicidade dos compostos utilizados. Neste sentido é necessário o uso de novas tecnologias de extração que visem a redução ou eliminação de produtos nocivos ao meio ambiente em acordo com os princípios da química verde.

[008] Dentro deste contexto os sistemas aquosos bifásicos (SAB) se destacam como processo de extração líquido-líquido (ELL) ambientalmente seguro, podendo ser utilizado para extrair e recuperar muitos tipos de moléculas de interesse biotecnológicos, tais como proteínas, peptídeos e outras pequenas moléculas bioativas. Os Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB) são sistemas constituídos em sua grande parte por água, sendo seus demais constituintes polímeros e sais (compostos de baixa toxicidade e não inflamáveis), o que torna esse sistema de extração seguro. Estes sistemas têm um enorme potencial de extração e separação de biomoléculas como os corantes curcuminóides. A literatura descreve uma extensa quantidade de combinações de substâncias químicas capazes de originar um Sistema Aquoso Bifásico (SAB). Estas combinações são obtidas por tentativa e erro, uma vez que não há uma teoria capaz de prever quais relações entre as espécies químicas resultariam na segregação de fases e consequentemente a formação destes sistemas.

[009] Os sistemas aquosos bifásicos formados por polímeros ou copolímeros, sal e água em geral são pouco difundidos nas indústrias, uma vez que o desconhecimento do processo gera uma barreira para sua implementação, porém como as leis ambientais tem ficado cada vez mais rígidas em pouco tempo estas tecnologias poderão ser mais apreciadas pelas indústrias.

[010] Os bancos de patente mostram alguns depósitos de processos para extração de biosolutos usando sistemas aquosos bifásicos

[011] Patente para extração de uma corante natural com número do registro: BR1020120091631, data de depósito: 19/04/2012, intitulada de "PROCESSO DE PURIFICAÇÃO/EXTRAÇÃO DE CARMIM DE COCHONILHA E USO DO SAB PARA

3/7

EXTRAÇÃO DESTE CORANTE" (INPI). Está é a única patente existente para aplicando em corante natural tendo como composto alvo o corante de carmim de cochonilha. É importante ressaltar o fato que para cada composto existem comportamentos diferentes sendo necessário estudos diferenciados para determinar o comportamento de partição.

[012] Patente para extração de proteínas com número de registro: US7439336 B2, data de depósito: 27/06/2005, intitulada de "Process for the purification of IL-18 binding protein" USPTO.

[013] Patente para extração de proteínas com número de registro: EP1194445 A1, data de depósito: 04/05/2000, intitulada de "Methods for protein purification using aqueous two-phase extraction" ESPACENET.

[014] A presente invenção trata especificamente do processo de extração/purificação dos corantes curcuminóides oriundos do rizoma do açafrão com um impacto positivo para indústria tendo em vista as vantagens dos SAB e com altos coeficientes de partição.

[015] As figuras expressam os resultados experimentais e mostram a claramente a transferência de corantes curcuminóides para a fase rica em polímero (Fase Superior). A figura 1 mostra um SAB com corantes curcuminóides e sem corante após o processo de transferência. A figura 2 mostra o coeficiente de partição da CURCUMINA para o ponto global 1 PEG1500 + Na₂SO₄ em pH 10 e pH 12. A figura 3 mostra o coeficiente de partição da CURCUMINA para o ponto global 2 PEG1500 + Na₂SO₄ em pH 10 e pH 12. A figura 3 mostra o coeficiente de partição da CURCUMINA para o ponto global 1 PEG400 + Na₂SO₄ em pH 12. A figura 4 mostra o coeficiente de partição da CURCUMINA para o ponto global 1 PEG400 + Na₂SO₄ em pH 12. A figura 5 mostra o coeficiente de partição da CURCUMINA para o ponto global 2 PEG400 + Na₂SO₄ em pH 12. A figura 6 mostra a influência da temperatura e do comprimento da linha de amarração no coeficiente de partição para 10 mg de CURCUMINA em PEG1500 + Na₂CO₃ em pH 12 nas temperaturas 288,15K, 298,15K e 308,15K. A figura 7 mostra a relação entre o coeficiente de partição da CURCUMINA e a massa de corantes curcuminóides em três pontos globais com diferentes comprimentos da linha de amarração em PEG1500 + Na₂CO₃ em pH 12 na temperatura 288,15K. A figura 8 mostra a relação entre o coeficiente de partição da CURCUMINA e a massa de corantes curcuminóides em três pontos globais com diferentes comprimentos da linha de amarração em PEG1500 + Na₂CO₃ em pH 12 na temperatura 298,15K. A figura 9 mostra a relação entre o coeficiente de partição da CURCUMINA e a massa de corantes curcuminóides num ponto global em PEG1500 + NaOH na temperatura 298,15K. A figura 10 mostra a relação entre o coeficiente de partição da CURCUMINA em

4/7

diferentes comprimentos da linha de amarração em PEG1500 + Na₂CO₃ em pH 12 na temperatura 298,15K. A figura 11 mostra a relação entre o coeficiente de partição da CURCUMINA em diferentes comprimentos da linha de amarração em PEG400 + NaOH na temperatura 298,15K.

[016] A figura 1 mostra claramente o contraste visual promovido pela migração preferencial dos corantes curcuminóides pela fase superior.

[017] As figuras 2 e 3 mostram que a elevação do pH para meios mais alcalinos, em especial o pH 12 promove uma transferência muito maior de corante para a fase rica em polímero independentemente da quantidade de corante colocada no sistema observada as massas.

[018] As figuras 4 e 5 revelam que o aumento da composição global ligada a CLA transfere mais corantes para a fase superior sugerindo maior interação dos corantes com as macromoléculas.

[019] A figura 6 mostra o efeito da temperatura sobre a transferência de soluto para a fase rica em polímero sendo de suma importância o controle deste parâmetro para processos de separação.

[020] As figuras 7 e 8 revela que quanto maior a composição global de polímero e eletrólito haverá maior transferência de soluto para fase rica em polímero. O aumento simultâneo de polímero e sal proporciona um aumento do CLA proporcionando mais polímero na fase superior. A medida que aumenta a massa de corante no sistema há um decréscimo da transferência de soluto para a fase rica em polímero.

[021] A figura 9 mostra que a distribuição do corante em sistemas formados por PEG1500 + NaOH decresce à medida que se aumenta a massa de corante no SAB.

[022] As figuras 10 e 11 mostram que há um crescimento da transferência de soluto para a fase superior à medida que o CLA aumenta.

[023] Os experimentos deixam claro que o processo de separação se torna viável devido à grande transferência do soluto para a fase rica em polímero tornando – se uma alternativa para processos de separação de corantes curcuminóides.

[024] **DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO**

[025] O presente pedido de patente descreve um processo para extração/purificação de corantes curcuminóides oriundos do açafrão. A metodologia desenvolvida faz uso de sistemas formados por polímero, sal e/ou base e água denominados de sistemas aquosos bifásicos (SAB). Os sistemas estudados abrangeram polímeros do tipo polióxido de etileno com massa 1500 e

5/7

400 g.mol⁻¹ e os eletrólitos (Na₂CO₃, Na₂SO₄ e NaOH). O baixo custo dos materiais envolvidos e alta velocidade de separação com grande eficiência na transferência de corantes curcuminóides para a fase rica em polímero permitindo uma excelente separação. Os constituintes do SAB podem ser reutilizados para novos eventos de purificação/extração.

[026] O processo só se torna viável tornando o SAB com fases alcalina o que propicia uma grande extração dos corantes para a fase superior. A adição de NaOH no SAB foi necessária para manter o pH em torno de 12 e assim alcançar resultados satisfatórios do ponto de vista de partição. A concentração dos corantes curcuminóides foram determinadas por espectrofotometria utilizando espectrofotômetro UV-Visível em meio alcalino (pH =12) no comprimento de onda de 469 nm. Para a obtenção do coeficiente de partição fora utilizado a razão das concentrações de curcumina na fase superior [corante]FS e inferior [corante]FI.

[027] **EXPERIMENTO DE DEMONSTRAÇÃO**

[028] As soluções de PEG1500 e PEG400 foram preparadas a 50% m/m utilizando água destilada enquanto as soluções de eletrólitos (Na₂CO₃, Na₂SO₄ e NaOH) a 20% m/m. O sal de Na₂SO₄ foi seco em estufa a 105°C por uma hora sendo e o carbonato de sódio (Na₂CO₃) seco a 150°C por uma hora e levados para resfriamento em dessecador antes do preparo das soluções. Os estudos de partição/extração foram realizados na seguinte sequência: com sistemas aquosos bifásicos formados por soluções PEG1500 50% (m/m) + NaOH 20% (m/m) + H₂O a 298,15K utilizando um ponto global, PEG1500 50% (m/m) + Na₂SO₄ 20% (m/m) + H₂O, PEG400 50% (m/m) + Na₂SO₄ 20% (m/m) + H₂O com dois pontos globais, PEG1500 50% (m/m) + Na₂CO₃ 20% (m/m) + H₂O a temperaturas de 288,15, 298,15 e 308,15K com três pontos globais, sendo as composições globais utilizadas do sal Na₂SO₄ e do eletrólito NaOH.

[029] Foram preparadas de 30 a 70g de SAB para cada ponto global (PG) estudado em tubos de vidro com tampa rosqueada de 80ml. Os tubos foram vigorosamente agitados e colocados em banho termostático na temperatura até atingir o equilíbrio termodinâmico que é caracterizado pela limpidez das fases. Os pontos globais para cada sistema estão descritos nas tabelas de 1 a 4:

6/7

[030] Tabela 1- Composições globais utilizadas para a partição dos corantes curcuminóides PEG 1500 + Na₂CO₃ + H₂O nas temperaturas de 288,15K, 298,15K e 308,15K:

Temperatura (K)	Ponto Global	PEG 1500 (%m/m)	Na₂CO₃ (%m/m)
288,15	1	16,19	6,69
	2	18,57	7,08
	3	16,31	8,41
298,15	1	16,63	6,89
	2	15,33	6,27
	3	18,28	7,86
308,15	1	15,73	6,88
	2	18,41	8,25
	3	17,34	7,64

[031] Tabela 2- Composições globais utilizadas para a partição dos corantes curcuminóides PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O na temperatura de 298,15K em pH 10 e 12.

Temperatura (K)	Ponto Global	PEG 1500 (%m/m)	Na₂SO₄ (%m/m)
298 K	1	18,50	10,20
	2	23,60	12,50

[032] Tabela 3- Composições globais utilizadas para a partição dos corantes curcuminóides PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O na temperatura de 298,15K em pH 10 e 12.

Temperatura (K)	Ponto Global	PEG 400 (%m/m)	Na₂SO₄ (%m/m)
298 K	1	19,33	13,33
	2	20,12	14,17

[033] Tabela 4- Composições globais utilizadas para a partição dos corantes curcuminóides PEG 1500 + NaOH + H₂O na temperatura de 298,15K.

Temperatura (K)	Ponto Global	PEG 1500 (%m/m)	NaOH (%m/m)
298	1	17,34	7,62

7/7

[034] Atingido o equilíbrio, as fases superiores e inferiores foram coletadas com seringas plásticas de 20 ml. 3,0000g de cada uma das fases coletadas foram distribuídas em quatro tubos falcon de 15 ml. Para realização dos experimentos de partição adicionou – se em três tubos 10,20,40 ou 60 mg de CURCUMINA sendo que um dos tubos foi deixado sem corante para utilização em teste “branco”. As misturas foram agitadas vigorosamente por meio do agitador tipo Vórtex até que fosse verificada a completa dissolução dos corantes curcuminóides. Os tubos foram levados ao banho termostático na temperatura desejada até alcançar o equilíbrio.

[035] Após o equilíbrio foram retiradas alíquotas das fases superior e inferior com seringas plásticas de 3 ml (uma seringa para cada fase) de maneira que as agulhas entrem em contato com a fase a ser coletada. É necessária cautela para não haver contaminação entre as fases. As alíquotas foram diluídas quantitativamente com solução de hidróxido de sódio na ordem de 10 a 1000 vezes. Após a diluição as amostras foram analisadas por espectrofotometria na região do Visível. A diluição aplicada se manteve dentro da faixa linear da curva analítica obtida em 469 nm em pH = 12. A concentração dos corantes curcuminóides foram determinadas por espectrofotometria utilizando espectrofotômetro UV-Visível (Cary – 60) em meio alcalino (pH =12) no comprimento de onda de 469 nm. Para a obtenção do coeficiente de partição fora utilizado a razão das concentrações de CURCUMINA na fase superior [corante]^{FS} e inferior [corante]^{FI}.

1/2

REINVINDICAÇÕES

1. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, caracterizado pela mistura de soluções de polímero e eletrólito, em proporções adequadas, em meio alcalino garantindo um pH elevado das fases e a adição de corantes oriundos do rizoma do açafrão neste sistema em temperatura controlada até total separação das fases e ausência de turbidez. Posterior separação das fases (superior e inferior) obtendo uma grande quantidade de corantes concentrado de corantes na fase superior do sistema rica em polímero.
2. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, de acordo com a reivindicação 1, abrange a utilização de sistemas aquosos bifásicos formados PEO 1500 e sais sulfato de sódio, carbonato de sódio e NaOH para purificação/extração de corantes curcuminóides em pH em torno de 12 em diferentes composições/comprimentos de linha de amarração/ temperatura dentro dos limites experimentais.
3. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, de acordo com a reivindicação 1, abrange a utilização de sistemas aquosos bifásicos formados PEO 400 e sais sulfato de sódio, carbonato de sódio e NaOH para purificação/extração de corantes curcuminóides em pH em torno de 12 em diferentes composições/comprimentos de linha de amarração dentro dos limites experimentais.
4. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, de acordo com a reivindicação 1, manutenção das fases alcalinas com pH em torno de 12 para o processo de extração por meio da adição de NaOH ou base forte similar.
5. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, de acordo com as reivindicações 1,2 e 3, adicionar nos sistemas uma massa de 10,0 a 60,0mg de corantes curcuminóides oriundos do rizoma do açafrão.

2/2

6. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, de acordo com a reivindicação 1, promover a separação física das fases após a partição obtendo um concentrado de corantes na fase rica em polímero.
7. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, de acordo com a reivindicação 1, utilizar sistemas aquosos bifásicos para processos de extração/purificação de corantes curcuminóides.
8. **“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**, de acordo com a reivindicação 1, compreender as faixas de concentração dos componentes formadores do sistema que variam de 23,0 a 46,0% m/m de polímero e de 1,0 a 5,0% de eletrólito na fase superior compreendendo as linhas de amarração estudadas.

1/5

FIGURA 1



FIGURA 2

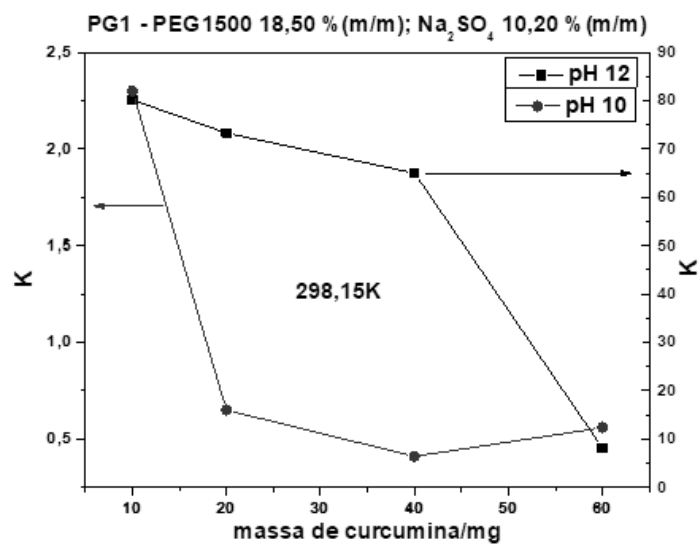


FIGURA 3

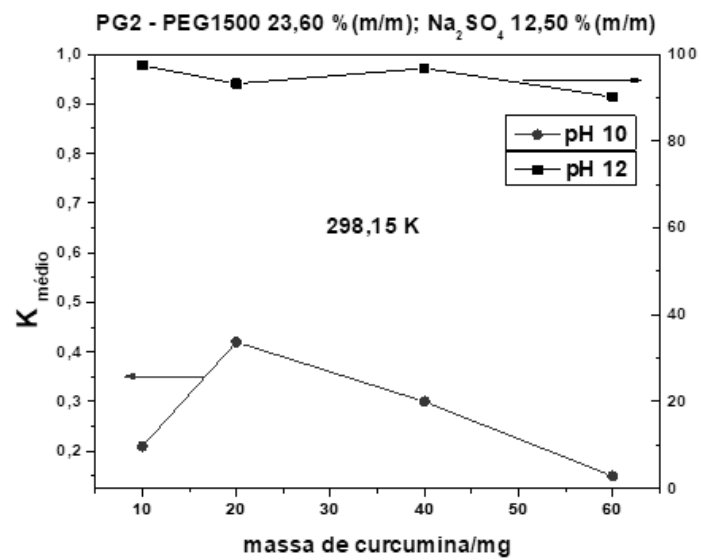


FIGURA 4

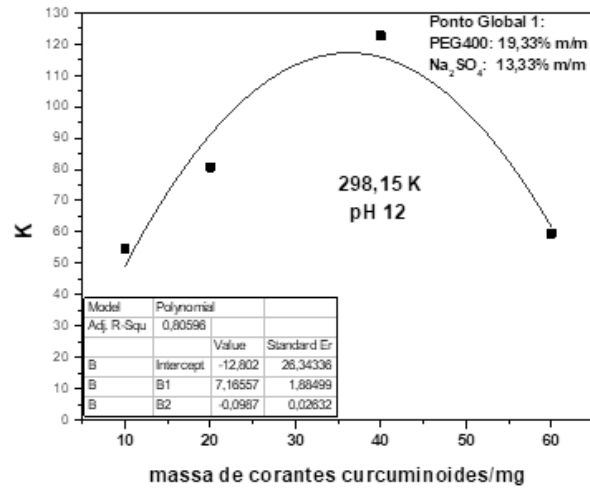


FIGURA 5

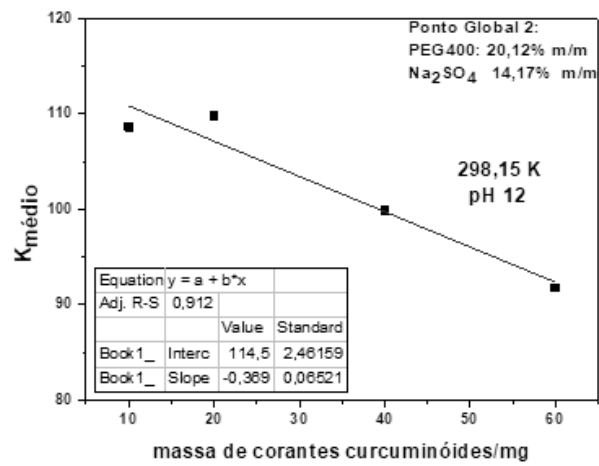


FIGURA 6

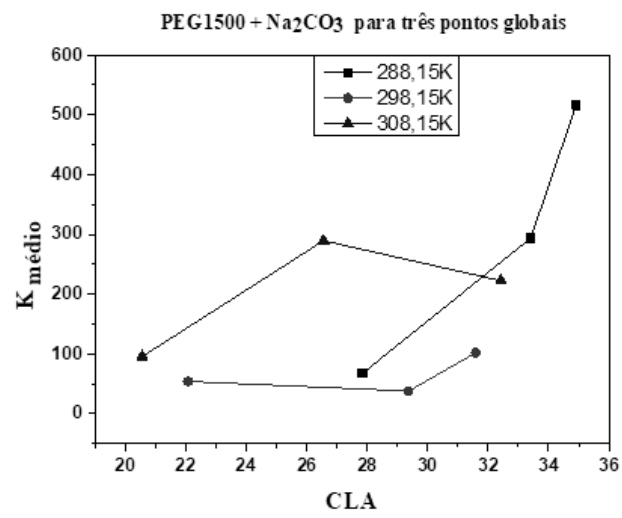
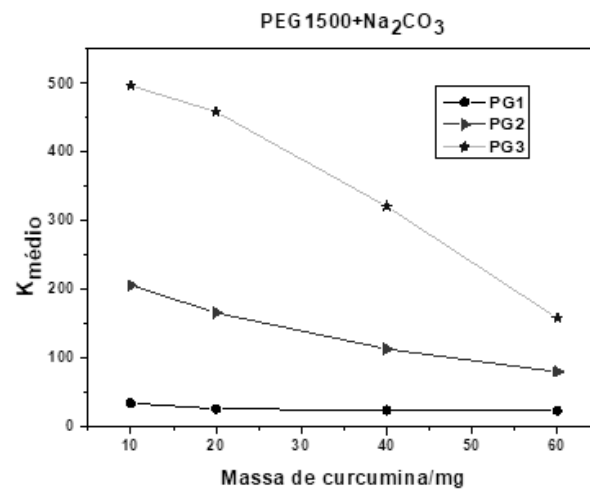


FIGURA 7



4/5

FIGURA 8

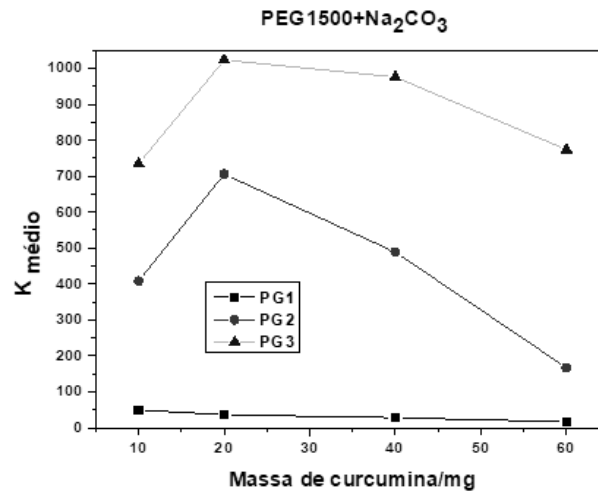
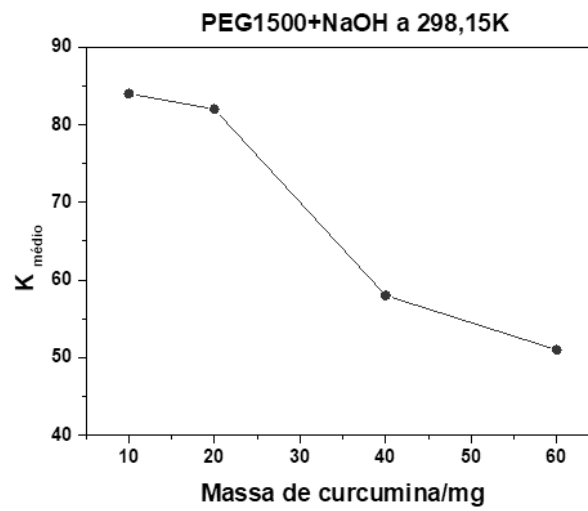


FIGURA 9



5/5

FIGURA 10

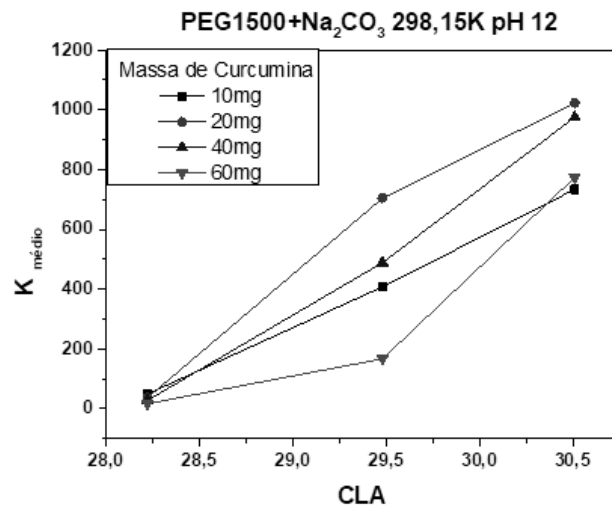
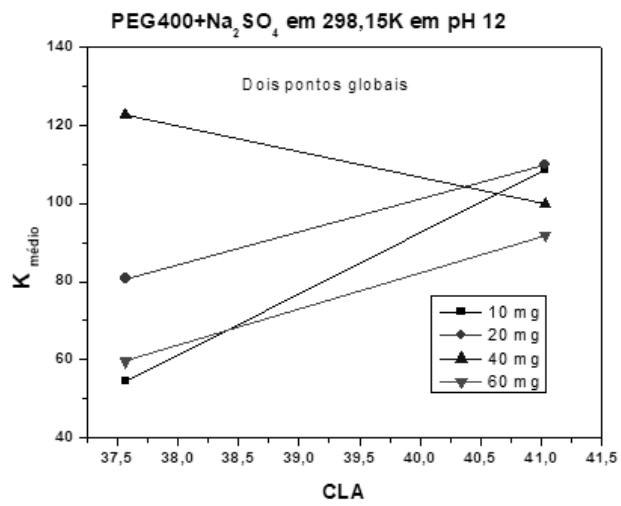


FIGURA 11



1/1

RESUMO**“PROCESSO DE EXTRAÇÃO/PURIFICAÇÃO DE CORANTES CURCUMINÓIDES
USANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS”**

A presente invenção compreende um processo utilizando sistemas aquosos bifásicos (SAB) para extração/purificação de corantes curcuminóides oriundos do rizoma do açafrão que possuem preferência pela fase rica em polímero (Fase Superior) em certas condições experimentais resultando num novo método extrativo utilizando substâncias que ofertam baixa toxicidade e não inflamáveis. Os parâmetros analisados foram: Composição do SAB, comprimento de linha de amarração, massa de corante, pH, massa molar do polímero e a natureza do eletrólito. As aplicações desta invenção estão voltadas para indústrias químicas, farmacêuticas e alimentícias, entre outras, que fazem a purificação e/ou extração corantes curcuminóides.