

Coeficientes de Partição de Compostos Fenólicos em Sistemas Bifásicos de Solventes Orgânicos

Yana Amaral Alves

Dissertação apresentada à Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Bragança para obtenção do grau de mestre em **Engenharia Química**, no âmbito da dupla diplomação com a Universidade Salvador (UNIFACS)

Supervisores:

Maria Olga de Amorim e Sá Ferreira
Simão Pedro de Almeida Pinho
Gabriela Fontes Deiró Ferreira

Bragança
Dezembro de 2020

“A persistência é o menor caminho do êxito”.
(Charles Chaplin)

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pelas bênçãos, proteções e forças diárias que ajudaram a enfrentar toda e qualquer dificuldade.

Aos meus orientadores, a Professora Doutora Olga Ferreira e ao Professor Doutor Simão Pinho, agradeço imensamente pela oportunidade de realizar este trabalho, com a coorientação da Professora Gabriela Ferreira, e por toda preocupação, ajuda, paciência e incentivo durante um ano e meio.

Ao projeto Verão com Ciência, por me dar a oportunidade de aprimorar e enriquecer este trabalho, durante todo o seu período.

A minha família, em especial aos meus pais, Maria Alves e Renato Alves, e a minha irmã, Renata Alves, que mesmo de longe se fizeram presente ao longo deste caminho dando todo apoio, suporte, amor e carinho.

Aos meus amigos do Brasil que a todo momento estavam a disposição e presente, principalmente a Beatriz Luz, Daniella Alves e Lara Andrade que desde sempre estão oferecendo todo apoio.

Ao meu t7, Abner Brito, Camila Queiroz, Flávia Cunha, Gabriela Prates, João Vitor Sales e Renata Lima, pelo apoio, amizade e por serem minha família em Portugal.

Aos amigos que fiz em Bragança, principalmente Paula Sena, Mariana Correia e Filipe Soares, por todo carinho e momentos de descontração fazendo com que a saudade do Brasil fosse cada vez menor.

E a todos que ajudaram de forma direta ou indireta nesse caminho.

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projeto AllNat – “Utilização de solventes eutéticos profundos naturais para a extração de compostos bioativos de materiais vegetais” (referência POCI-01-0145-FEDER-030463, PTDC/EQU-EPQ/30463/2017), financiado com fundos FEDER através do COMPETE2020 – Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI), Portugal 2020 e com fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT/MCTES).



Resumo

Os processos de separação por cromatografia de contracorrente e partição centrífuga são aplicados principalmente na separação e purificação de produtos naturais. Ambos se baseiam no mesmo princípio de funcionamento, que consiste na distribuição de um soluto em duas fases imiscíveis compostas por uma mistura de solventes. A seleção do sistema bifásico ideal é o fator chave, que deve garantir uma distribuição adequada do soluto entre as duas fases líquidas. De acordo com a literatura, as misturas de solventes mais utilizadas para a separação de compostos fenólicos presentes em matrizes naturais são os sistemas HEMWat (água + acetato de etilo + metanol + hexano), ARIZONA (água + acetato de etilo + metanol + heptano), ChMWat (água + clorofórmio + metanol) e EBUWat (água + butanol + acetato de etilo). Em paralelo, métodos como COSMO-RS (CONductor-like Screening MOdel for real solvents), UNIFAC (UNIversal Functional Activity Coefficient group-contribution method), e suas modificações, ou o modelo de solvatação de Abraham, podem ser usados para auxiliar na triagem do sistema de solventes mais adequado para um determinado soluto alvo, de maneira mais rápida e eficaz.

Este trabalho apresenta alguns conceitos introdutórios sobre cromatografia líquido-líquido e uma revisão da literatura sobre os coeficientes de partição de compostos fenólicos. Além disso, foi implementada uma metodologia experimental para a medição dos coeficientes de partição, utilizando a família de solventes ARIZONA, com a quercetina como soluto, que será útil para futuros trabalhos laboratoriais, visto que os dados de partição de compostos fenólicos são escassos.

Por fim, a modelação termodinâmica provou ser uma ferramenta eficaz para selecionar o sistema de solventes. Em particular, o modelo UNIFAC original destacou-se por ser aplicável a um maior número de solutos quando comparado com as versões de Dortmund e NIST. O modelo de solvatação de Abraham também pode ser aplicado, desde que os descritores moleculares dos solutos já estejam disponíveis ou possam ser estimados a partir de dados de solubilidade ou partição. Os resultados da modelação com o modelo UNIFAC, versão original e suas modificações, e o modelo de solvatação de Abraham para a partição de 41 solutos são explorados e discutidos.

Palavras-chave: Coeficiente de partição, compostos fenólicos, extração

Abstract

The countercurrent and centrifugal partition chromatography separation processes are mainly applied on the separation and purification of natural products. Both are based on the same working principle, which is the distribution of a solute in two immiscible phases composed by a mixture of solvents. The selection of the optimal two-phase system is the key factor, that must guarantee the proper distribution of the solute between the two liquid phases. According to the literature, the most used solvent mixtures for the separation of phenolic compounds present in natural matrices are HEMWat (water + ethyl acetate + methanol + hexane), ARIZONA (water + ethyl acetate + methanol + heptane), ChMWat (water + chloroform + methanol) and EBUWat (water + butanol + ethyl acetate). In parallel, methods such as COSMO-RS (CONductor-like Screening MODEL for real solvents), UNIFAC (UNIversal Functional Activity Coefficient group-contribution method), and its variants, or the Abraham solvation model, can be used to assist in the screening of the most adequate solvent system for a given target solute, in more quickly and effectively manner.

This work presents some introductory concepts on liquid-liquid chromatography and a review of the literature on the partition coefficients of phenolic compounds. In addition, an experimental methodology for the measurement of partition coefficients was implemented, using the ARIZONA solvent family, and quercetin as solute, which will be useful for future laboratory work, as partition data of phenolic compounds are scarce.

Finally, thermodynamic modelling proved to be an effective tool to select the solvent system. Particularly, the original UNIFAC model stood out for being applicable to a greater number of solutes when compared to the Dortmund and NIST versions. Abraham's solvation model can also be applied, as long as the molecular descriptors of the solutes are already available or can be estimated from solubility or partition data. The modelling results with the UNIFAC model, original and its variants, and the Abraham solvation model for the partition of 41 solutes are explored and discussed.

Keywords: Partition coefficient, phenolic compounds, extraction

Índice

Lista de símbolos e abreviaturas	v
Lista de símbolos.....	v
Lista de abreviaturas.....	vi
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas	x
Capítulo 1: Introdução	1
1.1. Enquadramento e objetivos	1
1.2. Organização do documento.....	2
1.3. Cromatografia de contracorrente e de partição centrífuga.....	2
1.4. Sistemas bifásicos líquidos.....	3
1.5. Coeficientes de partição de compostos fenólicos.....	10
1.6. Modelos termodinâmicos	13
1.6.1. Modelo UNIFAC.....	13
1.6.1.1. Versão original.....	13
1.6.1.2. Versão de Dortmund	15
1.6.1.3. Versão de NIST.....	16
1.6.2. Modelo de solvatação de Abraham	16
1.6.3. Modelo COSMO-RS	18
Capítulo 2: Medição experimental dos coeficientes de partição	19
2.1. Introdução.....	19
2.2. Materiais.....	19
2.3. Método experimental.....	20
2.4. Resultados experimentais.....	22
Capítulo 3: Modelação termodinâmica.....	24
3.1. Metodologia	24
3.1.1. Modelo UNIFAC.....	25
3.1.2. Modelo de solvatação de Abraham	27
3.2. Resultados	28

3.2.1. Modelo UNIFAC.....	28
3.2.2. Modelo de solvatação de Abraham	32
3.2.3. Análise geral.....	33
Capítulo 4: Conclusões e trabalho futuro.....	37
Referências.....	39
Anexo A.....	42

Lista de símbolos e abreviaturas

Lista de símbolos

A	Parâmetro de acidez da ligação de hidrogénio do modelo de solvatação de Abraham.
a_{mn}	Parâmetro binário de interação entre os grupos m e n .
A_{wk}	Área superficial de van der Waals.
B	Parâmetro de basicidade da ligação de hidrogénio do modelo de solvatação de Abraham.
E	Refratividade molar em excesso.
i	Componente.
$K_i^{\alpha\beta}$	Coefficiente de partição do soluto entre as fases superior e inferior com base nas frações molares.
P	Coefficiente de partição.
$P_i^{\alpha\beta}$	Coefficiente de partição do soluto entre as fases superior e inferior com base nas concentrações molares.
q_i	Área superficial do componente i .
Q_k	Área superficial do grupo k .
r_i	Volume do componente i .
R_k	Parâmetros de volume do grupo k .
S	Parâmetro relativo às interações do tipo dipolo.
T	Temperatura absoluta (K).
U_{mn}	Parâmetro relativo à energia de interação entre os grupos m e n .
u_{mn}	Parâmetro binário de interação de grupo para o modelo UNIFAC NIST.
V	Volume característico de McGowan do soluto.
v_k^i	Números de grupos do tipo k presentes no componente i .
V_{wk}	Volume de van der Waals.
v^α	Volume molar da fase superior.
v^β	Volume molar da fase inferior.

x_i	Fração molar do componente i .
X_m	Fração molar do grupo m na mistura.
z	Número de coordenação do sistema.
α	Fase superior.
β	Fase inferior.
γ_i	Coefficiente de atividade.
$\gamma_i^{\infty\alpha}$	Coefficiente de atividade do soluto i a diluição infinita na fase superior.
$\gamma_i^{\infty\beta}$	Coefficiente de atividade do soluto i a diluição infinita na fase inferior.
Γ^i	Coefficiente residual do grupo k .
Γ_k^i	Coefficiente residual do grupo k numa solução conhecida contendo apenas moléculas do grupo i .
θ_i	Fração da área do componente i .
Θ_m	Fração da área do grupo m .
ϕ_i	Fração do volume.
ψ_{mn}	Parâmetro de interação do grupo.

Lista de abreviaturas

AC	Coefficiente de atividade.
ARIZONA	Heptano-acetato de etilo-metanol-água.
CCC	Cromatografia de contracorrente.
ChMWat	Clorofórmio-metanol-água.
CLA	Cloreto de colina-ácido levulínico.
COSMO-RS	<i>COnductor-like Screening MOdel for Real Solvents.</i>
CPC	Cromatografia de partição centrífuga.
CPE	Capacidade calorífica em excesso.
DDBSP	<i>Dortmund Data Bank Software & Separation Technology GmbH.</i>
EBuWat	Acetato de etilo-butanol-água.
ELL	Equilíbrio líquido-líquido.

ESL	Equilíbrio sólido-líquido.
ELV	Equilíbrio líquido-vapor.
G.U.E.S.S.	<i>Generally Useful Estimation of Solvent Systems.</i>
HE	Entalpia em excesso.
HEMWat	Hexano-acetato de etilo-metanol-água.
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography.</i>
KF	Karl-Fischer.
LSERs	Relações lineares de energia de solvatação.
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology.</i>
RMSE	<i>Root mean square error.</i>
UHPLC	<i>Ultra-High-Performance Liquid Chromatography.</i>
UNIFAC	<i>UNIversal Functional Activity Coefficient group-contribution method.</i>
UV-VIS	Radiação ultravioleta-visível.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura química da quercetina (A) e da rutina glicosilada (B).....	4
Figura 2. Fração de artigos publicados sobre separações de produtos naturais usando cromatografia de contracorrente, em função das famílias de compostos estudados [3].	5
Figura 3. Composição das fases em equilíbrio em diversos sistemas ARIZONA [14,15].	7
Figura 4. Equipamento de agitação e controlo de temperatura, e tubos de vidro graduados utilizados nos ensaios de partição.	21
Figura 5. Curva de calibração da quercetina em etanol puro e em etanol:água (m/m % 50:50). 21	
Figura 6. Fluxograma do processo experimental.	22
Figura 7. Coeficiente de partição da quercetina em função da quantidade de água na fase aquosa (%v/v): ○ este trabalho; — reta obtida por Lu et al. [24], válida entre os sistemas L e Q do ARIZONA (--- extrapolação); ◆ dado obtido por Marlot et al. [26].	23
Figura 8. Coeficientes de partição experimentais e previstos pelo modelo UNIFAC em diversos sistemas ARIZONA e do sistema água-acetato de etilo-butanol: previsão pelo método UNIFAC (—○—) e comparação com os dados experimentais; Δ (Lu et al. 2009); * (Hopmann et al. 2011); ◇ (Ren et al. 2013); □ (Marlot 2019).	30
Figura 9. Coeficientes de partição previstos pelos modelos termodinâmicos nos sistemas água-butanol e alguns sistemas do ARIZONA: ● UNIFAC original, ● UNIFAC modificado por Dortmund, ● UNIFAC modificado por NIST, ● Modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot et al. [1] e ● Modelo de Abraham com os parâmetros de Acree e Abraham [42]. As linhas a tracejado apresenta desvios de log P de 0,5.	35
Figura A 1. Estrutura dos solutos utilizados.	49
Figura A 2. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot <i>et al.</i> [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos compostos G.U.E.S.S.. As linhas a tracejado representam ±0,5 do valor de Log (P).	51
Figura A 3. Comparação Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com	

os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **Alquilbenzenos**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$ 52

Figura A 4. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **outros compostos fenólicos**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$ e os círculos, os dados para a validação. 53

Figura A 5. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **HAP**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$ 54

Figura A 6. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **Benzenos substituídos**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$ 55

Figura A 7. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **Outros**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$ e os círculos, os dados para a validação..... 56

Lista de Tabelas

Tabela 1. Proporções relativas em volume de solventes da família HEMWat [6].	6
Tabela 2. Proporções relativas em volume de solventes contendo água-acetato de etilo-butanol e com os solventes da família ARIZONA [13].	7
Tabela 3. Proporções relativas em volume de solventes da família ChMWat [17].	8
Tabela 4. Proporções relativas em volume de solventes da família EBUWat [11].	8
Tabela 5. Coeficientes de partição de diversos solutos no sistema de solventes ARIZONA.	11
Tabela 6. Comparação entre os Log(P) experimentais obtidos por diversos autores, para o sistema bifásico N (ARIZONA).	12
Tabela 7. Pureza em massa (%) e fornecedor dos compostos orgânicos usados neste trabalho..	20
Tabela 8. Coeficiente de partição da quercetina nos sistemas do ARIZONA.	23
Tabela 9. Solutos incluídos nos estudos de modelação deste trabalho, organizados por famílias.	25
Tabela 10. Descritores dos sistemas de solventes estudados neste trabalho e propostos por Marlot et al. [1].	27
Tabela 11. Erro médio absoluto (E.M. abs.) em log P obtido por aplicação das três versões do modelo UNIFAC, e número de componentes (NC) analisados para cada sistema de solvente e família do soluto.	31
Tabela 12. Erro médio absoluto (E.M. abs.) em log P obtido por aplicação do modelo de solvatação de Abraham e número de componentes (NC) analisados para cada sistema de solvente e família do soluto.....	32
Tabela 13. Média do E.M. abs. dos modelos termodinâmicos estudados neste trabalho.	34
Tabela A 1. Composição em fração molar da fase superior e inferior dos sistemas da família HEMWat a 22 °C [9].....	42
Tabela A 2. Volumes molares da família HEMWat a 22 °C [10].....	42
Tabela A 3. Composição em fração molar da fase superior e inferior dos sistemas da família ARIZONA a 22 °C [13].	43
Tabela A 4. Volumes molares da família ARIZONA a 22 °C [13].	44
Tabela A 5. Subdivisão dos grupos do modelo UNIFAC original para os solventes e solutos. ...	45
Tabela A 6. Parâmetros de cada grupo utilizados nos cálculos do modelo UNIFAC original....	46

Tabela A 7. Parâmetros binários de interação de grupo (<i>amn</i>) utilizados nos cálculos do modelo UNIFAC original.	47
Tabela A 8. Descritores moleculares do modelo de solvatação de Abraham dos solutos estudados neste trabalho [1].....	48

Capítulo 1: Introdução

1.1. Enquadramento e objetivos

A Cromatografia por Partição Centrífuga (CPC) é uma tecnologia que pode ser escalonada até nível industrial e permite o fracionamento e a purificação de misturas complexas. O princípio de separação deste equipamento baseia-se na partição de uma amostra entre duas fases líquidas de uma mistura de solventes, apresentando algumas vantagens sobre os métodos de separação sólido-líquido mais tradicionais: a possibilidade de purificação de extratos complexos numa única etapa, ausência de adsorção irreversível em matrizes sólidas, recuperação total da amostra injetada, baixo risco de desnaturação da amostra e baixo consumo de solventes.

A tarefa mais importante e demorada para operar o CPC é a seleção do sistema bifásico de solventes ótimo. Assim, é necessária uma triagem preliminar da mistura de solventes que permita uma taxa de distribuição adequada dos solutos alvo. Isso pode ser obtido experimentalmente e, devido à ampla gama de possíveis sistemas de solventes, também é aconselhável complementar esses estudos experimentais com as previsões de modelos termodinâmicos, como o método de contribuição de grupos UNIFAC (*UNIversal Functional Activity Coefficients*) e suas modificações ou o modelo de solvatação de Abraham.

Neste trabalho, pretende-se estudar os coeficientes de partição de moléculas representativas de algumas famílias importantes de compostos fenólicos que podem ser encontrados em misturas de produtos naturais (flavonoides, ácidos fenólicos, entre outras). Essa informação é essencial para

o projeto de processos de fracionamento de extratos de plantas usando métodos de extração líquido-líquido. Assim, os principais objetivos deste trabalho são:

- Revisão da literatura sobre dados experimentais de coeficientes de partição de compostos fenólicos.
- Implementação de um método experimental de medição de coeficientes de partição.
- Modelação termodinâmica dos dados experimentais utilizando o modelo UNIFAC e suas variantes, bem como o modelo de solvatação de Abraham.

1.2. Organização do documento

O Capítulo 1 apresenta uma pequena introdução sobre a cromatografia líquido-líquido com duas fases imiscíveis dando foco, principalmente, à cromatografia de partição centrífuga. Apresenta-se também uma revisão sobre dados experimentais de coeficientes de partição de compostos fenólicos encontrados em matrizes naturais, aplicando o sistema de solventes ARIZONA, bem como uma pequena introdução sobre modelos termodinâmicos com grande potencial de aplicação nesta área tais como, por exemplo, o modelo UNIFAC original e suas variantes e/ou o modelo de solvatação de Abraham.

Em seguida, descreve-se a medição experimental dos coeficientes de partição no Capítulo 2, incluindo os materiais, métodos e resultados. No Capítulo 3, apresentam-se os resultados da modelação termodinâmica utilizando os modelos UNIFAC e de solvatação de Abraham, para diversos solutos divididos em seis famílias de compostos. Finalmente, no Capítulo 4, apresentam-se as conclusões e sugestões para futuro trabalho.

1.3. Cromatografia de contracorrente e de partição centrífuga

Segundo Marlot *et al.* [1], mais de 80% da utilização da cromatografia líquido-líquido de contracorrente é destinada a processos de separação e purificação envolvendo extratos de matrizes naturais, que normalmente são misturas multi-componente bastante complexas. Uma das principais aplicações consiste no isolamento e identificação de componentes em matrizes vegetais como, por exemplo, fitoquímicos em vinho, chás e frutas, ou contaminantes e toxinas em arroz e milho [2–4].

A cromatografia de contracorrente (CCC) é uma técnica hidrodinâmica em que o princípio de separação se baseia na partição de um soluto entre duas fases líquidas, e imiscíveis, de uma mistura de solventes. Para ajudar no processo de separação, o equipamento muda a intensidade e direção do campo centrífugo, através de duas rotações diferentes, criando zonas de mistura quando esta força é mais baixa e zonas de sedimentação quando a força é mais alta [2].

Já a cromatografia de partição centrífuga (CPC) é um procedimento hidrostático que tem o mesmo princípio de separação da CCC. Nela, o campo gravitacional é mantido constante através de uma única rotação e as zonas de mistura e de sedimentação ocorrem dentro das células operando com taxas de fluxo e contrapressão mais altas que a CCC [5,6].

A eluição no método CPC é realizada de forma isocrática podendo ser de modo ascendente ou descendente. Quando a fase móvel é composta por solventes mais leves e, em geral, menos polares, é chamada de ascendente ou normal, quando ocorre o oposto é chamada de descendente ou reversa. No entanto, há exceções quando se usam solventes com densidade mais alta que a água como, por exemplo, o clorofórmio ou o diclorometano [7].

A determinação do sistema de solventes é a principal etapa para operação da cromatografia de partição centrífuga, pois é fundamental que a separação forneça uma taxa de distribuição adequada do soluto escolhido e que o sistema contenha duas fases imiscíveis, normalmente uma fase aquosa e outra orgânica. Os principais parâmetros para escolher a família de solventes bifásicos são: (i) ser versátil para ser aplicável a uma grande quantidade de compostos presentes em produtos naturais; (ii) ser aplicável a mistura de composições desconhecidas, ou conhecidas; (iii) fornecer volumes semelhantes da fase superior e inferior facilitando a escolha da fase móvel e diminuindo o desperdício de solvente; (iv) ter tempo reduzido de estabilização do equilíbrio líquido-líquido, cerca de 30 segundos; e, (v) os solutos a separar deverão possuir coeficiente de partição entre 0,4 e 2,5 [4,8]. Adicionalmente, os solventes deverão ter de preferência um custo reduzido, origem sustentável e baixa toxicidade.

1.4. Sistemas bifásicos líquidos

A questão fundamental a responder neste tópico é a de como escolher o sistema bifásico mais adequado para um dado problema de separação. A seleção é feita, principalmente, com base

em dados da literatura sobre separações semelhantes ou em procedimentos morosos de triagem experimental [5].

Alternativamente, Hopmann *et al.* [9] propuseram a aplicação de um método completamente preditivo, utilizando o modelo COSMO-RS (*C*onductor-like *S*creening *M*odel for *R*eal *S*olvents) para avaliar propriedades relevantes para a seleção de um sistema bifásico líquido, tais como a solubilidade e o coeficiente de partição de um dado soluto. Similarmente, Frey [10] utilizou o método de contribuição de grupos UNIFAC, um método também preditivo, para avaliar as mesmas propriedades. Este método baseia-se em parâmetros de interação entre grupos, admitindo que o soluto não altera a composição da mistura solvente, estando a diluição infinita. Marlot *et al.* [1] aplicaram ainda um método semi-empírico, o modelo de solvatação de Abraham, comprovando a sua eficiência na seleção do sistema bifásico utilizando 41 solutos, divididos entre 6 grupos de acordo com as suas famílias químicas.

Neste trabalho, pretende-se estudar a separação de compostos fenólicos presentes em matrizes naturais, em particular flavonoides e ácidos fenólicos. É possível encontrar algumas revisões recentes na literatura que incluem estes compostos. Em 2008, Costa e Leitão [2], fizeram um estudo mais detalhado e específico sobre estratégias de seleção de solventes para o isolamento de flavonoides livres ou glicosados. A título de exemplo, apresenta-se na Figura 1 a estrutura química da quercetina (forma livre) e da rutina (forma glicosilada).

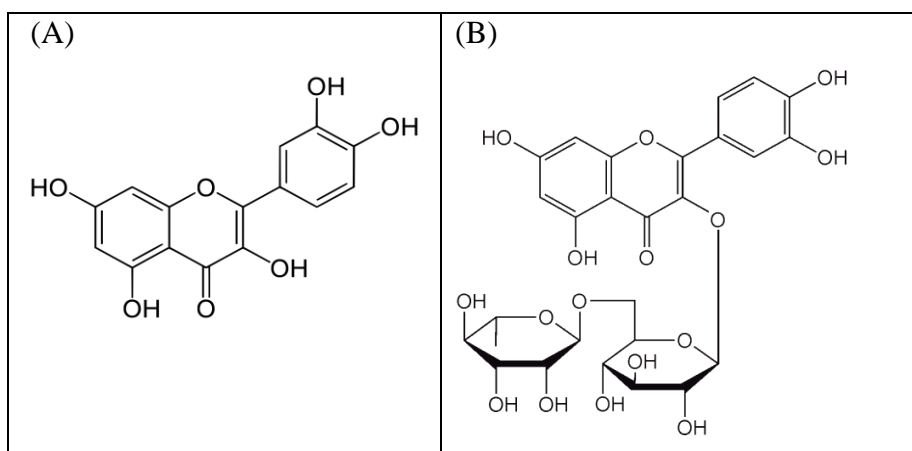


Figura 1. Estrutura química da quercetina (A) e da rutina glicosilada (B).

Concluiu-se que em mais de 60% dos artigos sobre isolamento de flavonoides livres, utilizaram-se as famílias HEMWat e ARIZONA (heptano + acetato de etilo + metanol + água) [2]. No entanto, por serem mais polares, os flavonoides glicosilados não são bem separados com estas

misturas de solventes devido à sua baixa solubilidade no alcano. Assim, nestes casos, utilizam-se sobretudo os sistemas de solventes ternários mais polares ChMWat (clorofórmio + metanol + água) ou EBUWat (acetato de etilo + 1-butanol + água) que também correspondem a 60% das separações dos flavonoides glicosados [2,11].

Em 2015, Woźniak e Garrard [3] reviram os artigos sobre separação de extratos de produtos naturais utilizando cromatografia de contracorrente, publicados entre 1984 e 2014, tendo sido classificados 2594 sistemas de solventes, dos quais 2322 sistemas de solventes isocráticos. Estes sistemas são organizados em famílias compostas pelos mesmos solventes, mas com proporções diferentes para ajustar a um dado soluto. Os compostos mais usados nos sistemas de solventes isocráticos foram a água, sendo citada em cerca de 96% dos artigos, o acetato de etilo, o metanol e o hexano, todos componentes da família HEMWat. O butanol é também muito utilizado em sistemas polares, bem como o clorofórmio, que não é muito recomendável devido à sua toxicidade a nível ambiental e de saúde humana, tendo de toda a forma sido generalizado o seu uso ao longo dos anos devido à sua eficiência na cromatografia líquido-líquido. Além disso, a classe de produtos naturais dos flavonoides e flavolignanos aparece em 26,8% dos artigos, sendo a classe mais separada pelo processo de CCC, enquanto os ácidos fenólicos e derivados aparecem em 5,5%, tal como apresentado na Figura 2 [3].

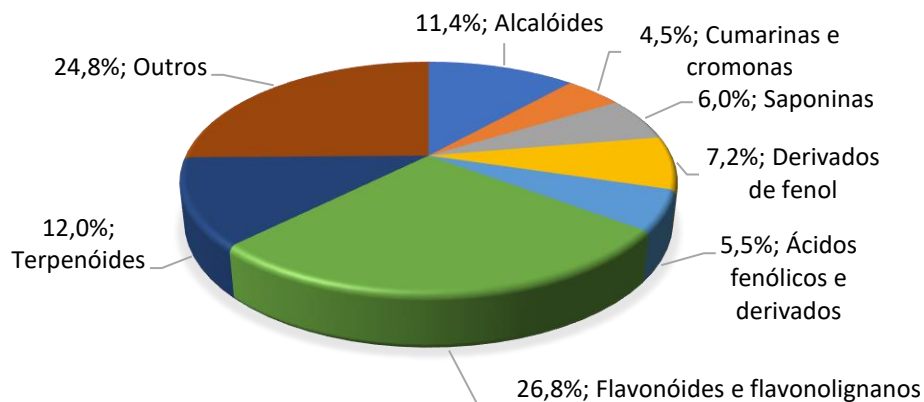



Figura 2. Fração de artigos publicados sobre separações de produtos naturais usando cromatografia de contracorrente, em função das famílias de compostos estudados [3].

Em seguida, apresenta-se informação relevante acerca das famílias de solventes mais utilizadas.

A família de solventes HEMWat, representada na Tabela 1, é composta por dois componentes pouco polares, o n-hexano e o acetato de etilo, e por dois componentes bastante polares, o metanol e a água. Esse sistemas dispõe de 17 combinações destes 4 solventes e está organizada de acordo com a polaridade geral dos sistemas, do menos polar para o mais polar [4]. A fração molar da fase superior e inferior do sistema e os seus volumes molares estão nas Tabelas A1 e A2 no Anexo A.

Tabela 1. Proporções relativas em volume de solventes da família HEMWat [6].

Número	n-Hexano	Acetato de etilo	Metanol	Água	Polaridade
-8	10	0	10	0	Menos polar
-7	9	1	9	1	
-6	8	2	8	2	
-5	7	3	7	3	
-4	7	3	6	4	
-3	6	4	6	4	
-2	7	3	5	5	
-1	6	4	5	5	
0	5	5	5	5	
+1	4	6	5	5	
+2	3	7	5	5	
+3	4	6	4	6	
+4	3	7	4	6	
+5	3	7	3	7	
+6	2	8	2	8	
+7	1	9	1	9	Mais polar
+8	0	10	0	10	



A família de solventes ARIZONA, apresentada na Tabela 2, possui 23 sistemas com composições diferentes e, tal como a família HEMWat, é composta por dois solventes apolares e dois solventes polares. A diferença entre as duas famílias é a troca do n-hexano pelo n-heptano, podendo tornar-se um melhor ponto de partida para a escolha do sistema de solventes na extração dos componentes alvo [12]. As misturas do sistema ARIZONA são normalmente representadas por algumas letras do alfabeto de A a Z. Na tabela apresenta-se adicionalmente cinco misturas contendo água, acetato de etilo e butanol (sistemas 1-5), além das misturas do ARIZONA (6-28), tal como proposto por Garrard *et al.* [13]. A fração molar da fase superior e inferior dessa família de solvente e os volumes molares estão nas Tabelas A3 e A4, no Anexo A.

Tabela 2. Proporções relativas em volume de solventes contendo água-acetato de etilo-butanol e com os solventes da família ARIZONA [13].

Número	Letra	n-Heptano	Acetato de etilo	Metanol	Água	Butanol	Polaridade
1	-	0,00	0,00	0,00	2,00	2,00	Mais polar ↓ Menos polar
2	-	0,00	0,40	0,00	2,00	1,60	
3	-	0,00	0,80	0,00	2,00	1,20	
4	-	0,00	1,20	0,00	2,00	0,80	
5	-	0,00	1,60	0,00	2,00	0,40	
6	A	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	
7	B	0,10	1,90	0,10	1,90	0,00	
8	C	0,20	1,80	0,20	1,80	0,00	
9	D	0,29	1,71	0,29	1,71	0,00	
10	F	0,33	1,67	0,33	1,67	0,00	
11	G	0,40	1,60	0,40	1,60	0,00	
12	H	0,50	1,50	0,50	1,50	0,00	
13	J	0,57	1,43	0,57	1,43	0,00	
14	K	0,67	1,33	0,67	1,33	0,00	
15	L	0,80	1,20	0,80	1,20	0,00	
16	M	0,91	1,09	0,91	1,09	0,00	
17	N	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	
18	P	1,09	0,91	1,09	0,91	0,00	
19	Q	1,20	0,80	1,20	0,80	0,00	
20	R	1,33	0,67	1,33	0,67	0,00	
21	S	1,43	0,57	1,43	0,57	0,00	
22	T	1,50	0,50	1,50	0,50	0,00	
23	U	1,60	0,40	1,60	0,40	0,00	
24	V	1,67	0,33	1,67	0,33	0,00	
25	W	1,71	0,29	1,71	0,29	0,00	
26	X	1,80	0,20	1,80	0,20	0,00	
27	Y	1,90	0,10	1,90	0,10	0,00	
28	Z	2,00	0,00	2,00	0,00	0,00	

Na Figura 3 faz-se a representação visual da composição das duas fases em equilíbrio para um conjunto selecionado de sistemas ARIZONA [14].

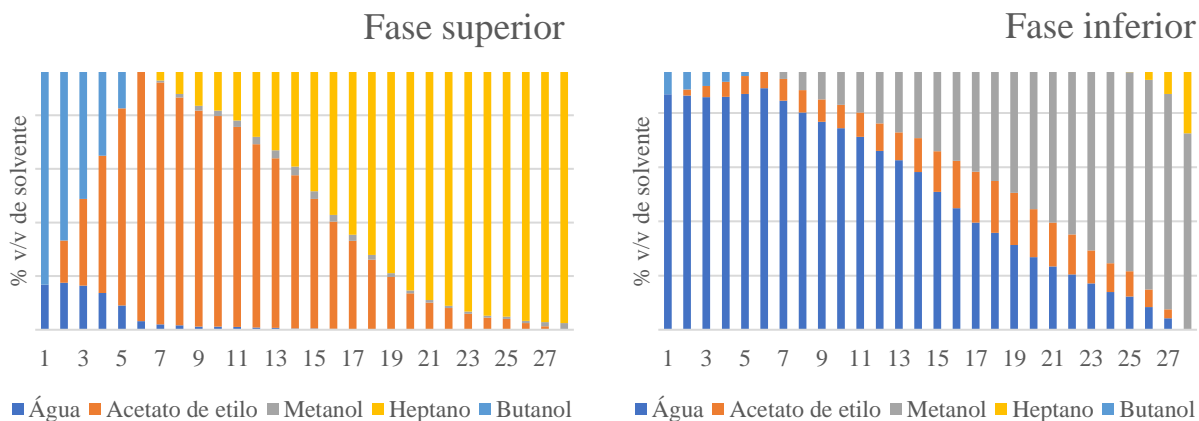



Figura 3. Composição das fases em equilíbrio em diversos sistemas ARIZONA [14,15].


Tal como a família ARIZONA, a família ChMWat, representada na Tabela 3, também é considerada um bom ponto de partida por apresentar maior polaridade, principalmente na separação de amostras com caráter mais hidrofílico. Contudo, sistemas que contêm clorofórmio são considerados mais tóxicos não tendo tanto interesse na área das indústrias alimentar, cosmética ou farmacêutica [12,16].

Tabela 3. Proporções relativas em volume de solventes da família ChMWat [17].

Clorofórmio	Metanol	Água	Relação do volume entre a fase superior e inferior	Polaridade
10	0	10	0,98	Mais polar
10	1	9	1,00	
10	2	8	1,03	
10	3	7	1,06	
10	4	6	1,10	
10	5	5	1,16	
10	6	4	1,37	
10	7	3	2,05	
10	8	2	-	

A família EBUWat, apresentada na Tabela 4, possui 11 combinações e é composta por um solvente orgânico, o acetato de etilo, um modificador orgânico, o n-butanol, e pela água, sendo que o n-butanol se mistura preferencialmente com o acetato de etilo. Os compostos alvos desta família são, principalmente, os que possuem polaridade e hidrofobicidade moderada [2,11].

Tabela 4. Proporções relativas em volume de solventes da família EBUWat [11].

Número	Acetato de etilo	n-Butanol	Água	Relação do volume entre a fase superior e inferior	Polaridade
-5	10	0	10	0,82	Mais polar
-4	9	1	10	0,89	
-3	8	2	10	0,92	
-2	7	3	10	0,92	
-1	6	4	10	1,04	
0	5	5	10	1,04	
+1	4	6	10	1,13	
+2	3	7	10	1,13	
+3	2	8	10	1,22	
+4	1	9	10	1,27	
+5	0	10	10	1,27	

Mais recentemente, têm sido propostos na literatura sistemas bifásicos alternativos com o objetivo de utilizar solventes mais seguros e ecológicos, menos voláteis e menos inflamáveis, de origem sustentável, e com um desempenho semelhante ou superior aos sistemas convencionais.

Por exemplo, Faure *et al.* [18] propuseram modificar o sistema ARIZONA substituindo o heptano por limoneno, e o metanol por etanol, por serem renováveis, e menos agressivos para o meio ambiente, nomeando-o como ARIZONA verde. Após a troca dos solventes, uma das diferenças é a total miscibilidade do limoneno com o etanol, enquanto o heptano e o metanol formam um sistema bifásico no sistema Z, não se tornando aplicáveis a CCC por terem densidades semelhantes, e tempos de sedimentações muito longos. Outra diferença é a polaridade nos sistemas contendo etanol e metanol, o qual é demonstrado de forma clara no sistema N, em que o etanol se distribui melhor entre as fases na presença do limoneno, apresentando 28,6% da sua composição na fase superior e 71,4% na fase inferior, enquanto a mistura contendo metanol e heptano, apresenta apenas 6,1% na fase superior e 93,9% na fase inferior. Desse modo, o etanol demonstrou promover o aumento da polaridade no ARIZONA verde provocando uma separação diferente na CCC quando comparado ao sistema clássico. Além disso, a composição de solventes da família ARIZONA verde implica uma redução na diferença da densidade entre as duas fases líquidas devido ao aumento da quantidade do álcool na fase orgânica, de duas a seis vezes mais, e a redução do limoneno, apresentando uma diferença máxima de $0,09 \text{ g/cm}^3$, enquanto este é o valor mínimo na família com solventes clássicos. Esta redução impede o uso desta modificação do ARIZONA nas colunas hidrodinâmicas da CCC que precisa de uma diferença significativa nas densidades para conseguir manter fixa a fase estacionária [18], não sendo reportada qualquer dificuldade quanto à sua implementação nos equipamentos de CPC nos sistemas de A-W do ARIZONA verde [19].

Em algumas aplicações, em que os solutos são muito pouco solúveis em água, poderá ser necessário utilizar sistemas bifásicos sem água. Bezold *et al.* [20] propuseram o sistema bifásico quaternário composto por heptano + etanol + cloreto de colina + 1,4-butanodiol para a purificação de tocoferóis, uma vez que estes possuem baixa solubilidade em água, utilizando cromatografia de partição centrífuga. Mais tarde, Bezold e Minceva [21] mediram dados de equilíbrio líquido-líquido para sistemas compostos por n-heptano + metanol + solventes eutéticos hidrofóbicos. Estes últimos incluem ácido levulínico e um terpeno (L-mentol, timol ou carvacrol). Estes autores sugerem que este sistema quaternário poderá ser um candidato promissor para utilização em cromatografia de partição centrífuga, dado que se conseguem elevadas solubilidades de compostos hidrofóbicos em ambas as fases.

Para a separação de biomoléculas, como proteínas e ácido nucleicos, Frey [10] referiu que não é possível utilizar solvente orgânicos devido ao risco de desnaturação. Dessa forma, os sistemas aquosos bifásicos (ATPS, na sigla inglesa), obtidos através da mistura de soluções aquosas de dois polímeros, ou de um polímero com um sal, surgem como uma alternativa para esta separação por causa do alto teor de água em ambas as fases, e da baixa tensão interfacial. Porém, apresentou resultados negativos utilizando a cromatografia líquido-líquido em razão da perda na fase estacionária ocasionada pela emulsificação das fases. Apesar disto, estudos ainda estão a ser realizados para reverter essa desvantagem tentando ajustar as propriedades físicas das fases através da variação do peso molecular do polímero ou substituindo o polímero ou o sal, por um líquido iônico [10].

Recentemente, Byrne *et al.* [22] estudaram a possibilidade de substituição de solventes tóxicos ou prejudiciais ao meio ambiente por solventes verdes de acordo com guias de seleção de solventes de algumas empresas farmacêuticas. Com esses guias, foram analisados critérios de pontuação e parâmetros ambientais em relação a saúde ocupacional considerando a sua toxicidade, biodegradabilidade, potencial quanto ao contributo no aquecimento global, entre outros, o qual resultou na redução do uso de solventes indesejáveis. Este tipo de estudos em que se discutem critérios de classificação de solventes do ponto de vista ambiental são de extraordinária importância, fornecendo linhas de orientação para a escolha de novos solventes.

1.5. Coeficientes de partição de compostos fenólicos

No trabalho de Berthod e Mekaoui [23], é discutida a diferença entre a razão de distribuição dos solutos, a constante de distribuição e o coeficiente de partição na cromatografia de contracorrente utilizando a dimerização do ácido benzóico em heptano e sua ionização na fase aquosa. Neste artigo, a razão de distribuição está relacionada com os volumes de retenção dos solutos na CCC que pode ser calculada pela razão da concentração total de um soluto na fase superior e pela concentração total do mesmo na fase inferior, mesmo que o equilíbrio não tenha sido alcançado, e independentemente da sua forma química. O coeficiente de partição, o qual deveria ser denominado como constante de distribuição segundo a IUPAC, está ligado a uma única espécie já definida e é uma medida numérica de um parâmetro, ou de uma propriedade físico-química. Esse termo é calculado como a razão de distribuição, porém sempre em equilíbrio. Os

resultados do trabalho demonstram que a razão de distribuição e o coeficiente de partição do ácido benzóico coincidem apenas quando não existe a dimerização e a ionização do soluto, o qual ocorre apenas quando está em concentrações muito baixas e com pH mais ácido.

Dessa forma, o coeficiente de partição (P) é definido pela concentração do soluto na fase de topo, em mol/L, dividida pela concentração do soluto na fase inferior, após o equilíbrio de fases ser atingido. A gama de valores aconselhável em processos de CCC é entre 0,4 e 2,5. Este coeficiente é independente do volume dos solventes, do caudal, da retenção da fase estacionária e da duração da execução dos ensaios no equipamento [4,6].

Na Tabela 5, apresenta-se a título exemplificativo uma revisão bibliográfica exploratória acerca de dados experimentais de coeficientes de partição de diversos solutos, contendo vários compostos fenólicos, no sistema de solventes ARIZONA, incluindo-se ainda a metodologia experimental utilizada.

Tabela 5. Coeficientes de partição de diversos solutos no sistema de solventes ARIZONA.

Referência	Solutos	Metodologia
Lu <i>et al.</i> 2009 [24]	<i>New coccine red</i> , cafeína, vanilina, cumarina, quercetina, ácido ferúlico, umbelíferona, ácido salicílico, naringenina, carvona, estradiol e β -caroteno.	Método CCC Foi utilizado uma coluna de CCC de 140 mL para analisar a partição de 12 compostos da lista G.U.E.S.S. com a família ARIZONA, aplicando uma eluição de 2 mL/min. As alíquotas foram purificadas e analisadas por cromatografia líquida com análise por UV para determinar a quantidade de composto em cada fração e, conseqüentemente, o coeficiente de partição.
Hopmann <i>et al.</i> 2011 [9]	Estrona, prednisona, acetato de prednisolona, testosterona, álcool benzílico, hidroquinona, fenol, pirocatecol.	Método <i>shake-flask</i> As análises foram realizadas com 5 grupos de solutos alvo (n-alquilbenzenos, esteroides, álcool benzílico, fenóis e componentes do G.U.E.S.S. ^a) para a família ARIZONA a uma temperatura ambiente de 22 ± 2 °C, com volume total de 8 mL em tubos de ensaio e com concentração máxima de 0,02 mol/L do soluto nas fases imiscíveis. Realizou-se também a agitação manual e centrifugação (3 minutos a 1500 rpm). A análise foi feita por HPLC, após diluição das amostras em metanol.
Ren <i>et al.</i> 2013 [25]	Ácido gálico, ácido protocatecuico, aspirina, cumarina, 2-mercaptobenzimidazol, 8-hidroxiquinolina, ácido salicílico, ácido 2,4-clorofenoximetilpropiónico.	Método <i>shake-flask</i> Foram analisados 8 solutos em 19 sistemas do ARIZONA, utilizando HPLC como método analítico.

Tabela 5. (Continuação) Coeficientes de partição de diversos solutos no sistema de solventes ARIZONA.

Referência	Solutos	Metodologia
Marlot 2019 [26]	Caféina, vanilina, umbeliferona, ácido ferúlico, reserpina, ácido salicílico, carvona, estradiol, ionona, triptofano, salicina, ácido clorogénico, aspirina, cumarina, quercetina, naringenina, <i>p</i> -nitrotolueno, metilbenzeno, etilbenzeno, propilbenzeno, butilbenzeno, pentilbenzeno, heptilbenzeno, fenol, <i>m</i> -cresol, <i>o</i> -cresol, iodobenzeno, nitrobenzeno, fluoreno, antraceno, criseno, benzo(a)pireno, álcool benzílico, benzaldeído, acetofenona, propifenona, clorobenzeno, naftaleno, metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bromobenzeno, 2,5-hexanodiona, catecol, siringol, 1-indadona, 2-naftol, trimetilfenol.	Método <i>shake-flask</i> Em frascos de 100 mL colocaram-se os solventes de acordo com a proporção de cada um dos 21 sistemas utilizados formando duas fases bifásicas. Em seguida, diluiu-se 2 mg de cada um dos 49 solutos usados em 2 mL de cada fase do sistema, agitou-se e colocou-se num banho de ultrassons. Após 30 minutos, a fase superior e inferior foram separadas e transferidas para análise de 5 amostras diluídas com metanol no UHPLC.

^a G.U.E.S.S. (*Generally Useful Estimation of Solvent Systems*) é uma mistura de diversos componentes [11].

Conforme apresentado na Tabela 5, todos os dados experimentais foram obtidos através do método *shake flask*, com exceção de Lu *et al.* [24] no qual é aplicado a CCC. Nos estudos de Hopmann *et al.* [9] e Marlot [33], as amostras sofreram agitação manual e, ainda, em Hopmann *et al.* [9] foi preciso colocá-las na centrífuga para obter uma melhor separação das fases imiscíveis. Além disso, em todos os estudos, os coeficientes de partição foram determinados a uma temperatura entre 22-25 °C, utilizando como técnica analítica, HPLC. Para comparação dos dados, escolheu-se o sistema N (1:1:1:1) do ARIZONA como sistema comum.

Tabela 6. Comparação entre os Log(*P*) experimentais obtidos por diversos autores, para o sistema bifásico N (ARIZONA).

Soluto	Lu <i>et al.</i> [24] ^a	Hopmann <i>et al.</i> 2011 [9] ^b	Ren <i>et al.</i> 2013 [25] ^b	Marlot 2019 [26]
Caféina	-1,07	-1,07	-	-1,21
Vanilina	-0,45	-	-	-0,47
Umbeliferona	-0,67	-0,67	-	-0,66
Ácido ferúlico	-0,91	-	-	-0,90
Ácido salicílico	0,20	-	-	0,02
Carvona	0,48	0,47	-	0,69
Estradiol	0,02	0,03	-	0
Aspirina	-	-	-0,38	-0,52
Cumarina	-0,10	-	0,06	-0,02
Quercetina	-0,84	-	-	-0,93
Naringenina	-0,43	-0,44	-	-0,37
Fenol	-	0,09	-	0,16
Álcool Benzílico	-	-0,25	-	-0,20
Pirocatecol	-	-0,49	-	-0,48

^a Dados interpolados.

^b Dados obtidos por leitura gráfica, através do Software Engauge Digitizer.

Para o sistema N, os dados experimentais são razoavelmente consistentes entre os diversos autores, sendo que apresentam valores absolutos moderados de $\log P (\leq 1,21)$. No entanto, a quantidade de informação experimental disponível é relativamente reduzida, sendo os ensaios demorados. Por estas razões, é essencial dispor de modelos termodinâmicos robustos com capacidade de prever este tipo de equilíbrio de fases.

1.6. Modelos termodinâmicos

1.6.1. Modelo UNIFAC

1.6.1.1. Versão original

O modelo UNIFAC é um método simples para calcular os coeficientes de atividade e as composições de misturas binárias e multi-componente da fase líquida, na gama de temperatura de 275 a 400 K, em diferentes equilíbrios de fases [27]. Neste modelo, o coeficiente de atividade, γ_i , é calculado através da soma de dois termos, combinatório e residual, conforme apresentado na Equação 1.

$$\ln\gamma_i = \ln\gamma_i^{\text{combinatório}} + \ln\gamma_i^{\text{residual}} \quad (1)$$

O termo combinatório é função de parâmetros das espécies puras, i , que consideram o tamanho e a forma moleculares.

$$\ln\gamma_i^{\text{combinatório}} = \ln \frac{\phi_i}{x_i} + \frac{z}{2} \times q_i \times \ln \frac{\theta_i}{\phi_i} + l_i - \frac{\phi_i}{x_i} \times \sum_i x_i \times l_i \quad (2)$$

Os parâmetros incluem a fração de área, θ_i , a fração de volume, ϕ_i , e as contribuições em relação aos parâmetros de volume, r_i , e a área superficial, q_i , do componente puro, sendo ainda x_i a fração molar da espécie i . Além disso, z corresponde ao número de coordenação do sistema.

$$\theta_i = \frac{q_i \times x_i}{\sum_j q_j \times x_j} \quad (3)$$

$$\phi_i = \frac{r_i \times x_i}{\sum_j r_j \times x_j} \quad (4)$$

$$l_i = \frac{z}{2} \times (r_i - q_i) - (r_i - 1); \quad z = 10 \quad (5)$$

As contribuições do componente puro em relação aos parâmetros de volume e a área de superfície são obtidas através dos parâmetros de volume, R_k , e área de superfície, Q_k , conforme representado nas Equações 6 e 7, onde v^i_k corresponde ao número de grupos do tipo k presentes na molécula i .

$$r_i = \sum_k v^i_k \times R_k \quad (6)$$

$$q_i = \sum_k v^i_k \times Q_k \quad (7)$$

De acordo com Bondi (1968), os parâmetros R_k e Q_k são obtidos através dos parâmetros de van der Waals relacionando o volume e a área superficial, V_{wk} e A_{wk} .

$$R_k = \frac{V_{wk}}{15,17} \quad (8)$$

$$Q_k = \frac{A_{wk}}{25 \times 10^9} \quad (9)$$

O termo residual possui parâmetros binários de interação para cada par de grupos funcionais e considera as interações moleculares onde Γ^i é o coeficiente residual do grupo k , Γ^i_k é o coeficiente residual do grupo k em uma solução conhecida contendo apenas moléculas do tipo i .

$$\ln \gamma_i^{residual} = \sum_k v^i_k \times [\ln \Gamma^i - \ln \Gamma^i_k] \quad (10)$$

O coeficiente residual do grupo pode ser calculado relacionando a fração da área do grupo m , Θ_m , e o parâmetro de interação do grupo, ψ_{mn} .

$$\ln \Gamma_k = Q_k \times \left[1 - \ln \left(\sum_m \Theta_m \times \Psi_{km} \right) - \sum_m \left(\frac{\Theta_m \times \Psi_{km}}{\sum_n \Theta_n \times \Psi_{nm}} \right) \right] \quad (11)$$

$$\Theta_m = \frac{Q_m \times X_m}{\sum_n Q_n \times X_n} \quad (12)$$

$$\psi_{mn} = \exp\left(-\frac{a_{mn}}{T}\right) \quad (13)$$

Em que X_m é a fração molar do grupo m na mistura, u_{mn} é uma medida da energia de interação entre os grupos m e n , e T é a temperatura absoluta. Os parâmetros a_{mn} e a_{nm} são avaliados a partir de dados experimentais de equilíbrio de fases e são diferentes entre si.

1.6.1.2. Versão de Dortmund

O modelo UNIFAC modificado por Dortmund apresenta uma revisão nos parâmetros de interação de grupos do modelo UNIFAC original, entre outras alterações. Neste modelo, o termo combinatório é diferente, os seus parâmetros de interação de grupo, ψ_{mn} , são dependentes da temperatura e as propriedades de van der Waals foram modificadas, o que melhorou a confiabilidade nas previsões do equilíbrio líquido-vapor [28]. Em relação ao modelo original, o cálculo do coeficiente de atividade a diluição infinita melhorou em 73%, o cálculo de equilíbrio de fases e misturas binárias em 23% e o cálculo da entalpia em excesso em 70% [29].

No termo combinatório do modelo modificado, o parâmetro que corresponde ao termo da fração do volume, ϕ_i , é calculado de forma diferente como demonstrado na Equação 14.

$$\phi_i = \frac{r_i^{\frac{3}{4}} \times x_i}{\sum_j r_j^{\frac{3}{4}} \times x_j} \quad (14)$$

No termo residual o parâmetro de interação do grupo, ψ_{mn} , é agora dependente da temperatura, sendo calculado de acordo com a Equação 15.

$$\psi_{mn} = \exp\left(-\frac{a_{mn} + b_{mn} \times T + c_{mn} \times T^2}{T}\right) \quad (15)$$

1.6.1.3. Versão de NIST

Através das formulações realizadas por Jakob *et al.* [30] e Kang *et al.* [31], o modelo modificado por NIST (*National Institute of Standards and Technology*) distingue-se por possuir grupos e subgrupos do modelo UNIFAC mais bem definidos, além de também ter algumas alterações nas equações.

Na equação do termo combinatório, o parâmetro que se refere à fração de volume, ϕ_i , é calculado de acordo com o modelo UNIFAC modificado por Dortmund como é descrito na Equação 14. Além disso, para melhorar a dependência da temperatura no equilíbrio vapor-líquido e estimar entalpias em excesso, os parâmetros de interação dos grupos m e n deste modelo possuem 3 termos dependentes da temperatura, em que o termo Δu_{mn} corresponde ao a_{mn} no modelo original do UNIFAC [30,31].

$$\Delta u_{mn} = a_{mn,1} + a_{mn,2}T + a_{mn,3}T^2 \quad (16)$$

Para o ajuste de parâmetros, utilizaram-se dados de equilíbrio líquido-vapor (ELV), líquido-líquido (ELL), sólido-líquido (ESL), coeficientes de atividade (AC), entalpia em excesso (H^E) e capacidade calorífica em excesso (C_P^E).

Em geral, as diferentes versões do modelo UNIFAC não são capazes de descrever com igual rigor os diversos tipos de equilíbrio de fases (ELV, ESL e ELL) utilizando o mesmo conjunto de parâmetros. Normalmente, em primeiro lugar, os parâmetros de interação de grupo são determinados para cada classe de componentes. Depois, analisam-se e ajustam-se os parâmetros algumas vezes, utilizando todos os tipos de dados de equilíbrio para assim obter resultados mais precisos [32].

1.6.2. Modelo de solvatação de Abraham

O modelo de solvatação de Abraham permite estimar o coeficiente de partição de um soluto neutro em diversos sistemas bifásicos [32-34]. Este modelo foi já aplicado recentemente na previsão de dados de partição em sistemas de solventes usados comumente em cromatografia CCC ou CPC [1].

A estrutura de relações lineares de energia de solvatação (LSERs) relaciona as propriedades do soluto e do solvente com as forças de interações existentes em solução. Os descritores dos solutos usados neste método são E , S , A , B e V : E é a refratividade molar em excesso, S representa as interações do tipo dipolo, A e B referem-se à acidez e à basicidade, respetivamente, da ligação de hidrogénio e V é o volume característico de McGowan do soluto. Esta abordagem para solutos neutros pode ser descrita pela Equação 17:

$$\log(P) = c + eE + sS + aA + bB + vV \quad (17)$$

Em que P corresponde ao coeficiente de partição, e as letras minúsculas c , e , s , a , b e v representam propriedades da fase condensada que se encontram já disponíveis para um grande número de sistemas bifásicos de solventes. Os parâmetros deste modelo são, em geral, determinados por uma regressão multi-linear usando *software* adequado, minimizando o valor do desvio médio (*RMSE*) de acordo com a Equação 18:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum [\log(P_{calculado}) - \log(P_{experimental})]^2}{n}} \quad (18)$$

sendo n o número de determinações experimentais.

Também pode ser feito um diagrama, que relaciona os cinco coeficientes, para realizar a comparação dos sistemas analisando as semelhanças e diferenças das cromatografias de contracorrente e de partição centrífuga dentre a distância dos pontos. O ponto é representado através do comprimento u do vetor de solvatação calculado através da Equação 19 [1].

$$u = \sqrt{e^2 + s^2 + a^2 + b^2 + v^2} \quad (19)$$

Marlot *et al.* [1] aplicaram já este modelo a 21 sistemas bifásicos, concluindo que embora não seja capaz de prever a partição em todos os sistemas estudados, é possível obter algumas indicações sobre quais os sistemas mais adequados a testar experimentalmente, contribuindo assim para a seleção de sistemas de solventes de maneira mais rápida para a cromatografia líquida.

1.6.3. Modelo COSMO-RS

O modelo COSMO-RS (*Conductor like Screening Model for Real Solvents*), é um modelo baseado na química quântica que prevê o potencial químico de todos os componentes numa mistura líquida apenas por meio de cálculos *ab initio* dos compostos puros. Para isso, o COSMO-RS divide a superfície sigma de cada molécula em segmentos de área específicos e, a seguir, considera as interações entre os segmentos de cada molécula na mistura líquida para estimar o potencial químico de um composto numa mistura. Uma vez que o coeficiente de atividade é calculado a partir do potencial químico, este modelo pode ser usado para estimar a partição entre 2 fases líquidas de um soluto infinitamente diluído [36,37]. Este modelo foi também aplicado na previsão dos coeficientes de partição de diversos compostos fenólicos, nos sistemas bifásicos ARIZONA e HEMWat [5,10,20,38].

Capítulo 2: Medição experimental dos coeficientes de partição

2.1. Introdução

Um dos objetivos deste trabalho é a implementação e validação de uma metodologia experimental para determinação dos coeficientes de partição de componentes fenólicos presentes em produtos naturais, utilizando os recursos disponíveis no laboratório. Os sistemas escolhidos para validação destes ensaios incluem a quercetina como soluto, e as misturas bifásicas de solventes J, L e N da família ARIZONA (heptano + acetato de etilo + metanol + água), para os quais existem coeficientes de partição disponíveis na literatura.

2.2. Materiais

Para a preparação das soluções aquosas utilizou-se água ultrapura com resistividade de 1,8 M Ω .cm, partículas livres $\leq 0,22 \mu\text{m}$ e carbono total $< 5 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. A quercetina foi mantida num exsiccador para evitar a contaminação de água. O teor de água da quercetina foi avaliado por titulação usando um método de Karl-Fischer (modelo 831 KF Coulometer da marca Metrohm), apresentando 4,02% (m/m) de água na sua composição. Todos os compostos foram utilizados como recebidos dos fornecedores, conforme dados apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Pureza em massa (%) e fornecedor dos compostos orgânicos usados neste trabalho.

Componente	Pureza em massa (%)*	Fornecedor
Quercetina	≥ 95	Sigma
Metanol	≥ 99,8	Honeywell
Etanol	≥ 99,9	Carlo Erba
Acetato de etilo	≥ 99,9	Carlo Erba
Heptano	≥ 99	Riedel-deHaen

*A pureza foi obtida no certificado de análise emitido pelo fabricante.

2.3. Método experimental

O método experimental aplicado neste trabalho teve em consideração, sempre que possível, as linhas de orientação descritas no relatório “*OECD Guideline for the Testing of Chemicals - Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method*” de 1995 [39]. Este método baseia-se na obtenção de um equilíbrio estático, como o do CPC, cuja fase estacionária é mantida em repouso pela força hidrostática enquanto o soluto é eluído pela fase móvel de acordo com a afinidade do seu coeficiente de partição com cada fase imiscível. Porém, antes de medir a concentração de cada fase, o sistema passa por uma agitação para que o sistema se equilibre [4,7]. Em particular, estabeleceu-se uma concentração mínima da substância em estudo em cada fase, adequada ao método analítico disponível, procurando não ultrapassar uma concentração máxima em cada fase de 0,01 mol/L. Assim, em primeiro lugar, transferiu-se um volume total de 14 mL de um dado sistema de solventes para tubos de centrífuga de vidro graduados. Nos ensaios de partição da quercetina, esta foi introduzida no sistema bifásico dissolvida em metanol, de forma a apresentar uma concentração máxima de 0,01 mol/L em qualquer uma das fases. Em seguida, os tubos foram agitados de forma manual, invertendo-os 180 graus, suavemente, durante 5 minutos, e colocados por 24 horas num equipamento com agitação de 300 rpm à temperatura de 25 °C (modelo ThermoMixer C da marca Eppendorf), apresentado na Figura 4. Ao alcançar o equilíbrio, os tubos foram centrifugados (centrífuga 5810R da marca Eppendorf) por 20 minutos a 1500 rpm, e depois repousaram por 1 hora no Thermomixer [4,10] a 25 °C. Esta última etapa é necessária porque a centrífuga opera à temperatura ambiente.

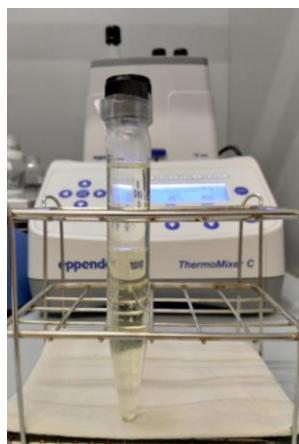


Figura 4. Equipamento de agitação e controlo de temperatura, e tubos de vidro graduados utilizados nos ensaios de partição.

Depois da separação das fases, retiraram-se, cuidadosamente para não haver contaminação das fases, amostras em duplicado da fase orgânica e da fase aquosa para análise, registando-se ainda o volume de cada uma das fases. Neste caso, as amostras são diluídas num solvente misto etanol:água (50:50, % m/m) ou etanol puro, no caso das fases orgânicas, e analisadas por espectrometria UV-Vis (modelo V-730 da marca Jasco). No caso da quercetina, seleccionou-se o comprimento de onda de 374 nm. Obteve-se a curva de calibração em etanol:água (50:50, % m/m) e em etanol puro representadas na Figura 5, que permitem verificar que neste caso o solvente (etanol ou água) não interfere na quantificação do soluto.

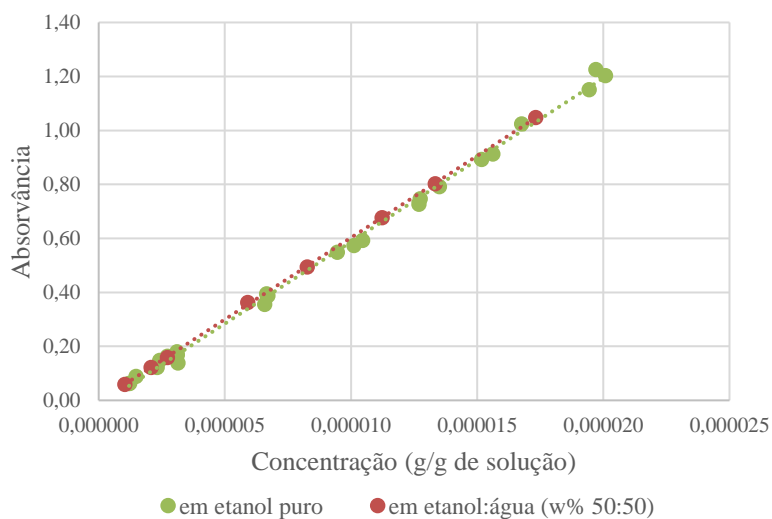


Figura 5. Curva de calibração da quercetina em etanol puro e em etanol:água (m/m % 50:50).

Na Figura 6 é representado a metodologia para medição dos coeficientes de partição.

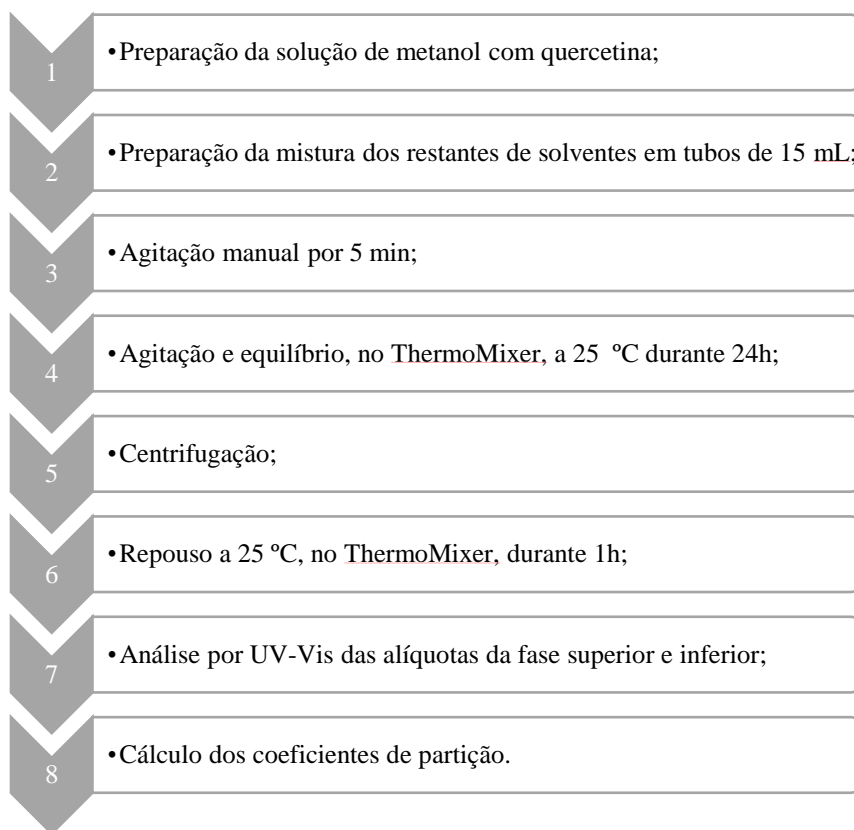


Figura 6. Fluxograma do processo experimental.

2.4. Resultados experimentais

Apresentam-se, na Tabela 8, os coeficientes de partição (P) da quercetina, medido a 25 °C, em alguns sistemas de solventes da família ARIZONA. Nestes ensaios preliminares, foram colocadas diferentes massas de soluto com o objetivo de analisar a sua influência no coeficiente de partição. Como se pode verificar, os resultados concordam de forma satisfatória entre si. Será relevante levar a cabo um estudo mais detalhado sobre a variação do coeficiente de partição com a concentração de quercetina de forma a ser possível aferir das condições de diluição infinita em que se obterá um valor de coeficiente partição constante.

Tabela 8. Coeficiente de partição da quercetina nos sistemas do ARIZONA.

Sistemas	Massa de quercetina no sistema (g)	P	Log (P)
J	0,0051	$21,32 \pm 0,06$	1,33
	0,0121	$19,90 \pm 2,77$	1,30
L	0,0006	$1,86 \pm 0,04$	0,27
	0,0090	$1,51 \pm 0,01$	0,18
	0,0108	$1,74 \pm 0,11$	0,24
N	0,0020	$0,19 \pm 0,00$	-0,72
	0,0116	$0,16 \pm 0,01$	-0,81

Na Figura 7, apresenta-se a média do logaritmo decimal de P em função do teor de água na fase aquosa dos sistemas analisados comparando com os dados dos sistemas de L a Q do ARIZONA analisados por Lu *et al.* [24] e Marlot *et al.* [26].

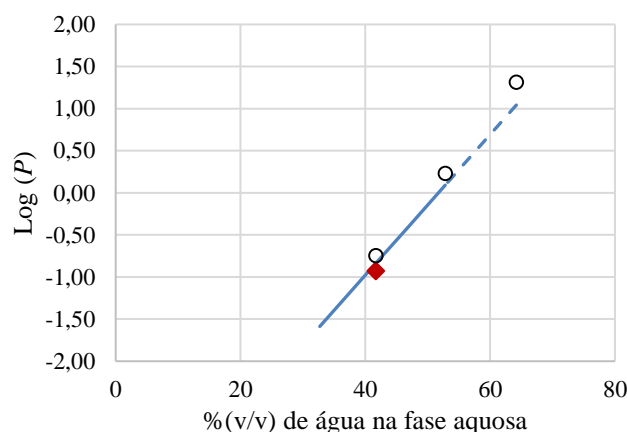


Figura 7. Coeficiente de partição da quercetina em função da quantidade de água na fase aquosa (%v/v): ○ este trabalho; — reta obtida por Lu *et al.* [24], válida entre os sistemas L e Q do ARIZONA (--- extrapolação); ◆ dado obtido por Marlot *et al.* [26].

De acordo com a Figura 7, o logaritmo decimal dos coeficientes de partição aumenta linearmente de acordo com o aumento no teor de água na fase inferior e, conseqüentemente, na polaridade do sistema, com valores próximos aos encontrados na literatura. Para analisar o sistema J, foi feita uma extrapolação utilizando os dados da reta existentes entre os sistemas L a Q [24]. Os valores encontrados confirmam que a forma de eluição da quercetina mudará de acordo com o sistema de solvente usado, permitindo um ajuste na seletividade cromatográfica para fracionar corretamente um extrato natural em que esse composto possa estar presente.

Capítulo 3: Modelação termodinâmica

3.1. Metodologia

Neste capítulo apresentam-se os resultados obtidos na previsão dos coeficientes de partição de diversos solutos nos sistemas bifásicos ARIZONA e EBUWat, por serem dos mais utilizados em cromatografia CPC. Foram selecionados os modelos UNIFAC (versão original, versão de Dortmund e versão NIST) e de solvatação de Abraham.

Dada a escassez de dados experimentais, optou-se por alargar este estudo de modelação a várias famílias de solutos, para além dos compostos fenólicos. Desta forma será possível ter uma visão mais abrangente da robustez dos modelos. Na Tabela 5, da secção 1.5., apresenta-se uma compilação dos dados experimentais disponíveis na literatura. Marlot (2019) e Marlot *et al.* (2020) apresentaram um conjunto de dados muito extenso para 46 solutos em 21 sistemas bifásicos, incluindo 14 solutos da família de solutos G.U.E.S.S.. Neste trabalho, adotaram-se 41 desses solutos, excluindo-se apenas os parabenos, divididos em 6 famílias como descrito na Tabela 9. As estruturas químicas de cada componente estão representadas na Figura A1, do Anexo A.

Tabela 9. Solutos incluídos nos estudos de modelação deste trabalho, organizados por famílias.

Família	Soluto
Compostos G.U.E.S.S.	Cafeína Vanilina Umbeliferona Ácido ferúlico Ácido salicílico Carvona Estradiol Ionona Triptofano Ácido clorogénico Aspirina Cumarina Quercetina Naringenina
Alquilbenzenos	Metilbenzeno Etilbenzeno Propilbenzeno Butilbenzeno Pentilbenzeno Heptilbenzeno
Outros compostos fenólicos	Fenol <i>m</i> -Cresol <i>o</i> -Cresol Pirocatecol Siringol Trimetilfenol
HAP ^a	Naftaleno Fluoreno Antraceno Criseno Benzo(a)pireno
Benzenos substituídos	Álcool benzílico Benzaldeído Acetofenona Propifenona Clorobenzeno p-Nitrotolueno Iodobenzeno Nitrobenzeno
Outros	1-Indanona Naftol

^a HAP: Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.

3.1.1. Modelo UNIFAC

Através do modelo UNIFAC, é possível calcular o coeficiente de atividade (γ_i) dos diversos solutos i em cada uma das fases (aquosa e orgânica). Os coeficientes de partição (P) dos

solutos podem ser depois calculados a partir dos coeficientes de atividade a diluição infinita γ_i^∞ , de acordo com as Equações 20, 21 e 22 [9].

$$K_i^{\alpha\beta} = \frac{x_i^\alpha}{x_i^\beta} = \frac{\gamma_i^{\infty\beta}}{\gamma_i^{\infty\alpha}}; \quad x_i \rightarrow 0 \quad (20)$$

Em que $K_i^{\alpha\beta}$ representa o coeficiente de partição do soluto i entre a fase superior, α , e a fase inferior, β , com base nas frações molares, x_i , do mesmo em ambas as fases. Para comparar os cálculos com os dados experimentais o coeficiente de partição foi convertido com base das concentrações molares, $P_i^{\alpha\beta}$.

$$P_i^{\alpha\beta} = \frac{C^\alpha}{C_i^\beta} = K_i^{\alpha\beta} \frac{\sum x_j^\alpha \times v_j^\alpha}{\sum x_j^\beta \times v_j^\beta} \quad (21)$$

$$P_i^{\alpha\beta} = \frac{\gamma_i^{\infty\beta} \times v^\beta}{\gamma_i^{\infty\alpha} \times v^\alpha} \quad (22)$$

Em que v_j^α e x_j^α são, respetivamente, o volume molar e a fração molar do solvente j na fase superior, enquanto v^α é o volume molar dessa fase. Os mesmos símbolos são usados para a fase inferior.

Neste trabalho, utilizaram-se os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido disponíveis na literatura [13], para descrever a composição das fases em equilíbrio em termos de solventes que as constituem. Desta forma, é possível calcular os coeficientes de atividade (e os coeficientes de partição) apenas com base no conhecimento dos grupos que constituem o soluto e solventes, desde que existam já os parâmetros publicados.

O modelo UNIFAC apresenta algumas limitações já que não é possível distinguir isómeros de posição como sejam os isómeros *orto* e *meta* do cresol, pois apenas se identificam os subgrupos existentes e não se especifica onde cada ramificação está localizada. Além disso, com a versão original do modelo não é possível descrever alguns componentes com estruturas mais complexas como, por exemplo, a quercetina, a cafeína, o triptofano e o ácido clorogénico devido à falta de grupos e subgrupos adequados. Contudo, deve referir-se que para os solutos constituídos por subgrupos já disponíveis não é preciso realizar nenhum ajuste adicional de parâmetros. A descrição

dos subgrupos utilizados no modelo UNIFAC original [40] estão na Tabela A5 do Anexo A juntamente com os parâmetros de forma (Tabela A6) e os parâmetros binários de interação entre grupos (Tabela A7).

Além dos compostos não descritos pelo modelo original, nas modificações do modelo UNIFAC há também algumas limitações na obtenção dos parâmetros de interações entre os grupos nas outras versões. Na versão de Dortmund, também não foi possível descrever os solutos umbeliferona, triptofano, *p*-nitrotolueno, iodobenzeno e propifenona, por não estarem ainda disponíveis alguns parâmetros de interação. Para a versão de NIST, o número de parâmetros disponíveis é ainda mais reduzido, impossibilitando a descrição dos solutos vanilina, ácido salicílico, carvona, ionona, triptofano, aspirina, benzaldeído, acetofenona e propifenona.

Neste trabalho, utilizou-se o programa xUNIFAC [40] nos cálculos do modelo UNIFAC original e o software DDBSP [41] para as versões de Dortmund e NIST.

3.1.2. Modelo de solvatação de Abraham

Este modelo foi já aplicado por Marlot *et al.* [1] para descrever os coeficientes de partição de 46 solutos em 21 sistemas bifásicos, incluindo cinco sistemas ARIZONA (A, B, N, Y e Z), bem como o sistema binário 1-butanol+água. Com base nessa informação, foram estimados os parâmetros de todos os sistemas bifásicos e solutos estudados (Tabela 10 e Tabela A8 do Anexo A).

Tabela 10. Descritores dos sistemas de solventes estudados neste trabalho e propostos por Marlot *et al.* [1].

Sistema de solventes	c	e	s	a	b	v
1	1,356	-0,233	-0,014	0,369	-1,170	0,738
6 (A)	1,846	-0,260	0,103	0,673	-2,169	1,021
7 (B)	1,585	-0,350	0,318	-0,177	-1,903	1,114
17 (N)	0,318	2,77	-0,330	-0,218	-1,726	0,824
27 (Y)	0,303	0,435	-0,731	-0,949	-1,191	0,591
28 (Z)	0,609	0,166	-0,855	-0,834	-0,751	1,149

Posteriormente, Acree e Abraham [42] propuseram outra estratégia, comentando o artigo de Marlot *et al.* [1]. Para os sistemas água-butanol, água+acetato de etilo e metanol+heptano, propõem a utilização dos parâmetros já disponíveis na literatura para estes sistemas bifásicos, aplicando as Equações 23, 24 e 25, respectivamente, onde os valores entre parênteses são os erros padrões dos respectivos coeficientes. Estas correlações apresentam desvios padrões menores e

coeficientes de correlação quadrático maiores do que os calculados por Marlot *et al.* [1] tendo sido obtidos recorrendo a base de dados mais extensas.

$$\begin{aligned} \text{Log}(P) = & 0,369 \times (0,071) + 0,426 \times (0,077) \times E - 0,719 \times (0,071) \times S \\ & - 0,091 \times (0,066) \times A - 2,246 \times (0,080) \times B \\ & + 2,689 \times (0,081) \times V \end{aligned} \quad (23)$$

$$\begin{aligned} \text{Log}(P) = & 0,441 \times (0,099) + 0,591 \times (0,121) \times E - 0,669 \times (0,106) \times S \\ & - 0,325 \times (0,125) \times A - 4,261 \times (0,080) \times B \\ & + 3,668 \times (0,122) \times V \end{aligned} \quad (24)$$

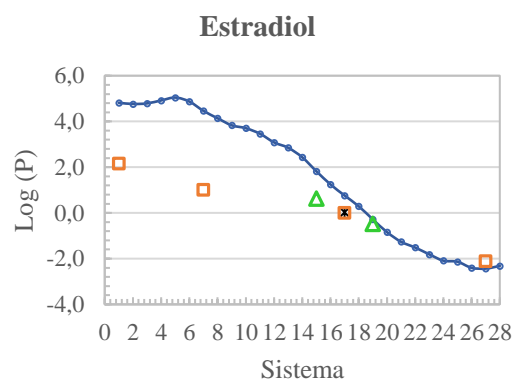
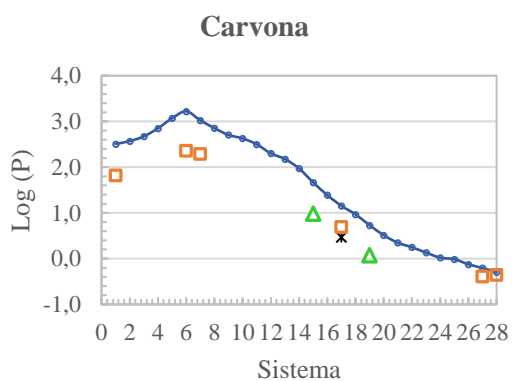
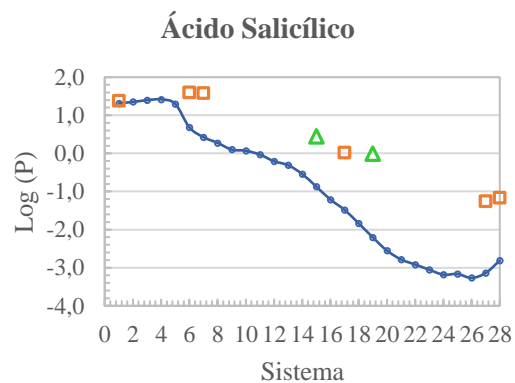
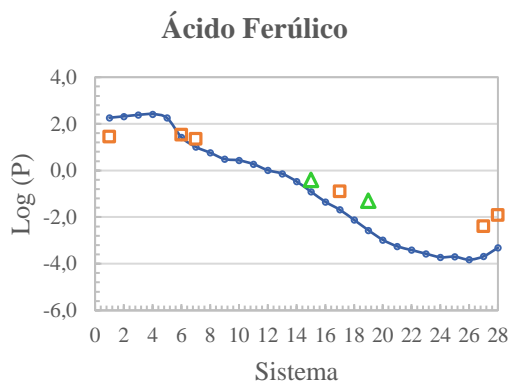
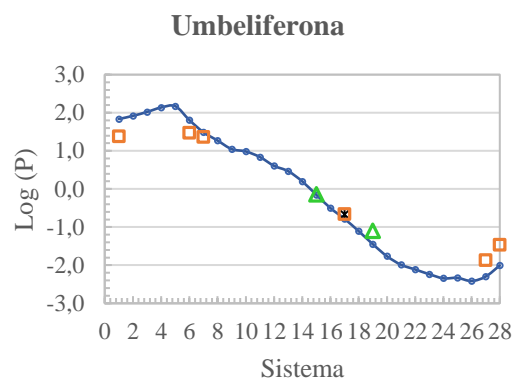
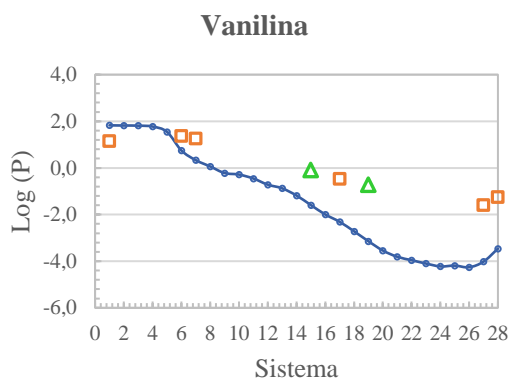
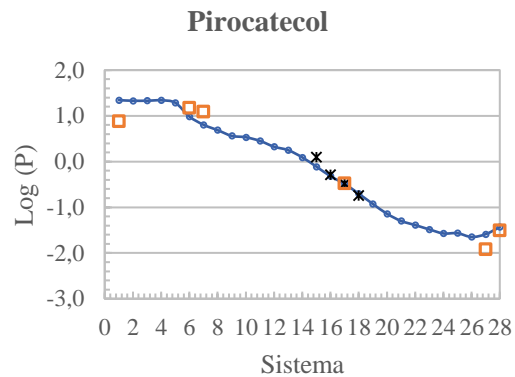
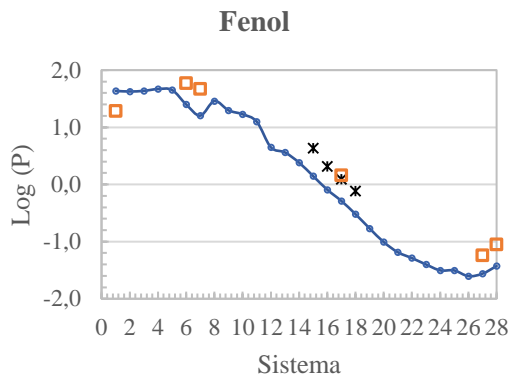
$$\begin{aligned} \text{Log}(P) = & -0,056 \times (0,061) + 0,164 \times (0,045) \times E - 0,620 \times (0,0067) \times S \\ & - 1,337 \times (0,045) \times A - 0,957 \times (0,093) \times B \\ & + 0,507 \times (0,047) \times V \end{aligned} \quad (25)$$

Assim, neste trabalho, utilizaram-se os parâmetros dos solutos publicados por Marlot *et al.* [1] e, para os sistemas bifásicos água-butanol, água+acetato de etilo e metanol+heptano, compararam-se os resultados obtidos utilizando os parâmetros dos solventes propostos por Marlot *et al.* [1] e por Acree e Abraham [39].

3.2. Resultados

3.2.1. Modelo UNIFAC

Na Figura 8 apresentam-se as previsões do modelo UNIFAC original, considerando os sistemas contendo água-acetato de etilo-butanol (sistemas 1 a 5) e da família ARIZONA (sistemas 6 a 28), e para os solutos em que existe informação publicada por mais do que uma fonte.



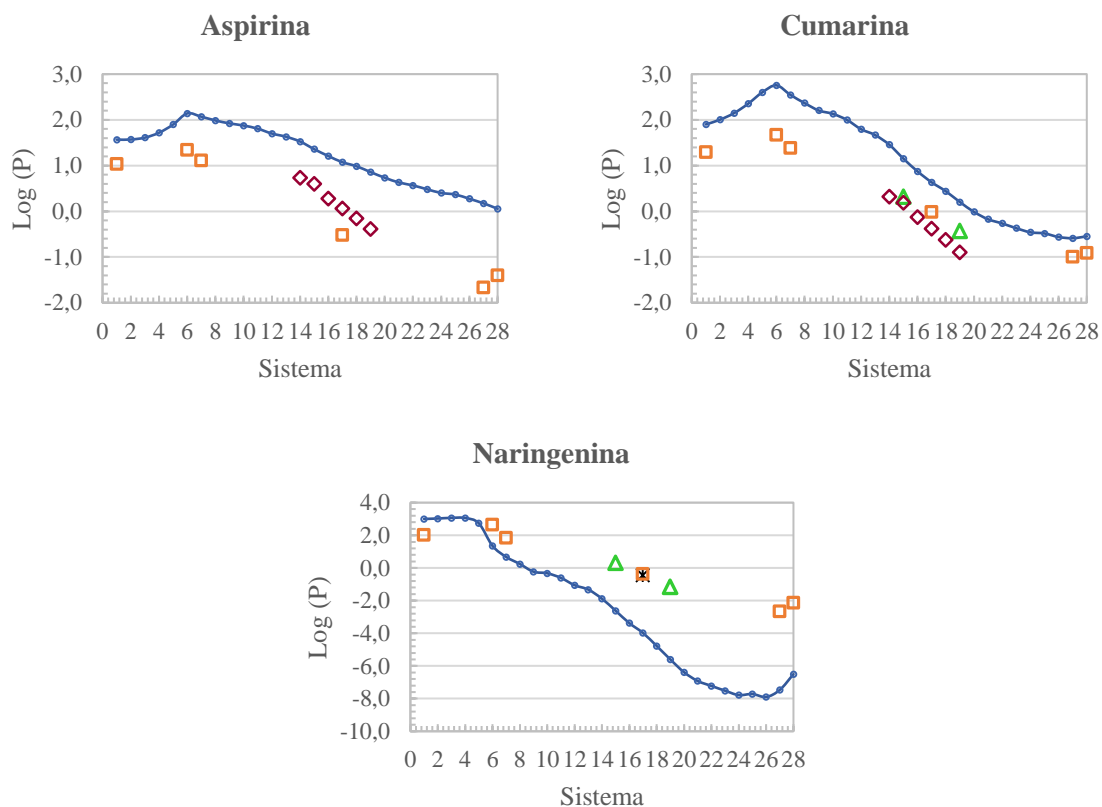


Figura 8. Coeficientes de partição experimentais e previstos pelo modelo UNIFAC em diversos sistemas ARIZONA e do sistema água-acetato de etilo-butanol: previsão pelo método UNIFAC (—○—) e comparação com os dados experimentais; Δ (Lu et al. 2009); * (Hopmann et al. 2011); \diamond (Ren et al. 2013); \square (Marlot 2019).

Como se pode observar, em geral, o modelo UNIFAC é capaz de prever qualitativamente a diminuição dos coeficientes de partição com a diminuição da polaridade dos sistemas bifásicos do sistema ARIZONA (6 a 28), bem como o patamar ou máximo que se verifica na maior parte dos solutos, entre os sistemas 1 e 5. Nos casos de fenol, pirocatecol, umbeliferona e ácido ferúlico, o modelo UNIFAC é capaz de fazer uma previsão quantitativa. Nesta figura, fica uma vez mais evidente que existe apenas uma referência com dados disponíveis numa ampla gama de sistemas ARIZONA. Em particular, dada a dificuldade na medição de dados em que $|\log P| > 2$, seria importante ter um maior número de fontes de informação, de forma a validar a consistência dos resultados experimentais.

Na Tabela 11 apresentam-se os resultados obtidos pelas três versões do modelo UNIFAC, em termos de erro médio absoluto, calculado através da Equação 26:

$$erro = |Log(P_{exp}) - Log(P_{cal.modelo})| \quad (26)$$

Tabela 11. Erro médio absoluto (E.M. abs.) em log P obtido por aplicação das três versões do modelo UNIFAC, e número de componentes (NC) analisados para cada sistema de solvente e família do soluto.

Família do soluto	Sistema de solventes	UNIFAC Original		UNIFAC Dortmund		UNIFAC NIST	
		E.M. abs.	NC	E.M. abs.	NC	E.M. abs.	NC
G.U.E.S.S.	1	0,87	10	0,50	7	1,13	2
	6	1,05	9	0,81	6	1,82	2
	7	0,86	9	0,45	6	0,91	1
	17	1,21	10	0,70	7	0,64	2
	27	1,38	10	0,57	7	0,42	2
	28	1,34	9	0,46	7	0,51	1
Alquilbenzenos	1	1,07	6	1,05	6	1,05	6
	6	0,38	2	0,27	2	0,24	2
	7	0,68	2	0,63	2	0,60	2
	17	0,93	5	1,49	5	1,46	5
	27	0,14	5	0,40	5	0,41	5
	28	0,34	6	0,33	6	0,32	6
Outros compostos fenólicos	1	0,52	5	0,15	5	0,13	5
	6	0,68	6	0,35	6	0,61	6
	7	0,59	5	0,24	5	0,52	5
	17	0,32	6	0,35	6	0,29	6
	27	0,34	6	0,28	6	0,29	6
	28	0,35	6	0,56	6	0,39	6
HAP	1	2,10	5	2,30	5	2,27	5
	6	3,38	5	3,36	5	3,26	5
	7	2,90	5	2,95	5	2,84	5
	17	1,57	5	2,19	5	2,05	5
	27	0,23	5	0,32	5	0,30	5
	28	0,05	5	0,18	5	0,19	5
Benzenos substituídos	1	0,31	8	0,41	3	0,50	4
	6	0,46	5	0,36	2	0,41	2
	7	0,68	8	0,67	3	0,64	4
	17	0,28	8	0,31	3	0,51	4
	27	0,60	8	0,37	3	0,19	4
	28	0,57	8	0,34	3	0,06	4
Outros	1	0,67	2	0,51	2	0,56	2
	6	0,69	2	0,73	2	0,90	2
	7	0,51	2	0,62	2	0,76	2
	17	0,33	2	0,65	2	0,57	2
	27	0,14	2	0,10	2	0,15	2
	28	0,26	2	0,40	2	0,36	2

Comparando os dados da Tabela 11, pode-se perceber que o modelo UNIFAC original é o que descreve o maior número de compostos por possuir uma tabela de parâmetros disponíveis mais extensa. Para as famílias dos alquilbenzenos, outros compostos fenólicos, HAP e outros, as três versões permitem analisar o mesmo número de solutos. Porém, apenas para a família dos outros

compostos fenólicos o modelo de Dortmund apresentou uma média dos erros médios absolutos menor, de 0,33, considerando todos os sistemas de solventes. Além disso, na família dos compostos G.U.E.S.S. o modelo original foi o que originou a menor média dos E.M.abs. (1,12), apresentando quase o dobro dos solutos que os outros modelos. Na família dos benzenos substituídos, as versões de Dortmund e de NIST resultam numa média do E.M. semelhante sendo, respetivamente, de 0,41 e 0,38, mas o modelo original é uma vez mais o mais recomendado devido ao maior número de sistemas analisados mesmo possuindo um erro médio um pouco mais alto, de 0,48.

3.2.2. Modelo de solvatação de Abraham

Tal como foi referido anteriormente, existem dois conjuntos de descritores de Abraham disponíveis na literatura para os sistemas bifásicos água-butanol (sistema 1), água+acetato de etilo (sistema 6) e metanol+heptano (sistema 28). Assim, na Tabela 12, apresenta-se uma comparação entre os valores obtidos por Acree e Abraham [42] e Marlot *et al.* [1]. Para os sistemas 7, 17 e 27 (i.e. sistemas B, N e Y do ARIZONA) existem apenas os descritores propostos por Marlot *et al.* [1].

Tabela 12. Erro médio absoluto (E.M. abs.) em $\log P$ obtido por aplicação do modelo de solvatação de Abraham e número de componentes (NC) analisados para cada sistema de solvente e família do soluto.

Família do soluto	Sistema de solventes	Parâmetros de Acree e Abraham [42]		Parâmetros de Marlot <i>et al.</i> [1]	
		E.M. abs.	NC	E.M. abs.	NC
G.U.E.S.S.	1	1,29	11	0,28	11
	6	1,22	12	0,54	12
	7	-	-	0,45	12
	17	-	-	0,43	14
	27	-	-	0,79	13
	28	1,29	12	1,38	12
Alquilbenzenos	1	1,71	6	0,23	6
	6	2,30	2	0,35	2
	7	-	-	0,20	2
	17	-	-	0,16	5
	27	-	-	0,34	5
	28	0,66	6	0,93	6
Outros compostos fenólicos	1	1,12	5	0,28	5
	6	1,47	6	0,36	6
	7	-	-	0,25	5
	17	-	-	0,17	6
	27	-	-	0,75	6
	28	0,94	6	1,30	6

Tabela 12. (Continuação) Erro médio absoluto (E.M. abs.) em log P obtido por aplicação do modelo de solvatação de Abraham e número de componentes (NC) analisados para cada sistema de solvente e família do soluto.

Família do soluto	Sistema de solventes	Parâmetros de Acree e Abraham [42]		Parâmetros de Marlot <i>et al.</i> [1]	
		E.M. abs.	NC	E.M. abs.	NC
HAP	1	1,67	5	0,36	5
	6	1,58	5	0,34	5
	7	-	-	0,44	5
	17	-	-	0,09	5
	27	-	-	0,64	5
	28	0,19	5	1,22	5
Benzenos substituídos	1	1,32	8	0,19	8
	6	1,78	5	0,31	5
	7	-	-	0,37	8
	17	-	-	0,19	8
	27	-	-	0,55	8
	28	0,34	8	1,14	8
Outros	1	1,48	2	0,23	2
	6	1,72	2	0,32	2
	7	-	-	0,62	2
	17	-	-	0,17	2
	27	-	-	0,82	2
	28	0,68	2	1,32	2

Analisando os resultados dos diferentes conjuntos de descritores usados no modelo de Abraham é possível constatar que utilizando os parâmetros de Acree e Abraham [42] para os sistemas bifásicos composto por água-butanol (sistema 1), e água-acetato de etilo (sistema 6) os valores de E.M. abs. demonstraram ser mais altos que os de Marlot *et al.* [1] em todas as famílias de solutos fazendo com que aumentasse a média do E.M. abs. apresentado na Tabela 12. Já o sistema contendo metanol-heptano apresentou um E.M. abs. bem menor em todas as famílias de solutos.

3.2.3. Análise geral

Analisando globalmente os resultados apresentados nas Tabelas 11 e 12, verifica-se que, com as tabelas de parâmetros atualmente disponíveis, a quantidade de sistemas que é possível descrever por cada versão do modelo UNIFAC é variável e menor do que os sistemas descritos pelo modelo de Abraham. Por outro, para alguns sistemas não existem dados publicados na literatura. A Tabela 13 reporta a média dos E.M. abs. de todos os sistemas de solventes, por família de soluto, para cada modelo termodinâmico, calculada de acordo com a seguinte equação:

$$Média E.M. abs. = \frac{\sum E.M. abs. sistema de solvente \times NC_{sistema de solvente}}{\sum NC} \quad (27)$$

Tabela 13. Média do E.M. abs. dos modelos termodinâmicos estudados neste trabalho.

Família do soluto	UNIFAC Original	UNIFAC Dortmund	UNIFAC NIST	Parâmetros de Acree e Abraham [42]	Parâmetros de Marlot et al. [1]
G.U.E.S.S.	1,12	0,58	0,94	0,89	0,65
Alquilbenzenos	0,61	0,75	0,74	0,83	0,41
Outros compostos fenólicos	0,46	0,33	0,38	0,79	0,53
HAP	1,70	1,88	1,82	0,77	0,51
Benzenos substituídos	0,48	0,41	0,38	0,69	0,47
Outros	0,43	0,50	0,55	0,92	0,58

Assim, para a família dos compostos G.U.E.S.S., aparentemente o melhor modelo seria o modelo UNIFAC modificado por Dortmund por apresentar o menor valor da média dos erros médios absolutos, que foi de 0,58, com os menores valores do erro para os sistemas 1, 7, 27 e 28. Porém, este modelo descreve apenas um reduzido número de sistemas. Já o modelo de Abraham utilizando os parâmetros de Marlot *et al.* [1] é o segundo melhor modelo com a média do erro de 0,65, mas sendo capaz de descrever quase o dobro dos sistemas. Dessa forma, o melhor modelo para esta família é o modelo de Abraham.

Para a família dos alquilbenzenos, obtiveram-se os melhores resultados com o modelo de Abraham através dos parâmetros de Marlot *et al.* [1] com a média de 0,41. Nos outros compostos fenólicos, os modelos UNIFAC modificado de Dortmund e NIST apresentaram uma média do erro mais baixa de, respectivamente, 0,33 e 0,38, e com a mesma quantidade de componentes analisados.

Relativamente à família dos HAP todos os modelos apresentam a mesma quantidade de componentes analisados. Nesta família, o melhor modelo é o de Abraham, com os erros mais baixos para o sistema 17 (solventes água-acetato de etilo-metanol-heptano na mesma proporção), com um valor médio do erro de 0,77 e 0,51, com os parâmetros propostos por Acree e Abraham [42] e Marlot *et al.* [1], respectivamente.

Já para os benzenos substituídos, considerando apenas os modelos capazes de descrever todos os solutos, os melhores modelos são o de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] e o UNIFAC original, com um erro médio de 0,47 e 0,48, respectivamente. E, por fim, na família dos outros dois compostos, o modelo UNIFAC original possui uma média de erro de 0,43.

Na Figura 9 apresenta-se a representação gráfica de $\log P$ calculado pelos modelos em função dos valores experimentais de $\log P$.

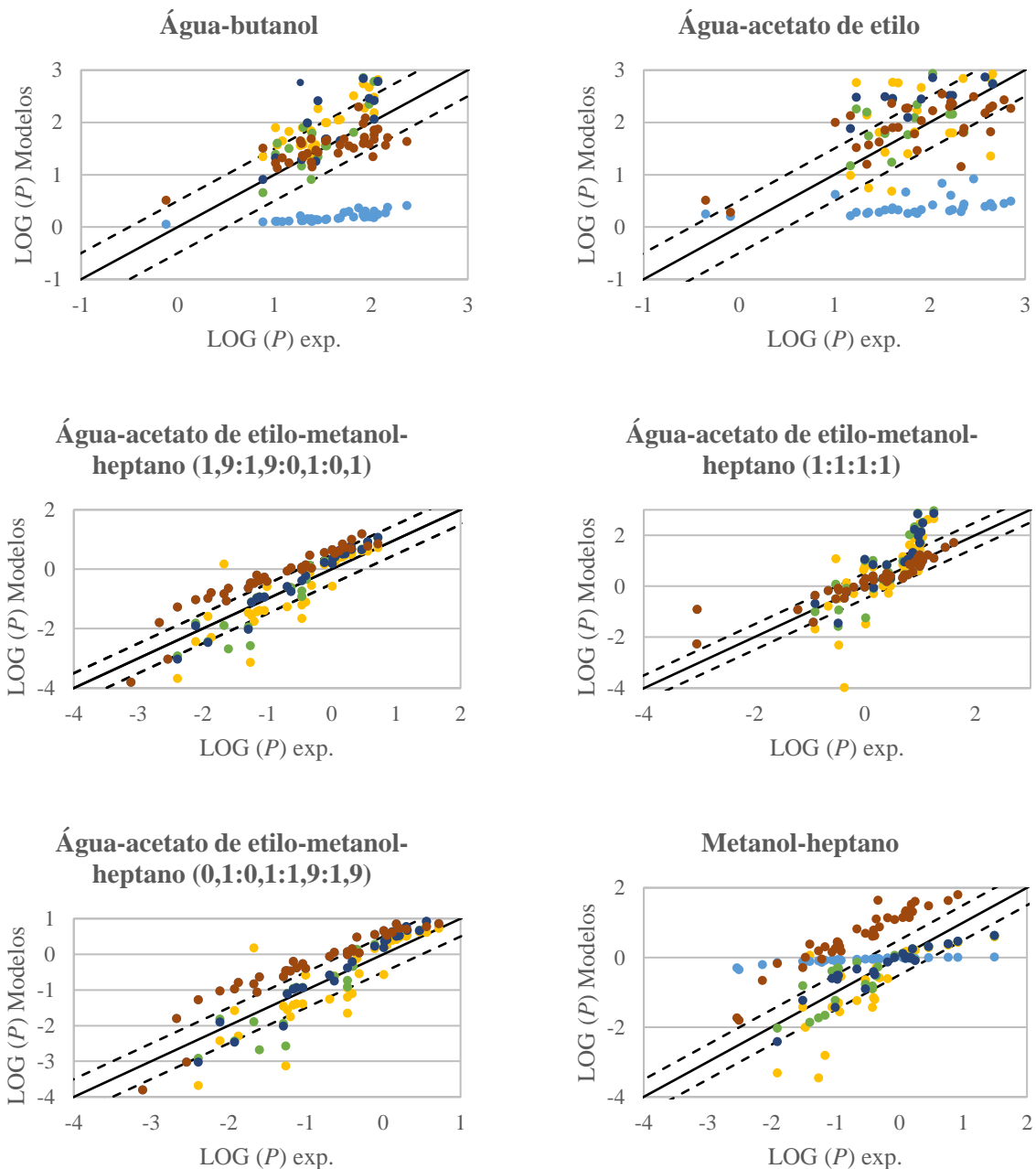


Figura 9. Coeficientes de partição previstos pelos modelos termodinâmicos nos sistemas água-butanol e alguns sistemas do ARIZONA: ● UNIFAC original, ● UNIFAC modificado por Dortmund, ● UNIFAC modificado por NIST, ● Modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] e ● Modelo de Abraham com os parâmetros de Acree e Abraham [42]. As linhas a tracejado apresenta desvios de $\log P$ de 0,5.

De acordo com a Figura 9, é possível verificar que os modelos UNIFAC original e suas variantes possuem valores próximos dos coeficientes de partição em todos os sistemas de solventes e entre os diversos solutos, com desvio em apenas alguns solutos. Nos sistemas 17, 27 e 28, a naringenina e a vanilina possuem um valor muito diferente dos demais e, a aspirina e o ácido salicílico, nos sistemas 27 e 28 também quando se utiliza o modelo original.

No modelo de Abraham, aplicando o conjunto de parâmetros de Acree e Abraham [42], também pode verificar-se que os valores do coeficiente de partição são próximos dos demais modelos, exceto nos sistemas 1 e 6 que apresentam uma tendência totalmente diferente dos valores experimentais. Os únicos solutos que estão na faixa entre $\pm 0,5$ desses sistemas são a cafeína no sistema água-butanol e o ácido clorogénico no sistema água-acetato de etilo.

Além disso, a Figura 8 demonstra que existem alguns *outliers* para os 6 sistemas de solvente apresentados. Para o sistema contendo água+butanol e os solutos heptilbenzeno, antraceno, criseno e benzo(a)pireno, os valores do coeficiente de partição previstos pelos modelos UNIFAC original e modificado por NIST são muito diferentes dos experimentais. No sistema binário com água+acetato de etilo, os desvios são superiores para estradiol usando os modelos UNIFAC original e modificado por NIST; para butilbenzeno, pentilbenzeno e heptilbenzeno para as versões de Dortmund e NIST; e, para fluoreno, antraceno, criseno e benzo(a)pireno, usando as três versões do UNIFAC. Para a composição com água+acetato de etilo+metanol+heptano (1,9:1,9:0,1:0,1), os *outliers* são a cafeína e o ácido clorogénico aplicando o modelo de solvatação de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] e, para todas as versões do modelo UNIFAC, os *outliers* são antraceno, criseno e benzo(a)pireno. Por fim, o triptofano e o ácido clorogénico são os *outliers* para o sistema água+acetato de etilo+metanol+heptano (1:1:1:1) com o modelo de solvatação de Abraham utilizando os parâmetros de Marlot *et al.* [1], e a naringenina para os sistemas água+acetato de etilo+metanol+heptano (1:1:1:1), água+acetato de etilo+metanol+heptano (0,1:0,1:1,9:1,9) e metanol-heptano utilizando o modelo UNIFAC original.

Para observar melhor os resultados, os gráficos com a comparação entre todos os modelos termodinâmicos e os coeficientes de partição experimentais de cada família do soluto estão nas Figuras A2-A7 no Anexo A.

Capítulo 4: Conclusões e trabalho futuro

Neste trabalho, implementou-se um método experimental para testar a capacidade de medição dos coeficientes de partição, utilizando-se como soluto modelo, a quercetina, e os sistemas J, L e N da família ARIZONA.

Estes sistemas bifásicos são dos mais utilizados e testados na literatura, possuindo a polaridade adequada para a separação das famílias de compostos fenólicos. Este conjunto de solventes possui uma ampla polaridade, variando-se para isso a composição dos seus sistemas, baixos pontos de ebulição, baixa viscosidade e baixa toxicidade. Em particular, os sistemas J, L e N foram escolhidos para realização dos ensaios de validação da metodologia por apresentarem uma polaridade intermediária e por existirem alguns dados disponíveis na literatura. Na sequência da validação desta metodologia, e dada a escassez de dados na literatura, sugere-se a realização da medição dos coeficientes de partição de um maior número de solutos em diferentes sistemas de solventes, utilizando tanto os mais comuns na cromatografia de partição centrífuga, quanto sistemas contendo compostos de reduzida toxicidade, produzidos a partir de fontes renováveis e que possam melhorar a eficiência do processo.

Neste trabalho, aplicaram-se os modelos termodinâmicos UNIFAC (versões original, de Dortmund e de NIST) e o modelo de Abraham na descrição dos coeficientes de partição de 41 solutos em 6 sistemas de solventes da família do ARIZONA e no sistema 1-butanol+água.

Considerando os resultados globais, numa primeira abordagem, o modelo UNIFAC original será uma boa opção entre as três versões testadas, considerando não só o erro global médio em $\log(P)$ de 0,80, mas também o facto de apresentar parâmetros que abrangem um maior número

de solutos. O modelo de Abraham apresenta um erro global médio de 0,81 para o conjunto de parâmetros de Acree e Abraham [42] e de apenas 0,52 aplicando os parâmetros propostos por Marlot *et al.* [1]. Apesar desta diferença significativa, os parâmetros propostos por Acree e Abraham [42] apresentam melhores resultados para o sistema de solvente Z (metanol-heptano). O modelo de Abraham poderá ser aplicado, de forma complementar, a solutos com estrutura química mais complexa e que não possam ser descritos pelo modelo UNIFAC, desde que existam um conjunto de dados de partição que permita o ajuste dos descritores moleculares do soluto. Por fim, sugere-se como trabalho futuro, a aplicação do modelo COSMO-RS na previsão dos coeficientes de partição, dado que neste caso os coeficientes de atividade podem ser estimados apenas por meio de cálculos *ab initio* dos compostos puros.

Referências

- [1] L. Marlot, M. Batteau, K. Faure, Classification of biphasic solvent systems according to Abraham descriptors for countercurrent chromatography, *J. Chromatogr. A.* (2020).
- [2] F. Das Neves Costa, G.G. Leitão, Strategies of solvent system selection for the isolation of flavonoids by countercurrent chromatography, *J. Sep. Sci.* 33 (2010) 336–347.
- [3] K. Skalicka-Woźniak, I. Garrard, A comprehensive classification of solvent systems used for natural product purifications in countercurrent and centrifugal partition chromatography, *Nat. Prod. Rep.* 32 (2015) 1556–1561.
- [4] J.B. Friesen, G.F. Pauli, G.U.E.S.S. - A generally useful estimate of solvent systems in CCC, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 28 (2005) 2777–2806.
- [5] E. Hopmann, A. Frey, M. Minceva, A priori selection of the mobile and stationary phase in centrifugal partition chromatography and counter-current chromatography, *J. Chromatogr. A.* 1238 (2012) 68–76.
- [6] J.B. Friesen, G.F. Pauli, Performance characteristics of countercurrent separation in analysis of natural products of agricultural significance, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 19–28.
- [7] M. Bojczuk, D. Żyżelewicz, P. Hodurek, Centrifugal partition chromatography – A review of recent applications and some classic references, *J. Sep. Sci.* 40 (2017) 1597–1609.
- [8] F. Oka, H. Oka, Y. Ito, Systematic search for suitable two-phase solvent systems for high-speed counter-current chromatography, *J. Chromatogr.* 538 (1991) 99–108.
- [9] E. Hopmann, W. Arlt, M. Minceva, Solvent system selection in counter-current chromatography using conductor-like screening model for real solvents, *J. Chromatogr. A.* 1218 (2011) 242–250.
- [10] A.R. Frey, Systematic Selection and Tailoring of Biphasic Solvent Systems in Liquid-liquid Chromatography, *Technischen Fakultät der Friedrich-Alexander Universität*, 2017.
- [11] J.B. Friesen, G.F. Pauli, Rational development of solvent system families in counter-current chromatography, 1151 (2007) 51–59.
- [12] A. Marston, K. Hostettmann, Developments in the application of counter-current chromatography to plant analysis, *J. Chromatogr. A.* 1112 (2006) 181–194.
- [13] I.J. Garrard, L. Janaway, D. Fisher, Minimising solvent usage in high speed, high loading, and high resolution isocratic dynamic extraction, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 30 (2007) 151–163.
- [14] A. Berthod, M. Hassoun, M.J. Ruiz-Angel, Alkane effect in the Arizona liquid systems used in countercurrent chromatography, *Anal. Bioanal. Chem.* 383 (2005) 327–340.
- [15] B. Orge, M. Iglesias, A. Rodríguez, J.M. Canosa, J. Tojo, Mixing properties of (methanol, ethanol, or 1-propanol) with (n-pentane, n-hexane, n-heptane and n-octane) at 298.15 K, *Fluid Phase Equilib.* 133 (1997) 213–227.
- [16] S.L. Büttendier, E.D.S. Simon, N.M. Volpato, Cromatografia Contracorrente: Princípios e Aplicações, *Rev. Eletrônica Farmácia.* 15 (2018) 1–11.
- [17] Y. Liu, P. Kuang, S. Guo, Q. Sun, T. Xue, H. Li, An overview of recent progress in solvent systems, additives and modifiers of counter current chromatography, *New J. Chem.* 42 (2018) 6584–6600.
- [18] K. Faure, E. Bouju, P. Suchet, Limonene in Arizona liquid systems used in countercurrent chromatography . I Physicochemical properties, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 5909–5917.

- [19] K. Faure, E. Bouju, J. Doby, A. Berthod, Limonene in Arizona liquid systems used in countercurrent chromatography. II Polarity and stationary-phase retention, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 5919–5926.
- [20] F. Bezold, M.E. Weinberger, M. Minceva, Computational solvent system screening for the separation of tocopherols with centrifugal partition chromatography using deep eutectic solvent-based biphasic systems, *J. Chromatogr. A.* 1491 (2017) 153–158.
- [21] F. Bezold, M. Minceva, Liquid-liquid equilibria of n-heptane, methanol and deep eutectic solvents composed of carboxylic acid and monocyclic terpenes, *Fluid Phase Equilib.* 477 (2018) 98–106.
- [22] F.P. Byrne, S. Jin, G. Paggiola, T.H.M. Petchey, J.H. Clark, T.J. Farmer, A.J. Hunt, C. Robert McElroy, J. Sherwood, *Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides*, 2016.
- [23] A. Berthod, N. Mekaoui, Distribution ratio, distribution constant and partition coefficient. Countercurrent chromatography retention of benzoic acid., *J. Chromatogr. A.* 1218 (2011) 6024–6030.
- [24] Y. Lu, A. Berthod, R. Hu, W. Ma, Y. Pan, Screening of complex natural extracts by countercurrent chromatography using a parallel protocol, *Anal. Chem.* 81 (2009) 4048–4059.
- [25] D.B. Ren, Z.H. Yang, Y.Z. Liang, Q. Ding, C. Chen, M.L. Ouyang, Correlation and prediction of partition coefficient using nonrandom two-liquid segment activity coefficient model for solvent system selection in counter-current chromatography separation, *J. Chromatogr. A.* 1301 (2013) 10–18.
- [26] L. Marlot, Développement de méthodes bidimensionnelles préparatives CPCxLC : application à la purification de molécules d ' intérêt issues de matrices végétales, 2019.
- [27] A. Fredenslund, R.L. Jones, J.M. Prausnitz, Group-contribution estimation of activity coefficients in nonideal liquid mixtures, *AIChE J.* 21 (1975) 1086–1099.
- [28] R. Wittig, J. Lohmann, J. Gmehling, Vapor-liquid equilibria by UNIFAC group contribution., *Ind. Eng. Chem. Res.* 42 (1991) 2352–2355.
- [29] U. Weidlich, J. Gmehling, A Modified UNIFAC Model., *Ind. Eng. Chem. Res.* 26 (1987) 1372–1381.
- [30] A. Jakob, H. Grensemann, J. Lohmann, J. Gmehling, Further Development of Modified UNIFAC (Dortmund), (2006) 7924–7933.
- [31] J.W. Kang, V. Diky, R.D. Chirico, J.W. Magee, C.D. Muzny, I. Abdulagatov, A.F. Kazakov, M. Frenkel, A new method for evaluation of UNIFAC interaction parameters, *Fluid Phase Equilib.* 309 (2011) 68–75.
- [32] J.W. Kang, V. Diky, M. Frenkel, New modified UNIFAC parameters using critically evaluated phase equilibrium data, *Fluid Phase Equilib.* (2015) 128–141.
- [33] M.H. Abraham, Scales of Solutes Hydrogen-bonding: Their Construction and Application to Physicochemical and Biochemical Processes, *Chem. Soc. Rev.* 096 (1993).
- [34] M.H. Abraham, A. Ibrahim, A.M. Zissimos, Determination of sets of solute descriptors from chromatographic measurements, *J. Chromatogr. A.* 1037 (2004) 29–47.
- [35] M.H. Abraham, R.E. Smith, R. Luchtefeld, A.J. Boorem, R. Lou, W.E. Acree, Prediction of solubility of drugs and other compounds in organic solvents, *J. Pharm. Sci.* 99 (2010) 1500–1515.
- [36] A. Klamt, Conductor-like screening model for real solvents: A new approach to the quantitative calculation of solvation phenomena, *J. Phys. Chem.* 99 (1995) 2224–2235.
- [37] A. Klamt, V. Jonas, T. Bürger, J.C.W. Lohrenz, Refinement and parametrization of

- COSMO-RS, *J. Phys. Chem. A.* 102 (1998) 5074–5085.
- [38] A. Richard, F. Neumarkt, *Systematic Selection and Tailoring of Biphasic Solvent Systems in Liquid-liquid Chromatography*, 2017.
- [39] OECD Guideline for the testing of chemicals, 1995.
- [40] P. Randhol, H.K. Engelién, *XL UNIFAC*, (2000).
- [41] *DDBSP - Dortmund Data Bank Software & Separation Technology GmbH*, (2019).
- [42] W.E. Acree, B. Churchill, M.H. Abraham, Comments on “Classification of biphasic solvent systems according to Abraham descriptors for countercurrent chromatography,” *J. Chromatogr. A.* 1618 (2020) 2–3.

Anexo A

Tabela A 1. Composição em fração molar da fase superior e inferior dos sistemas da família HEMWat a 22 °C [9].

Sistema	Fração molar							
	Fase superior				Fase inferior			
	Água	Acetato de etilo	Metanol	Hexano	Água	Acetato de etilo	Metanol	Hexano
-8	-	-	-	-	-	-	-	-
-7	0,001	0,040	0,060	0,900	0,197	0,029	0,747	0,027
-6	0,003	0,093	0,058	0,846	0,370	0,046	0,576	0,008
-5	0,005	0,172	0,052	0,772	0,472	0,059	0,465	0,004
-4	0,050	0,198	0,044	0,707	0,580	0,046	0,372	0,002
-3	0,011	0,273	0,065	0,651	0,572	0,061	0,365	0,002
-2	0,006	0,242	0,041	0,711	0,673	0,033	0,293	0,000
-1	0,012	0,322	0,060	0,606	0,669	0,043	0,287	0,001
0	0,029	0,395	0,086	0,491	0,658	0,054	0,287	0,001
+1	0,051	0,455	0,114	0,380	0,655	0,064	0,281	0,001
+2	0,092	0,498	0,152	0,257	0,652	0,074	0,272	0,001
+3	0,053	0,507	0,096	0,344	0,743	0,040	0,216	0,000
+4	0,090	0,558	0,121	0,231	0,753	0,042	0,205	0,000
+5	0,076	0,614	0,083	0,227	0,828	0,026	0,145	0,000
+6	0,091	0,702	0,059	0,148	0,886	0,021	0,093	0,000
+7	0,106	0,792	0,030	0,072	0,936	0,019	0,045	0,000
+8	0,126	0,874	0,000	0,000	0,983	0,017	0,000	0,000

Tabela A 2. Volumes molares da família HEMWat a 22 °C [10].

Composto	Volume molar (cm ³ /mol)
Água	18,1
Acetato de etilo	98,1
Metanol	40,4
Hexano	130,8

Tabela A 3. Composição em fração molar da fase superior e inferior dos sistemas da família ARIZONA a 22 °C [13].

Sistema		Fração molar									
		Fase superior					Fase inferior				
		Água	Acetato de etilo	Metanol	Heptano	Butanol	Água	Acetato de etilo	Metanol	Heptano	Butanol
-	1	0,494	0,000	0,000	0,000	0,506	0,981	0,000	0,000	0,000	0,019
-	2	0,517	0,086	0,000	0,000	0,397	0,979	0,005	0,000	0,000	0,016
-	3	0,511	0,185	0,000	0,000	0,303	0,978	0,009	0,000	0,000	0,013
-	4	0,462	0,318	0,000	0,000	0,220	0,978	0,012	0,000	0,000	0,010
-	5	0,352	0,524	0,000	0,000	0,124	0,980	0,014	0,000	0,000	0,006
A	6	0,150	0,850	0,000	0,000	0,000	0,985	0,015	0,000	0,000	0,000
B	7	0,104	0,848	0,017	0,031	0,000	0,961	0,017	0,023	0,000	0,000
C	8	0,087	0,817	0,031	0,065	0,000	0,936	0,018	0,046	0,000	0,000
D	9	0,062	0,797	0,043	0,098	0,000	0,914	0,018	0,068	0,000	0,000
F	10	0,064	0,777	0,048	0,110	0,000	0,903	0,019	0,078	0,000	0,000
G	11	0,058	0,747	0,058	0,137	0,000	0,883	0,021	0,097	0,000	0,000
H	12	0,048	0,703	0,069	0,181	0,000	0,852	0,024	0,124	0,000	0,000
J	13	0,043	0,669	0,078	0,210	0,000	0,829	0,025	0,146	0,000	0,000
K	14	0,031	0,621	0,084	0,264	0,000	0,799	0,032	0,170	0,000	0,000
L	15	0,025	0,551	0,078	0,345	0,000	0,746	0,040	0,214	0,000	0,000
M	16	0,020	0,477	0,072	0,431	0,000	0,696	0,050	0,254	0,000	0,000
N	17	0,019	0,404	0,070	0,508	0,000	0,646	0,057	0,297	0,001	0,000
P	18	0,012	0,334	0,058	0,597	0,000	0,614	0,061	0,325	0,001	0,000
Q	19	0,007	0,261	0,045	0,686	0,000	0,558	0,063	0,377	0,001	0,000
R	20	0,005	0,191	0,034	0,770	0,000	0,498	0,061	0,440	0,002	0,000
S	21	0,003	0,138	0,032	0,826	0,000	0,441	0,056	0,500	0,002	0,000
T	22	0,002	0,112	0,030	0,856	0,000	0,402	0,053	0,542	0,003	0,000
U	23	0,002	0,083	0,030	0,886	0,000	0,344	0,045	0,606	0,004	0,000
V	24	0,002	0,064	0,024	0,910	0,000	0,289	0,041	0,664	0,007	0,000
W	25	0,002	0,057	0,030	0,912	0,000	0,260	0,037	0,696	0,008	0,000
X	26	0,001	0,035	0,031	0,933	0,000	0,187	0,027	0,773	0,014	0,000
Y	27	0,001	0,019	0,051	0,930	0,000	0,101	0,015	0,856	0,029	0,000
Z	28	0,000	0,000	0,085	0,915	0,000	0,000	0,000	0,913	0,087	0,000

Tabela A 4. Volumes molares da família ARIZONA a 22 °C [13].

Sistema		Volume molar (cm ³ /mol)	
		Fase superior	Fase inferior
-	1	0,055	0,019
-	2	0,054	0,020
-	3	0,055	0,020
-	4	0,060	0,020
-	5	0,069	0,020
A	6	0,086	0,019
B	7	0,090	0,020
C	8	0,093	0,021
D	9	0,095	0,021
F	10	0,096	0,021
G	11	0,097	0,022
H	12	0,099	0,023
J	13	0,100	0,023
K	14	0,104	0,024
L	15	0,118	0,029
M	16	0,113	0,028
N	17	0,117	0,029
P	18	0,123	0,030
Q	19	0,128	0,032
R	20	0,133	0,033
S	21	0,136	0,034
T	22	0,138	0,035
U	23	0,139	0,036
V	24	0,141	0,037
W	25	0,140	0,038
X	26	0,141	0,039
Y	27	0,140	0,042
Z	28	0,138	0,050

Tabela A 5. Subdivisão dos grupos do modelo UNIFAC original para os solventes e solutos.

Família	Componente	Subdivisão dos grupos
Solventes	Água	1 H ₂ O
	Acetato de etilo	1 CH ₃ , 1 CH ₂ , 1 CH ₃ OH
	Metanol	1 CH ₃ OH
	Butanol	1 CH ₃ , 3 CH ₂ , 1 OH
	Heptano	2 CH ₃ , 5 CH ₂
Compostos G.U.E.S.S.	Cafeína	-
	Vanilina	3 ACH, 2 AC, 1 ACOH, 1 CHO, 1 CH ₃ O
	Umbelliferona	1 CH=CH, 3 ACH, 2 AC, 1 ACOH, 1 COO
	Ácido ferúlico	1 CH=CH, 3 ACH, 2 AC, 1 ACOH, 1 CH ₃ O, 1 COOH
	Ácido Salicílico	4 ACH, 1 AC, 1 ACOH, 1 COOH
	Carvona	2 CH ₃ , 1 CH ₂ , 1 CH, 1 CH ₂ =C, 1 CH=C, 1 CH ₂ CO
	Estradiol	1 CH ₃ , 5 CH ₂ , 3 CH, 1 C, 3 ACH, 1 ACCH ₂ , 1 ACCH, 1 OH, 1 ACOH
	Ionona	3 CH ₃ , 3 CH ₂ , 1 C, 1 CH=CH, 1 C=C, 1 CH ₃ CO
	Triptofano	-
	Ácido clorogênico	-
	Aspirina	4 ACH, 1 AC, 1 ACOH, 1 COOH
	Cumarina	1 CH=CH, 4 ACH, 2 AC, 1 COO
	Quercetina	-
	Naringenina	6 ACH, 3 AC, 3 ACOH, 1 CH ₂ CO, 1 CHO
Alquilbenzenos	Metilbenzeno	5 ACH, 1 ACCH ₃
	Etilbenzeno	1 CH ₃ , 5 ACH, 1 ACCH ₂
	Propilbenzeno	1 CH ₃ , 1 CH ₂ , 5 ACH, 1 ACCH ₂
	Butilbenzeno	1 CH ₃ , 2 CH ₂ , 5 ACH, 1 ACCH ₂
	Pentilbenzeno	1 CH ₃ , 3 CH ₂ , 5 ACH, 1 ACCH ₂
	Heptilbenzeno	1 CH ₃ , 5 CH ₂ , 5 ACH, 1 ACCH ₂
Outros compostos fenólicos	Fenol	5 ACH, 1 ACOH
	m-cresol	1 CH ₃ , 4 ACH, 1 AC, 1 ACOH
	o-cresol	1 CH ₃ , 4 ACH, 1 AC, 1 ACOH
	Pirocatecol	4 ACH, 2 ACOH
	Siringol	3 ACH, 2 AC, 1 ACOH, 2 CH ₃ O
	Trimetilfenol	2 ACH, 1 ACOH, 3 ACCH ₃
HAP	Naftaleno	8 ACH, 2 AC
	Fluoreno	8 ACH, 4 ACH, 1 ACCH ₂
	Antraceno	10 ACH, 4 AC
	Criseno	12 ACH, 6 AC
	Benzo(a)pireno	12 ACH, 8 AC
Benzenos substituídos	Álcool benzílico	5 ACH, 1 ACCH ₂ , 1 OH
	Benzaldeído	5 ACH, 1 AC, 1 CHO
	Acetofenona	5 ACH, 1 AC, 1 CH ₃ CO
	Propifenona	1 CH ₃ , 5 ACH, 1 AC, 1 CH ₂ CO
	Clorobenzeno	5 ACH, 1 ACCl
	p-Nitrotolueno	4 ACH, 1 ACCH ₃ , 1 ACNO ₂
	Iodobenzeno	5 ACH, 1 AC, 1 I
	Nitrobenzeno	5 ACH, 1 ACNO ₂
Outros	1-indanona	4 ACH, 1 AC, 1 ACCH ₂ , 1 CH ₂ CO
	Naftol	7 ACH, 2 AC, 1 ACOH

Tabela A 6. Parâmetros de cada grupo utilizados nos cálculos do modelo UNIFAC original.

Subgrupo	R_k	Q_k
CH3	0,9011	0,848
CH2	0,6744	0,540
CH	0,4469	0,228
C	0,2195	0,000
CH=CH	1,1167	0,867
CH2=C	1,1173	0,988
CH=C	0,8886	0,676
C=C	0,6605	0,485
ACH	0,5313	0,400
AC	0,3652	0,120
ACCH3	1,2663	0,968
ACCH2	1,0396	0,660
ACCH	0,8121	0,348
OH	1,0000	1,200
CH3OH	1,4311	1,432
H2O	0,9200	1,400
ACOH	0,8952	0,680
CH3CO	1,6724	1,488
CH2CO	1,4457	1,180
CHO	0,9980	0,948
CH3COO	1,9031	1,728
CH3O	1,1450	1,088
COOH	1,3013	1,224
ACC1	1,1562	0,844
ACNO2	1,4199	1,104
I	1,2640	0,992
COO	1,3800	1,200

Tabela A 7. Parâmetros binários de interação de grupo (a_{mn}) utilizados nos cálculos do modelo UNIFAC original.

Subgrupo	CH2	C=C	ACH	ACCH2	OH	CH3OH	H2O	ACOH	CH2CO	CHO	COOH	ACCl	ACNO2	I	COO
CH2	0	86,02	61,13	76,5	986,5	697,2	1318	1333	476,4	677	663,5	321,5	543	335,8	387,1
C=C	-35,36	0	38,81	74,15	524,1	787,6	270,6	526,1	182,6	448,8	318,9	393,1	0	0	48,33
ACH	-11,12	3,446	0	167	636,1	637,3	903,8	1329	25,77	347,3	537,4	538,2	194,9	113,3	103,5
ACCH2	-69,7	-113,6	-146,8	0	803,2	603,2	5695	884,9	-52,1	586,6	603,8	-126,9	4448	0	69,26
OH	156,4	457	89,6	25,82	0	-137,1	353,5	-259,7	84	441,8	199	287,8	157,1	313,5	190,3
CH3OH	16,51	-12,52	-50	-44,5	249,1	0	-181	-101,7	23,39	306,4	-289,5	17,12	0	0	165,7
H2O	300	496,1	362,3	377,6	-229,1	289,6	0	324,5	-195,4	-257,3	-14,09	678,2	399,5	0	-197,5
ACOH	275,8	217,5	25,34	244,2	-451,6	-265,2	-601,8	0	-356,1	0	0	0	0	0	-494,2
CH2CO	26,76	42,92	140,1	365,8	164,5	108,7	472,5	-133,1	0	-37,36	669,4	174,5	0	53,59	-18,8
CHO	505,7	56,3	23,39	106	-404,8	-340,2	232,7	0	128	0	0	0	0	0	0
COOH	315,3	1264	62,32	268,2	-151	1020	-66,17	0	-297,8	0	0	0	0	0	-337
ACCl	-141,3	-158,8	-237,7	375,5	246,9	661,6	920,4	0	128,1	0	0	0	0	0	-145,1
ACNO2	5541	0	1824	-127,8	561,6	0	360,7	0	0	0	0	0	0	0	0
I	128	0	58,68	0	501,3	0	0	0	138	0	0	0	0	0	68,55
COO	529	1397	317,6	615,8	88,63	171	284,4	-167,3	123,4	0	1179	1107	0	288,1	0

Tabela A 8. Descritores moleculares do modelo de solvatação de Abraham dos solutos estudados neste trabalho [1].

Família	Soluto	E	S	A	B	V
G.U.E.S.S.	Cafeína	1,500	1,720	0,050	1,280	1,363
	Vanilina	1,040	1,330	0,290	0,690	1,131
	Umbeliferona	1,240	1,360	0,500	0,700	1,121
	Ácido ferúlico	1,110	1,460	0,850	0,870	1,429
	Ácido Salicílico	0,890	0,840	0,710	0,380	0,990
	Carvona	0,674	0,860	0,000	0,570	1,339
	Estradiol	1,800	1,770	0,860	1,100	2,199
	Ianona	0,875	0,900	0,000	0,500	1,761
	Triptofano	1,620	1,800	1,090	1,230	1,543
	Ácido clorogénico	2,090	2,530	2,020	2,250	2,416
	Aspirina	0,781	0,800	0,490	1,000	1,288
	Cumarina	1,060	1,760	0,000	0,430	1,062
	Quercetina	2,680	2,640	1,880	1,630	1,963
	Naringenina	2,230	2,190	1,300	1,140	1,889
Alquilbenzenos	Metilbenzeno	0,6010	0,5200	0,0000	0,1400	0,8573
	Etilbenzeno	0,6130	0,5100	0,0000	0,1500	0,9982
	Propilbenzeno	0,6040	0,5000	0,0000	0,1500	1,1391
	Butilbenzeno	0,6000	0,5100	0,0000	0,1500	1,2800
	Pentilbenzeno	0,5940	0,5100	0,0000	0,1500	1,4209
	Heptilbenzeno	0,5770	0,4800	0,0000	0,1500	1,7027
Outros compostos fenólicos	Fenol	0,8050	0,8900	0,6000	0,3000	0,7751
	m-cresol	0,8220	0,8800	0,5700	0,3400	0,9160
	o-cresol	0,8400	0,8600	0,5200	0,3000	0,9160
	Pirocatecol	0,9700	1,1000	0,8800	0,4700	0,8338
	Siringol	0,8400	1,4100	0,1300	0,7100	1,1743
	Trimetilfenol	0,8600	0,7900	0,3700	0,4400	1,1978
HAP	Naftaleno	1,3400	0,9200	0,0000	0,2000	1,0854
	Fluoreno	1,5880	1,0600	0,0000	0,2500	1,3565
	Antraceno	2,2900	1,3400	0,0000	0,2800	1,4544
	Criseno	2,7100	1,6600	0,0000	0,2900	1,8234
	Benzo(a)pireno	3,3200	1,8400	0,0000	0,3100	1,9536
Benzenos substituídos	Álcool benzílico	0,8030	0,8700	0,3900	0,5600	0,9160
	Benzaldeído	0,8200	1,0000	0,0000	0,3900	0,8730
	Acetofenona	1,0100	0,8200	0,0000	0,4800	0,8180
	Propifenona	0,8040	0,9500	0,0000	0,5100	1,1548
	Clorobenzeno	0,7180	0,6500	0,0000	0,0700	0,8388
	p-nitrotolueno	0,8700	1,1100	0,0000	0,2800	1,0315
	Iodobenzeno	1,1880	0,8200	0,0000	0,1200	0,9746
	Nitrobenzeno	0,8710	1,1100	0,0000	0,2800	0,8906
Outros	1-indanona	1,0300	1,1600	0,0000	0,4000	1,0462
	Naftol	1,5200	1,0800	0,6100	0,4000	1,1441

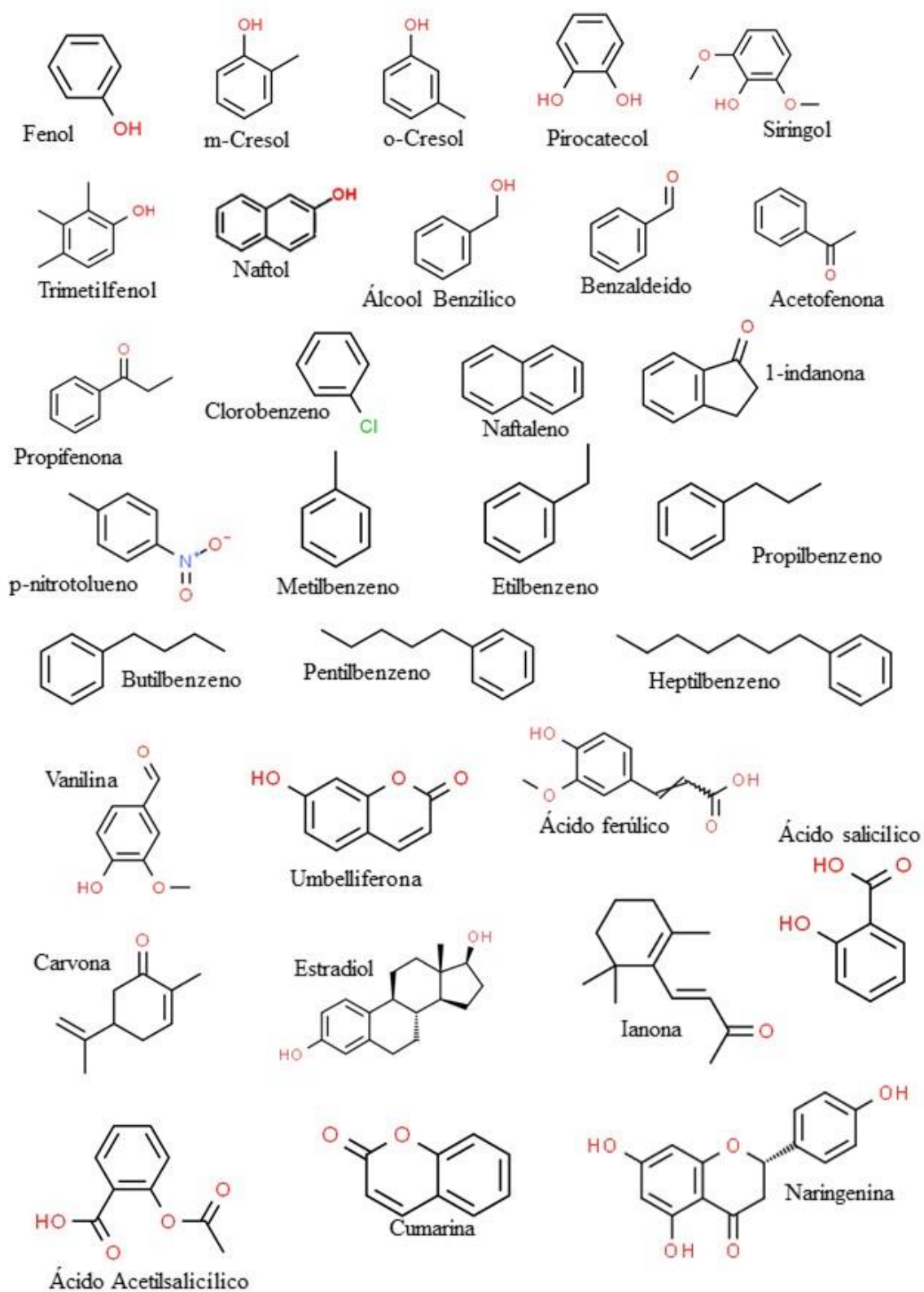


Figura A 1. Estrutura dos solutos utilizados.

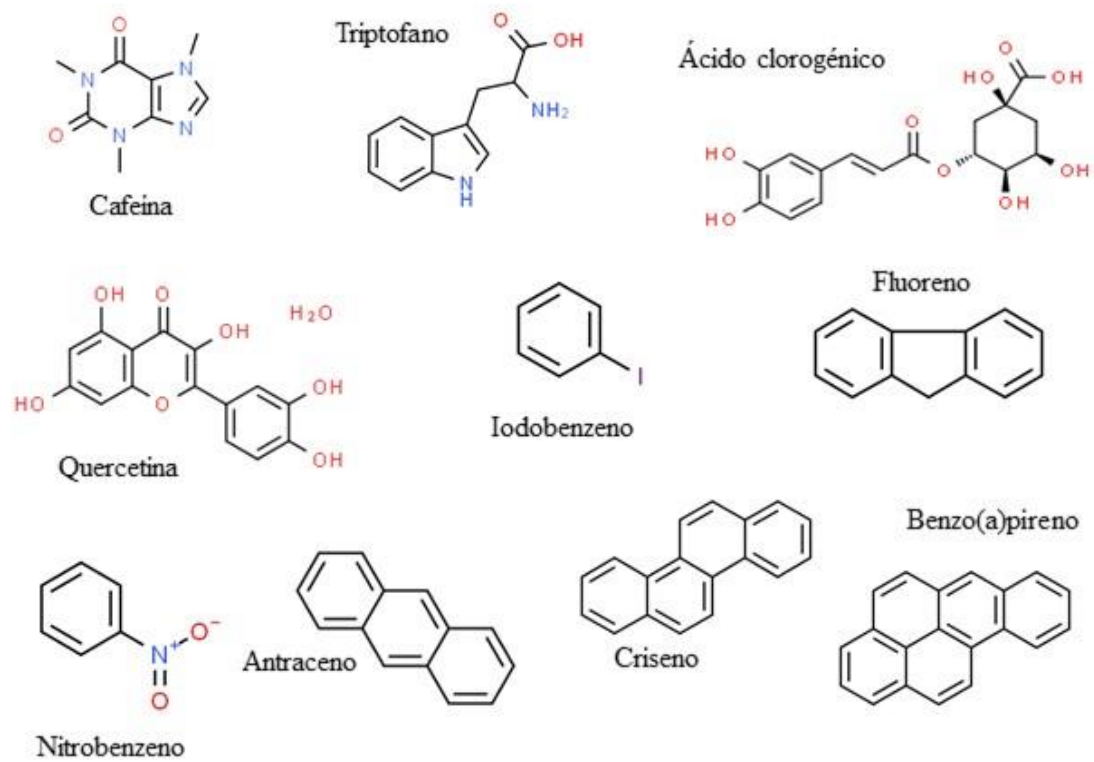


Figura A 1. (Continuação). Estrutura dos solutos utilizados.

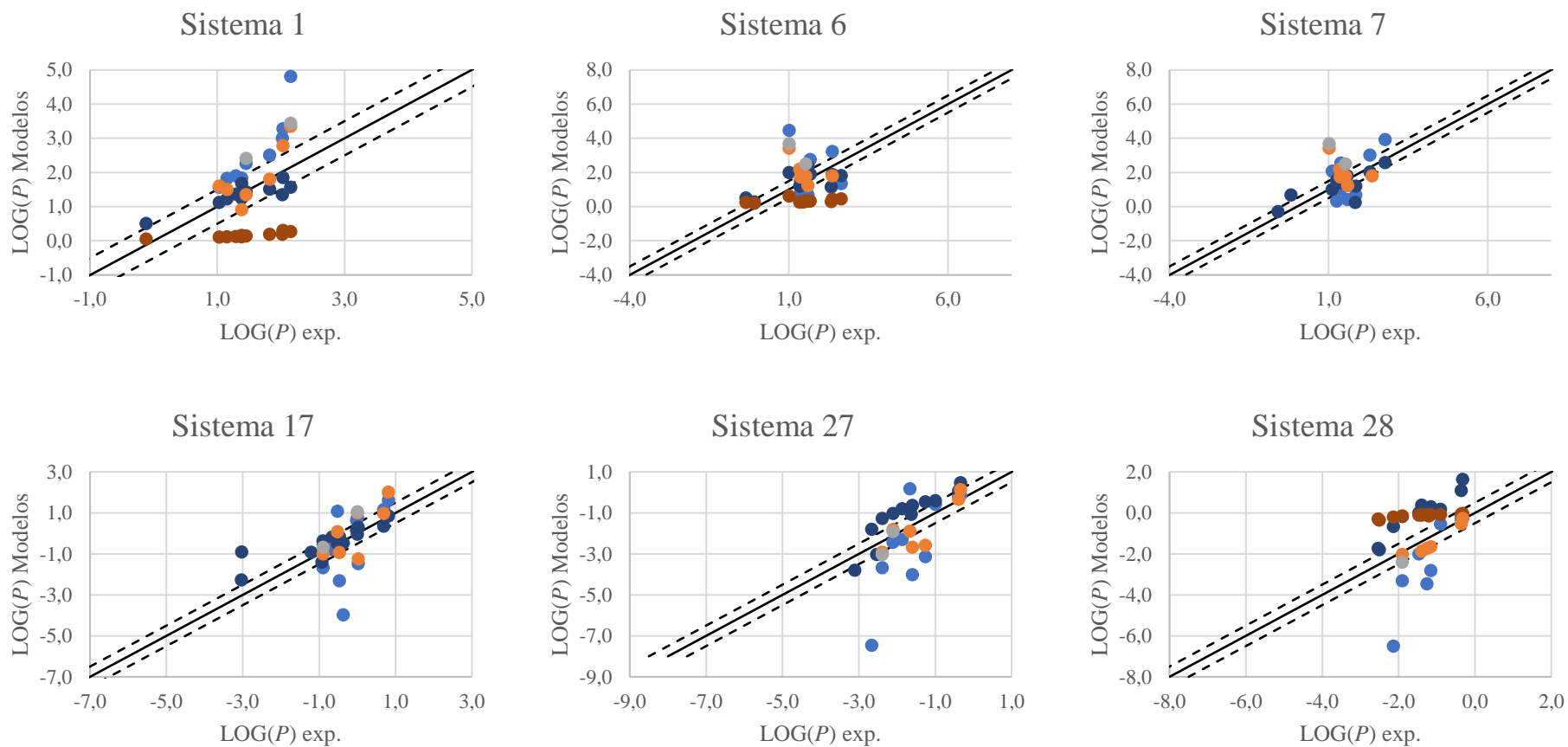


Figura A 2. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **compostos G.U.E.S.S.**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$.

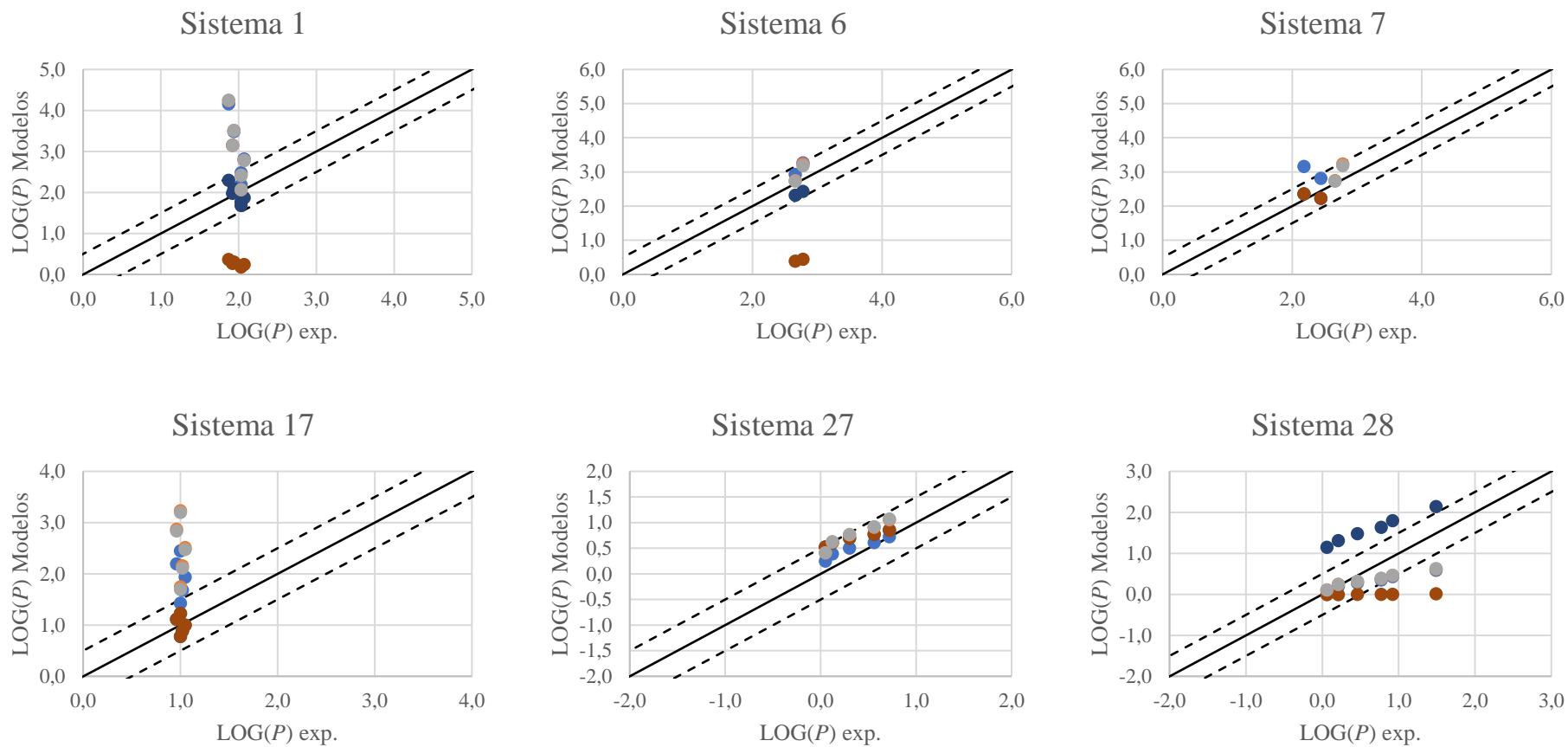


Figura A 3. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **Alquilbenzenos**. As linhas tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$.

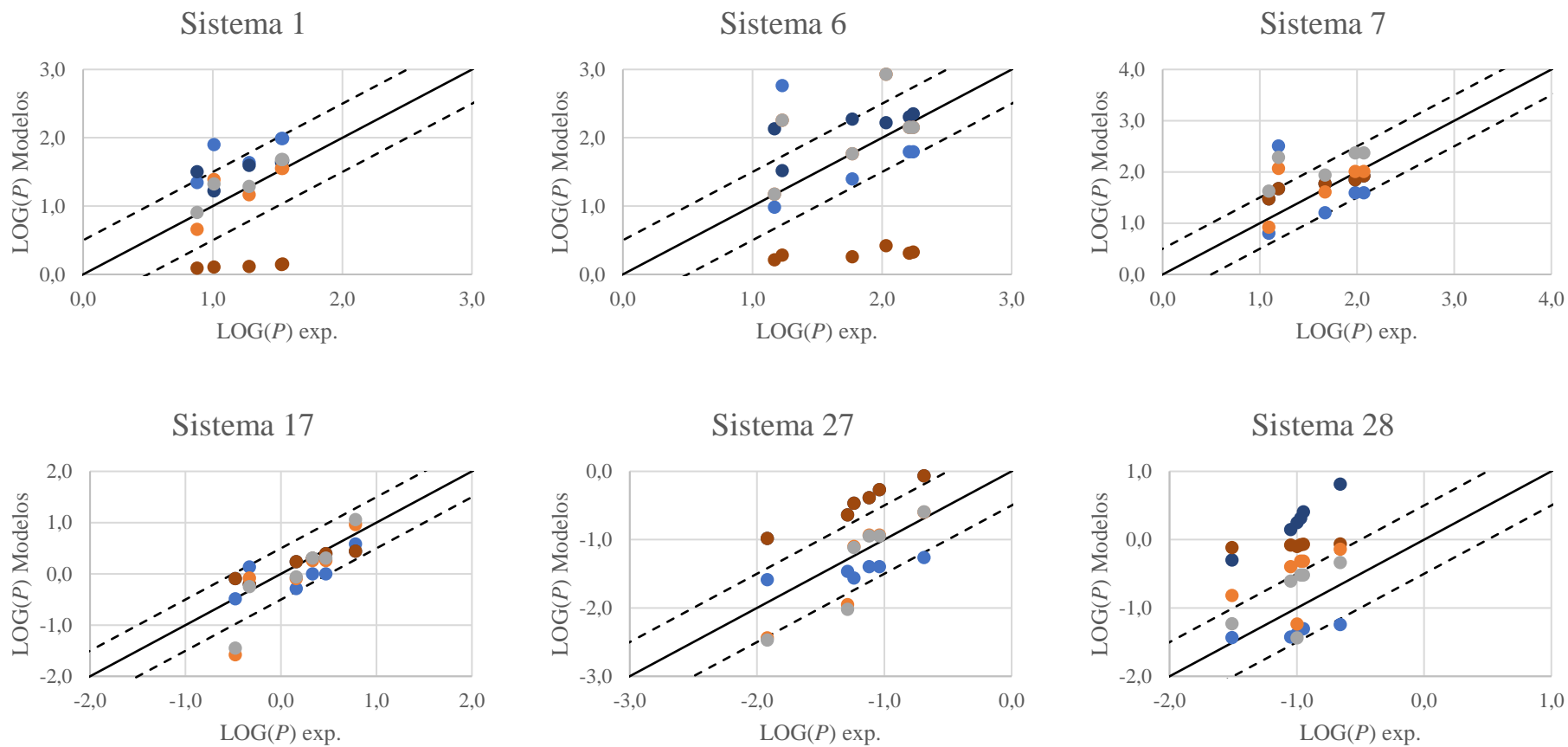


Figura A 4. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **outros compostos fenólicos**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$ e os círculos, os dados para a validação.

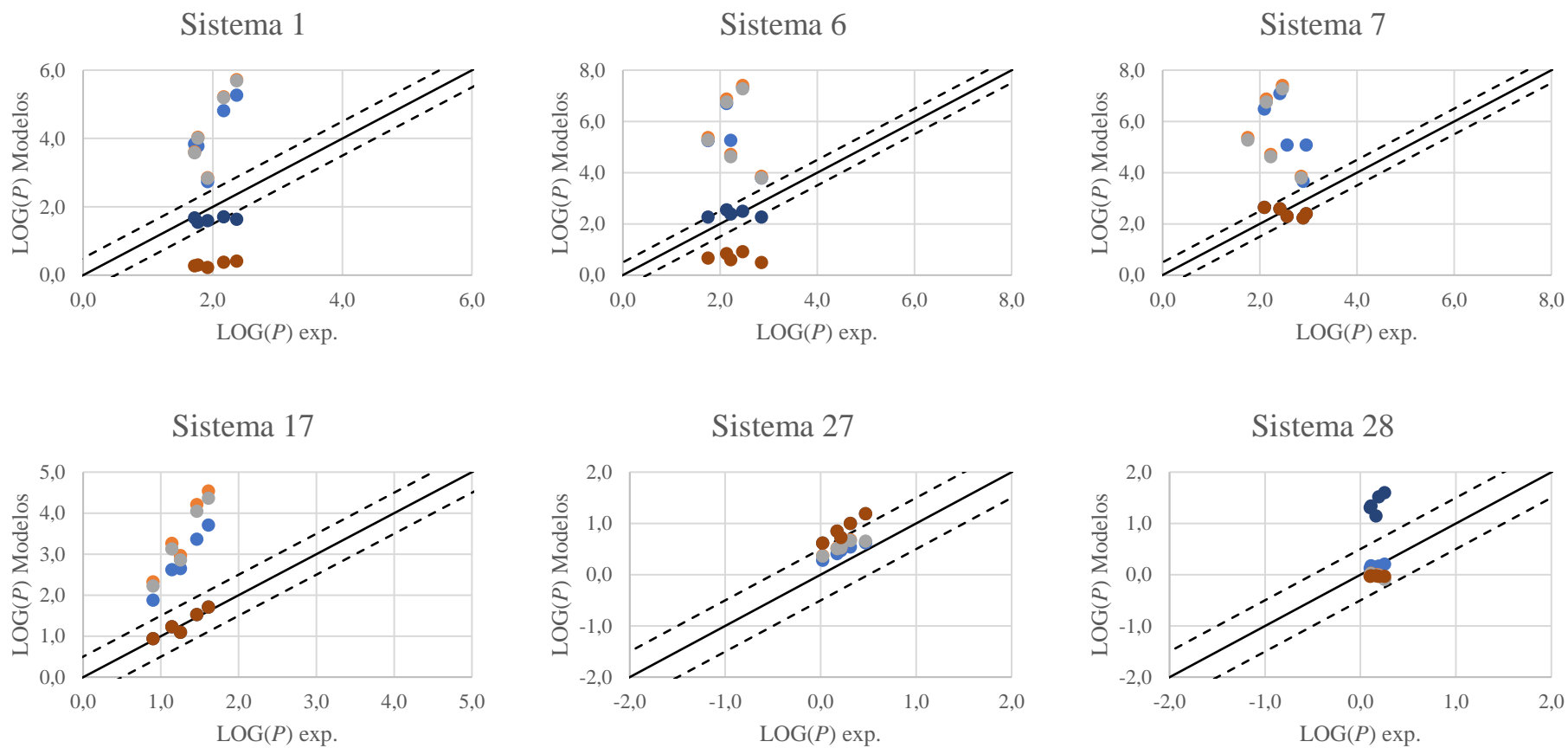


Figura A 5. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **HAP**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$.

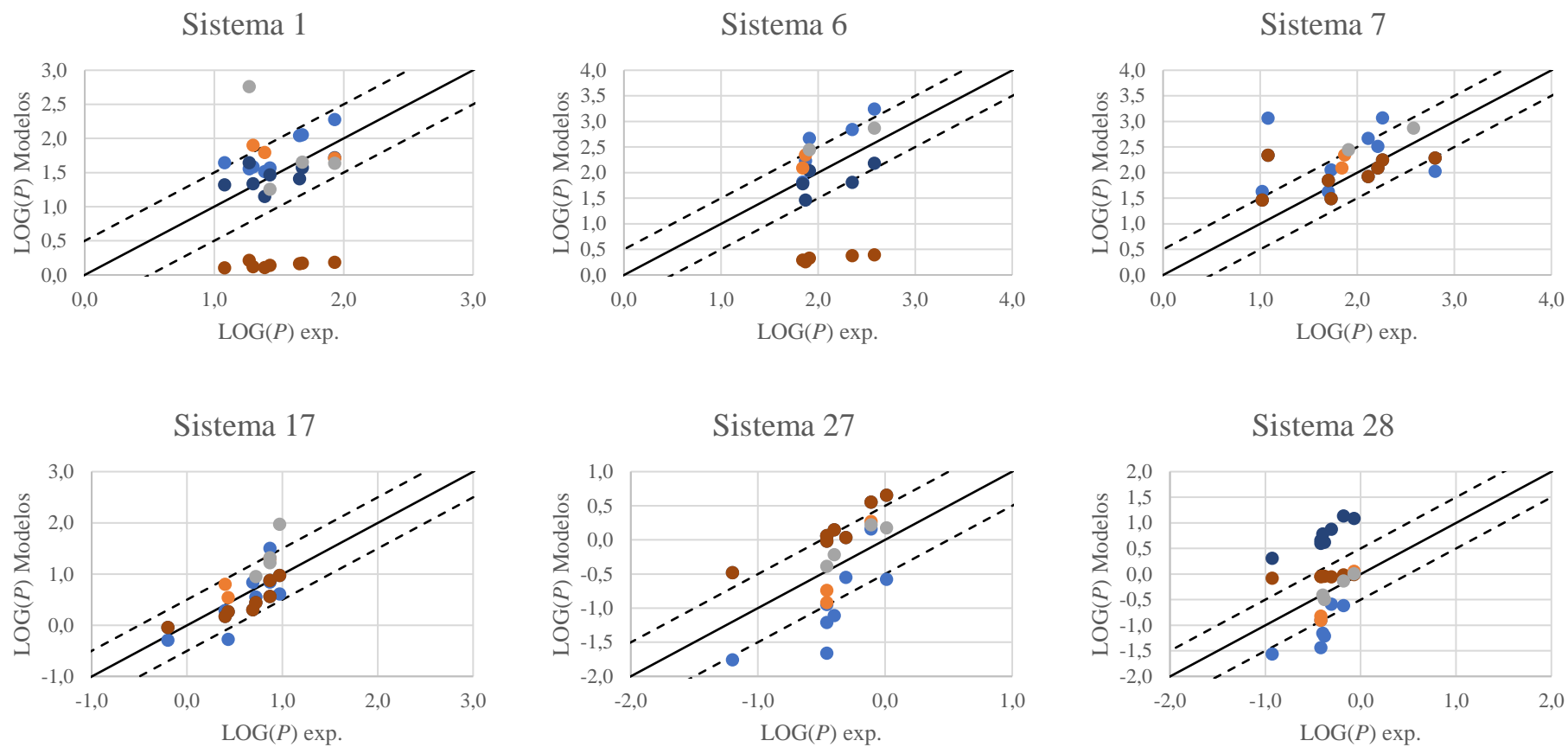


Figura A 6. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **Benzenos substituídos**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$.

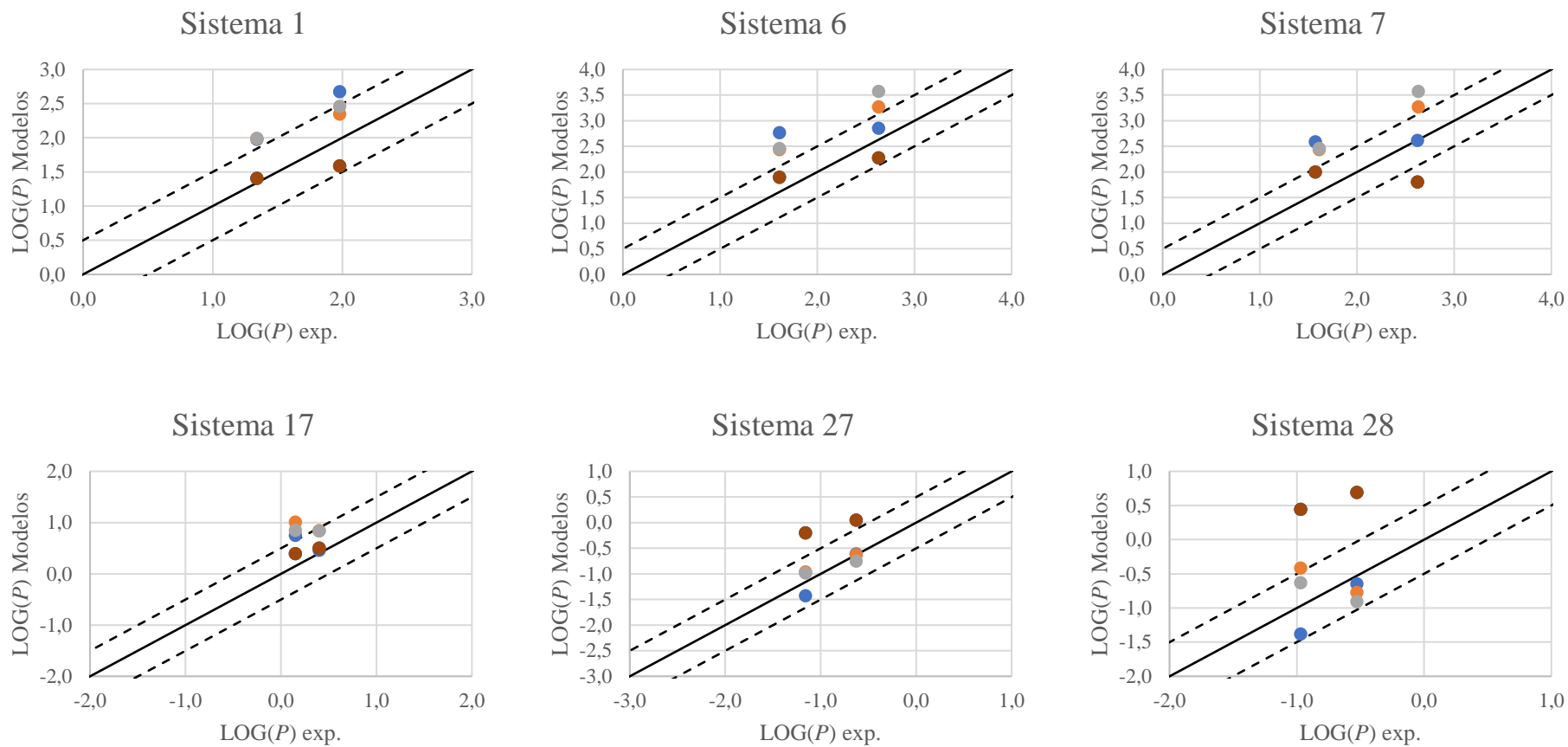


Figura A 7. Comparação dos valores do coeficiente de partição experimentais e do modelo UNIFAC original (●), modificado por Dortmund (●) e NIST (●), modelo de Abraham com os parâmetros de Marlot *et al.* [1] (●) e com os parâmetros de Acree e Abraham [42] (●) para a família dos **Outros**. As linhas a tracejado representam $\pm 0,5$ do valor de $\text{Log}(P)$ e os círculos, os dados para a validação.