

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

**CAROLINA RAÍSSA COSTA PICOSSI**

**Estudos termodinâmicos da incorporação de  
terpenos em micelas aquosas por cromatografia  
eletrocínética micelar**

Versão corrigida da dissertação conforme Resolução CoPGr 6018  
O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

**29/03/2018**

CAROLINA RAÍSSA COSTA PICOSSO

**Estudos termodinâmicos da incorporação de  
terpenos em micelas aquosas por cromatografia  
eletrocínética micelar**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química  
da Universidade de São Paulo para obtenção do  
Título de Mestre em Química.*

*Orientadora: Profa. Dra. Marina Franco Maggi Tavares*

São Paulo

2018



*Dedico esse trabalho a todos que de alguma forma  
contribuíram para que esse projeto fosse realizado.*

## AGRADECIMENTOS

Gratidão e amor são as palavras que melhor descrevem meus sentimentos pelas inúmeras pessoas que me ensinaram, auxiliaram, torceram, escutaram, se dedicaram e tantas infinitas coisas mais para que fosse possível a realização desse projeto.

Primeiramente, gostaria de agradecer à Deus por ser meu mestre e maior orientador em todas as etapas da vida.

À minha família, em especial minha mãe (Rosemeire) e minha avó (Maria Luiza), que eu amo incondicionalmente, que me estruturam, me fortalecem e que me ensinam valores humanos, que me fazem a cada dia uma pessoa melhor.

À Carla Gonçalves, por me ensinar tanto sobre amor, por ser tão presente nos meus dias, por ser mais que uma amiga, uma irmã. Por sempre me incentivar, apoiar e alegrar. Por ser luz.

À Beatriz Zeviani, por me ensinar o valor da amizade, por quem eu tenho uma infinita gratidão, especialmente, por ter sido tão essencial no dia da minha qualificação. Meu muito obrigada pelas conversas e palavras de incentivo, pela admiração e por dividir sonhos.

Ao Bruno Tappiz, grande amigo e significado de parceria. Obrigada por sempre me escutar, incentivar, apoiar e estar presente em todos os momentos. Obrigada pelos cafés, almoços e jantares nos bandejões da vida.

Ao Prof. Dr. João Pedro Simon Farah, pela grande amizade, por ter me ensinado tantos valores humanos, por ter se dedicado tanto nesse projeto, por ser grande inspiração, pelo conhecimento transmitido, por todo o bom humor, que tornam os dias mais leves e divertidos, por tantas coisas mais, por tudo. Esse trabalho é nosso. Sem ele nada seria possível.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marina Franco Maggi Tavares por ser tamanha inspiração, pela orientação, por contribuir para o meu crescimento pessoal e profissional, me incentivando e apoiando na participação de congressos e simpósios. Meu muito obrigada pela confiança e por ter acreditado na minha capacidade para realizar esse projeto.

À Gisele Canuto, pela amizade, e por me ensinar que distância é apenas uma palavra do dicionário quando uma ajuda é necessária. Meu muito obrigada pela dedicação para correção dessa dissertação e todas as conversas, trocas, palavras de apoio e incentivo.

À Natália Marchesan, por me ensinar sobre amizade, por todos os dias, pela atenção, conversas, apoio e incentivo. Obrigada por estar sempre perto, e por ter sido essencial durante essa trajetória.

À Andrea Faccio, pela amizade, pela alegria e agitação diária, por sempre se preocupar, apoiar, incentivar. Meu muito obrigada pela dedicação na correção dessa dissertação, e pelas figuras de CE.

À Ana Paula, por sempre ser tão doce e dedicada, por me escutar e incentivar – vai dar tudo certo.

Ao Daniel Rossado, por me ensinar tantos valores humanos, por ter sido meu primeiro e grande orientador no laboratório. Sem ele, o início jamais seria possível.

A Nicole Ennis, pela torcida e pelas trocas de ideias de eletroforese capilar em seu estágio no laboratório.

Ao Pedro Cruz, por todo incentivo, discussões e indicações de papers.

Ao Fábio Cardoso, por me ensinar sobre gratidão, por todas as discussões sobre eletroforese e MEKC, por sempre ser tão atencioso e dedicado.

À Adriana Nori, por todas as palavras, ajuda e incentivo.

À Rosilene Burgos por todo auxílio com impressão e entrega dessa dissertação.

À Nadine Santana, por sempre ser tão doce e dedicada ao próximo, obrigada pelas conversas e risadas.

À Ana Rosa Lins pelas palavras de incentivo, almoços e risadas.

À Karina Trevisan por ter me ensinado sobre eletroforese capilar, e por ter sido aquela que me ensinou a trabalhar no equipamento.

Aos demais colegas de laboratório, Loraine Togni, Aline Klassen, Aline Scarabelin, Amanda Veiga, Karen Ranochia e Maicon Moraes com os quais compartilhei ideias, risadas e experiências.

Aos alunos de pré-iniciação científica, João Alcântara e Gabriel, com os quais compartilhei ideias e aprendizado.

Às Faculdades Oswaldo Cruz (FOC) e todos seus professores, diretores e funcionários, que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação na graduação e início dessa jornada.

Aos amigos da FOC, em especial, Rodrigo Paghi, Maria Vitória, Marcella Garcia, Filipe Grillo, Vitória Maria, Cesar Pacheco, Amanda Cerqueira, Lívia Carolina, Paloma Kotani, Marcela Ferrazoli, Beatriz Alves, Keila Kiss, Sarah Araújo, Letícia Paulucci, Jacqueline Navarro, Artenisa Mauriz, Rafael Gomes, Lucas Santos, Gabriella Préquero, Isabella Alegri, Guilherme Nicodemos e Felipe Anchieta, por todas as palavras, conversas, risadas e aprendizado.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Às agências FAPESP e CAPES pelo auxílio financeiro.

*A vida é bela!*

*João Pedro Simon Farah*

## RESUMO

Picossi, C.R.C. **Estudos termodinâmicos da incorporação de terpenos em micelas aquosas por cromatografia eletrocínética micelar**. 2018. 157p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Terpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais e vêm sendo explorados há mais de 3500 anos pela humanidade. Por conta das suas propriedades flavorizantes, são amplamente empregados na indústria de cosméticos e perfumaria. Apresentam ainda uma infinidade de funções biológicas, como promoção de polinização nas plantas, e proteção contra pragas e animais. Além dessas funções, muitos compostos possuem ainda atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica, entre outras.

Tendo em vista a simplicidade estrutural dos terpenos e a alta hidrofobicidade que sugere fracas interações intermoleculares, é difícil de se imaginar como esses compostos conseguem desempenhar funções tão específicas e diversas. É de se esperar que quanto mais complexa a estrutura do composto, mais fácil seja seu reconhecimento pelo organismo. Isso mostra o grande poder de reconhecimento do meio biológico.

Nesse trabalho, os parâmetros termodinâmicos de transferência da fase aquosa para a fase micelar de 10 terpenos (carvona, cânfora, cumeno, t-anetol, eugenol, limoneno, citronelal, linalol, terpineol e verbenona) e cumarina em dois sistemas, SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> e SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> + 10% v/v de etanol foram determinados buscando elucidar a incorporação micelar desses compostos.

Micelas apresentam compartimentos com diferentes polaridades e podem servir como modelo para mimetizar as diferentes interações no meio biológico. Dessa forma, a utilização da cromatografia eletrocínética micelar (MEKC, do inglês *Micellar Electrokinetic Chromatography*) na determinação dos coeficientes de partição e dos parâmetros termodinâmicos de transferência entre as fases aquosa e micelar desses solutos pode contribuir para o entendimento da distribuição bem como auxiliar na compreensão das funções que os mesmos desempenham na natureza.

A hipótese de que os parâmetros termodinâmicos podem elucidar detalhes da incorporação micelar foi ainda testada através da busca de relações lineares de energia de solvatação (LSER, do inglês *Linear Solvation Energy Relationships*) com o intuito de evidenciar as principais características moleculares que contribuem para o processo de

transferência. Os modelos LSER foram estudados através de regressão múltipla e análises multivariadas de PLS, SPLS, PLS-DA e SPLS-DA, com o objetivo de verificar as propriedades dos terpenos que explicam sua incorporação nas micelas.

Outras análises estatísticas multivariadas, como análise de agrupamentos e PCA, foram utilizadas para estudar a variabilidade estrutural dos compostos selecionados, bem como, determinar se os descritores teóricos calculados conseguem descrever as características estruturais dos terpenos.

O estudo da termodinâmica de transferência de solutos neutros da fase aquosa para a fase micelar demonstrou que mesmo pequenas diferenças estruturais das moléculas contêm informação sobre a distribuição dos compostos nos compartimentos micelares. Também pode-se inferir sobre o efeito do etanol nas partições e sobre a própria estrutura micelar. Os resultados para o limoneno mostraram a complexidade envolvida nas partições, levando a ideia de restrição de volume nas micelas modificadas por álcool.

Resultados de LSER mostraram que a transferência da fase aquosa para a fase micelar desses compostos é governada principalmente pela interação hidrofóbica onde  $Vx$  (Volume de McGowan) foi selecionado como um dos descritores mais importantes para explicar  $\ln P$ .

A análise comparativa dos resultados obtidos pelos dois métodos (estudo dos parâmetros termodinâmicos e LSER) indicou similaridade de resultados. Isso demonstra a grande confiabilidade dos resultados e, então, que estudos similares usando outras soluções micelares e outras classes de compostos (hormônios, flavonoides, aminas, etc.) podem ser muito promissores.

**Palavras-chave:** terpenos, coeficiente de partição micela-água, incorporação micelar, eletroforese capilar, cromatografia eletrocínética micelar.

## ABSTRACT

Picossi, C.R.C. **Thermodynamics studies of terpenes incorporation into aqueous micelles by micelar electrokinetic chromatography**. 2018. 157p. Masters Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Terpenes are the main constituents of essential oils and have been explored for more than 3,500 years. Because of their flavoring properties, terpenes are widely used in the cosmetics and perfumery industry. They also exert a multitude of ecological functions, such as the promotion of plant pollination and protection against pests and animals. In addition, many compounds have antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory activities and others.

Given the structural simplicity of terpenes and the high hydrophobicity that suggests weak intermolecular interactions, it is difficult to imagine how these compounds can perform such specific and diverse functions. It is expected that the more complex the structure of the compound, the easier it is its recognition by the organism, which does not seem to be true for this class showing the great power of recognition of the biological system.

In this work, the thermodynamic parameters of aqueous and micellar phase transfer of ten terpenes (carvone, camphor, cumene, t-anethol, eugenol, limonene, citronellal, linalool, terpineol, and verbenone) and coumarin in two systems, 30 mmol.kg<sup>-1</sup> of SDS + 20 mmol.kg<sup>-1</sup> of TBS and 30 mmol.kg<sup>-1</sup> of SDS, 20 mmol.kg<sup>-1</sup> of TBS, and 10% v/v of ethanol were determined to elucidate the micellar distribution of these compounds.

Micelles have compartments that possess different polarities and might be a model to mimic the different interactions that terpenes may have in the biological environment. Thus, the use of micellar electrokinetic chromatography (MEKC) in the determination of the partition coefficients and the thermodynamic parameters of transfer of the aqueous phase to the micellar phase of these solutes can contribute to the understanding of the distribution, as well as help in the understanding of the functions they perform in nature.

The hypothesis that the thermodynamic parameters can elucidate details of the micellar incorporation was further analyzed through the search of Linear Solvation Energy Relationships (LSER), in order to highlight the main molecular characteristics that contribute to the transfer process. The LSER models were studied through multiple regression and other multivariate analyzes, such as PLS, SPLS, PLS-DA and SPLS-DA, in order to verify the properties of terpenes that explain their incorporation into micelles.

Other multivariate statistical analysis, such as cluster analysis and PCA were used to study the structural variability of the selected compounds, as well as to determine if the calculated theoretical descriptors can describe all the structural characteristics of the terpenes.

The study of thermodynamics of transfer of neutral solutes from the aqueous phase to the micellar phase has shown that even small structural differences of the molecules contain information about the distribution of the compounds in the micellar compartments. It was also possible to infer about the effect of ethanol on the partitions and on the micellar structure. The results for limonene showed the complexity involved in the partitions, showing that occurs volume restriction in alcohol-modified micelles.

Results from LSER showed that the transfer of these compounds is mainly governed by hydrophobic interactions where  $V_x$  (McGowan volume) was selected as one of the most important descriptors to explain partition.

The comparative analysis of the results obtained by the two methods (thermodynamic parameters studies and LSER) indicated similarity of results. This demonstrates the great reliability of the methods, and that similar studies using other micellar solutions and other classes of compounds (hormones, flavonoids, amines, etc.) might be very promising.

**Keywords:** terpenes, micelle-water partition coefficient, micellar incorporation, capillary electrophoresis, micelar electrokinetic chromatography.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

adjr2 – Coeficiente de determinação ajustado

Artpho – Razão de áreas de hidrogênio ligado a carbono sobre a área total

C – Condutividade

CE – eletroforese capilar (do inglês, *capillary electrophoresis*)

cmc – concentração micelar crítica

CZE – eletroforese capilar de zona (do inglês, *capillary zone electrophoresis*)

Dipcm2Tot – Dipolo CM2 total

Dipcm2X – Componente X do dipolo CM2

Dipcm2Y – Componente Y do dipolo CM2

Dipcm2Z – Componente Z do dipolo CM2

DM\_hybT – Componente do dipolo que vem da contribuição dos orbitais híbridos, p e d total

DM\_hybX – Componente do dipolo que vem da contribuição dos orbitais híbrido, p e d (eixo X)

DM\_hybY – Componente do dipolo que vem da contribuição dos orbitais híbridos, p e d (eixo Y)

DM\_hybZ – Componente do dipolo que vem da contribuição dos orbitais híbridos, p e d (eixo Z)

DM\_ptchT – Contribuição da carga atômica CM2 total para o dipolo

DM\_ptchX – Contribuição da carga atômica CM2 parcial (eixo X) para o dipolo

DM\_ptchY – Contribuição da carga atômica CM2 parcial (eixo Y) para o dipolo

DM\_ptchZ – Contribuição da carga atômica CM2 parcial (eixo Z) para o dipolo

DM\_sumT – Somatória dos dipolos totais

DM\_sumX – Componente X da somatória dos dipolos

DM\_sumY – Componente Y da somatória dos dipolos

DM\_sumZ – Componente Z da somatória dos dipolos

EOF – Fluxo Eletrosmótico

EtOH – Etanol

F- F de Fisher

*fp* – F parcial

HOMO – Energia do HOMO

INT-E – interface externa

INT-I – interface interna

LFER – relações lineares de energia livre (do inglês, *Linear Free-energy Relationships*)

LiPFOS – Perfluorooctanato sulfonato de sódio

LSER – relações lineares de energia de solvatação, (do inglês, *Linear Solvation Energy Relationships*)

LUMO – Energia do LUMO

MaxcH – Máxima carga CM2 de hidrogênio

MaxcO – Máxima carga CM2 de oxigênio

MaxmH – Máxima carga Mulliken de hidrogênio

MaxmO – Máxima carga Mulliken de oxigênio

MC – miolo micelar

MEKC – Cromatografia Eletrocínética Micelar ( do inglês, *Micellar Electrokinetic Chromatography* )

MLC – Cromatografia Líquida Micelar (do inglês, *Micellar Liquid Chromatography*)

MSEP – erro quadrático médio da predição (do inglês, *Mean Square Prediction Error*)

MSR – Razão de solubilização micelar

mxcpho – Máxima carga CM2 de hidrogênio ligado a carbono

mxmpho – Máxima carga Mulliken de hidrogênio ligado a carbono

NMR – Ressonância Magnética Nuclear ( do inglês, *Nuclear Magnetic Resonance*)

P – Coeficiente de partição entre a fase micelar e a fase aquosa

PCA - análise de componentes principais (do inglês *Principal Component Analysis*)

PLS - regressão por mínimos quadrados parciais (do inglês, *Partial Least Squares Analysis*)

PLS-DA – análise discriminante de regressão por mínimos quadrados parciais (do inglês, *Partial Least Squares Discriminant Analysis*)

Pms – Coeficiente de partição entre a fase micelar e fase estacionária

Pow – Coeficiente de partição octanol-água

PRESS – Soma dos quadrados dos resíduos preditos (do inglês, *Predicted Residual Error Sum of Squares*)

Pwm – Coeficiente de partição entre a fase aquosa e a fase micelar

Pws – Coeficiente de partição entre a fase aquosa e a fase estacionária

QADcH – máxima  $\{(0.5*(\text{carga CM2 do primeiro hidrogênio} + \text{carga CM2 do segundo hidrogênio})*(\text{área do primeiro hidrogênio} + \text{área do segundo hidrogênio})/\text{distância entre eles}\}$

QADmH – máxima  $\{(0.5*(\text{carga Mulliken do primeiro hidrogênio} + \text{carga Mulliken do segundo hidrogênio})*(\text{área do primeiro hidrogênio} + \text{área do segundo hidrogênio})/\text{distância entre eles}\}$

QSRR – relações quantitativas estrutura-retenção (do inglês *Quantitative Structure – (chromatographic) Retention Relationships*)

rahcc – Razão de áreas de hidrogênio ligado a carbono sobre a área total de hidrogênio

RAmxmh – AreaH de max carga Mull / Areatot de H

RATH – Razão de áreas de hidrogênio sobre a área total da estrutura.

RATO – Razão de áreas de oxigênio sobre a área total da estrutura.

RelacH – Somatória de cargas CM2 de hidrogênio sobre a área de hidrogênio

RelamH – Somatória de cargas Mulliken de hidrogênio sobre a área de hidrogênio

RelaTcH – Somatória de cargas CM2 de hidrogênio sobre a área total da estrutura

RelaTcO – Somatória de cargas CM2 de oxigênio sobre a área total da estrutura

RelaTmH – Somatória de cargas Mulliken de hidrogênio sobre a área de hidrogênio

RelaTmO – Somatória de cargas Mulliken de oxigênio sobre a área de oxigênio

RPLC – Cromatografia Líquida de Fase Reversa (do inglês, *Reversed-Phase Liquid Chromatography*)

rse – erro residual padrão (do inglês, *residual standard error*)

rss – soma dos quadrados dos resíduos (do inglês, *residual sum of squares*)

SaH – Somatória de áreas de hidrogênio

SaO – Somatória de áreas de oxigênio

SC – Colato de sódio

ScH – Somatória de cargas CM2 de hidrogênio

ScO – Somatória de cargas CM2 de oxigênio

SDS – dodecil sulfato de sódio

SiOH – Silanol

SL – camada de solvatação

SmaH – Somatória de carga Mulliken vezes área de hidrogênio

SmaO – Somatória de carga Mulliken vezes área de oxigênio

SPLS – regressão por mínimos quadrados parciais esparsa (do inglês, *Sparse Partial Least Squares Analysis*)

SPLS-DA - análise discriminante de regressão por mínimos quadrados parciais esparsa (do inglês, *Sparse Partial Least Squares Discriminant Analysis*).

SrcH – Somatória de carga CM2 sobre área de hidrogênio

SrcO – Somatória de carga CM2 sobre área de oxigênio

SrmH – Somatória de carga Mulliken sobre área de hidrogênio

SrmO – Somatória de carga Mulliken sobre área de oxigênio

UV – Ultravioleta

V<sub>x</sub> – Volume de McGowan

$\Delta H_f$  – Entalpia de formação

$\Delta H^t$  – Entalpia de transferência

$\Delta S^t$  – Entropia de transferência

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fórmula estrutural dos mono- e sesquiterpenos presentes no estudo ((a) eugenol, (b) linalol, (c) cânfora, (d) citronelal, (f) verbenona, (g) carvona, (h) terpineol, (i) limoneno, (j) *p*-cumeno e (k) *t*-anetol) e (e) cumarina. 31
- Figura 2. Representação dos sistemas micelares estudados. (A) SDS/TBS, (B) SDS/TBS/EtOH 36
- Figura 3. Ambientes de solubilização de compostos em micelas. 37
- Figura 4. Variação de propriedades físico-químicas em função da porcentagem de SDS. 38
- Figura 5. Representação hipotética de uma determinação de cmc via condutividade. 39
- Figura 6. Representação esquemática das mudanças que ocorrem na solução quando da presença do efeito hidrofóbico. 46
- Figura 7. Representação esquemática da migração (à esquerda) e ordem de eluição (à direita) de compostos aniônicos (-), neutros (0) e catiônicos (+) em uma separação realizada por CZE. 52
- Figura 8. Representação esquemática de um fluxo induzido por pressão (laminar) e um fluxo induzido por um campo elétrico (eletrosmótico) e correspondente efeito na variação de distribuição temporal (à direita). Adaptado de Tavares<sup>78</sup>. 53
- Figura 9. Representação esquemática da migração (à esquerda) e ordem de eluição (à direita) de compostos em uma separação realizada por MEKC. 55
- Figura 10. Representação esquemática das mudanças que ocorrem na fase aquosa quando da transferência de um soluto da fase gasosa para essa fase. 63
- Figura 11. Grupos obtidos na análise de agrupamentos considerando todos os descritores teóricos calculados. 78

Figura 12. Grupos obtidos na análise de cluster quando variáveis correlacionadas são removidas do modelo.	79
Figura 13. Gráfico de PCA baseados em descritores teóricos para os terpenos em estudo.	80
Figura 14. Gráficos de condutividade em função da concentração molal de SDS para o sistema SDS/TBS para obtenção de cmc em função da temperatura.	84
Figura 15. Gráfico da concentração micelar crítica (cmc) em função da temperatura (T) para o sistema SDS + TBS 20 mmol.kg <sup>-1</sup> .	85
Figura 16. Gráfico da concentração micelar crítica (cmc) em função da temperatura para o sistema SDS + TBS 20mmol.kg <sup>-1</sup> + EtOH 10% v/v.	87
Figura 17. Gráfico da concentração micelar crítica (cmc) em função da temperatura para o sistema os sistemas SDS + TBS 20mmol.kg <sup>-1</sup> (pontilhado em preto) e para o sistema SDS + TBS 20mmol.kg <sup>-1</sup> + 10% v/v de EtOH (pontilhado em vermelho).	88
Figura 18. Gráficos de vant't Hoff (ajuste linear e polinomial de segundo grau) para a cânfora no sistema formado por SDS, TBS e EtOH (à esquerda) e seus respectivos gráficos de resíduos (à direita). Legenda: (I) regressão linear, (II) regressão polinomial do segundo grau, (III) regressão linear retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a reta obtida em I e (IV) regressão polinomial do segundo grau retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a curva obtida em (II).	96
Figura 19. Gráficos de vant't Hoff (ajuste linear e polinomial de segundo grau) para a citronelal no sistema formado por SDS, TBS e EtOH (à esquerda) e seus respectivos gráficos de resíduos (à direita). Legenda: (I) regressão linear, (II) regressão polinomial do segundo grau, (III) regressão linear retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a reta obtida em I e (IV) regressão polinomial do segundo grau retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a curva obtida em (II).	97
Figura 20. Gráfico de ln <i>P</i> 35,4°C versus <i>V</i> <sub>x</sub> para o sistema formado por SDS/TBS.	104

Figura 21. Hipótese de localização dos compostos nas micelas de SDS no sistema formado por SDS 30 mmol.kg <sup>-1</sup> e TBS 20 mmol.kg <sup>-1</sup> baseando-se na LSER ln <i>P</i> versus <i>V<sub>x</sub></i> .	104
Figura 22. Gráfico de ln <i>P</i> 48,3°C versus <i>V<sub>x</sub></i> dos terpenos para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH.	106
Figura 23. Hipótese de localização dos compostos nas micelas de SDS no sistema formado por SDS 30mmol.kg <sup>-1</sup> , TBS 20mmol.kg <sup>-1</sup> e EtOH 10% v/v baseando-se na LSER ln <i>P</i> versus <i>V<sub>x</sub></i> .	106
Figura 24. Gráfico de ln <i>P</i> 39,9°C versus <i>SmaO</i> para o sistema formado por SDS/TBS e seu respectivo gráfico de resíduos.	108
Figura 25. Gráficos de resíduos para ln <i>P</i> versus <i>SmaO</i> para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH para 27,1 e 31,2°C.	109
Figura 26. Gráficos de resíduos para ln <i>P</i> versus <i>SmaO</i> para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH para 35,4 e 39,9°C.	109
Figura 27. Gráficos de resíduos para ln <i>P</i> versus <i>SmaO</i> para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH para 44,1 e 48,3°C.	110
Figura 28. Gráfico de ln <i>P</i> 48,3°C versus <i>SmaO</i> para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH retirando-se o <i>outlier</i> citronelal, e seu respectivo gráfico de resíduos.	110
Figura 29. Gráficos de resíduos para as regressões múltiplas ln <i>P</i> versus <i>ScH</i> e <i>V<sub>x</sub></i> (27,1°C) e <i>RelaTcH</i> e <i>V<sub>x</sub></i> (para as demais temperaturas), no sistema formado por SDS/TBS, para as temperaturas trabalhadas em MEKC.	112
Figura 30. Gráficos de ln <i>P</i> versus <i>SmO</i> e <i>V<sub>x</sub></i> com o respectivo gráfico de resíduos (à direita) para o sistema formado por SDS/TBS, retirando t-anetol, a 27,1°C.	113
Figura 31. Gráficos de ln <i>P</i> versus <i>RATO</i> e <i>V<sub>x</sub></i> com o respectivo gráfico de resíduos (à direita) para o sistema formado por SDS/TBS, retirando t-anetol, à 31,2°C.	113

Figura 32. Gráficos de $\ln P$ versus <b>RATO</b> e <b>Vx</b> com o respectivo gráfico de resíduos (à direita) para o sistema formado por SDS/TBS, retirando t-anetol, à 35,4°C.	114
Figura 33. Gráficos de $\ln P$ versus <b>SaH</b> e <b>ScO</b> com o respectivo gráfico de resíduos (à direita) para o sistema formado por SDS/TBS, retirando t-anetol, à 39,9°C.	114
Figura 34. Gráficos de $\ln P$ versus <b>SaH</b> e <b>ScO</b> com o respectivo gráfico de resíduos (à direita) para o sistema formado por SDS/TBS, retirando t-anetol, à 44,1°C.	115
Figura 35. Gráficos de $\ln P$ versus <b>MaxcO</b> e <b>RelacH</b> com o respectivo gráfico de resíduos (à direita) para o sistema formado por SDS/TBS, retirando t-anetol, à 48,3°C.	115
Figura 36. Gráficos de resíduos para as LSER múltiplas obtidas utilizando todos os terpenos no sistema formado por SDS/TBS/EtOH.	118
Figura 37. Gráficos de resíduos para as LSER obtidas no sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando cumeno (à esquerda), e seu respectivo gráfico de $\ln P$ calculado versus experimental para 27,1°C (à direita).	119
Figura 38. Gráficos de resíduos para as LSER obtidas no sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando cumeno (à esquerda), e seu respectivo gráfico de $\ln P$ calculado versus experimental para 31,2°C (à direita).	119
Figura 39. Gráficos de resíduos para as LSER obtidas no sistema formado por SDS/TBS/ EtOH, retirando cumeno (à esquerda), e seu respectivo gráfico de $\ln P$ calculado versus experimental para 35,4°C (à direita).	120
Figura 40. Gráficos de resíduos para as LSER obtidas no sistema formado por SDS/TBS/ EtOH, retirando cumeno (à esquerda), e seu respectivo gráfico de $\ln P$ calculado versus experimental para 39,9°C (à direita).	120
Figura 41. Gráficos de resíduos para as LSER obtidas no sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando cumeno (à esquerda), e seu respectivo gráfico de $\ln P$ calculado versus experimental para 44,1°C (à direita).	121

- Figura 42. Gráficos de resíduos para as LSER obtidas no sistema formado por SDS/TBS/ EtOH, retirando cumeno (à esquerda), e seu respectivo gráfico de  $\ln P$  calculado versus experimental para cada 48,3°C (à direita). 121
- Figura 43. Gráficos de  $\ln P$  versus variáveis escolhidas nos modelos LSER com o respectivo gráfico de resíduos para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando-se cumeno e citronelal, para a temperatura de 27,1°C. 123
- Figura 44. Gráficos de  $\ln P$  versus variáveis escolhidas nos modelos LSER com o respectivo gráfico de resíduos para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando-se cumeno e citronelal, para a temperatura de 31,2°C. 123
- Figura 45. Gráficos de  $\ln P$  versus variáveis escolhidas nos modelos LSER com o respectivo gráfico de resíduos para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando-se cumeno e citronelal, para a temperatura de 35,4°C. 124
- Figura 46. Gráficos de  $\ln P$  versus variáveis escolhidas nos modelos LSER com o respectivo gráfico de resíduos para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando-se cumeno e citronelal, para a temperatura de 39,9°C. 124
- Figura 47. Gráficos de  $\ln P$  versus variáveis escolhidas nos modelos LSER com o respectivo gráfico de resíduos para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando-se cumeno e citronelal, para a temperatura de 44,1°C. 125
- Figura 48. Gráficos de  $\ln P$  versus variáveis escolhidas nos modelos LSER com o respectivo gráfico de resíduos para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando-se cumeno e citronelal, para a temperatura de 48,3°C. 125
- Figura 49. Gráficos de SPLS para ambos os sistemas micelares ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), utilizando classes definidas pelas características estruturais dos compostos como variável dependente do modelo. 127
- Figura 50. Gráficos de *loadings* para as separações do modelo SPLS para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), quando as classes são definidas como a variável dependente do modelo. 129

Figura 51. Gráficos de barra de <i>loadings</i> dos descritores que mais contribuem para as separações encontradas no modelo SPLS, utilizando as classes como variável dependente para ambos os sistemas: (a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH.	129
Figura 52. Gráficos de SPLS para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH) utilizando $\Delta H'$ como variável dependente do modelo.	130
Figura 53. Gráficos de SPLS para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/ EtOH) utilizando $\Delta S'$ como variável dependente do modelo.	131
Figura 54. Gráficos de SPLS para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/ EtOH), utilizando $\ln P$ 35,4°C como variável dependente do modelo.	133
Figura 55. Gráficos de SPLS-DA para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), utilizando as classes como variável dependente do modelo.	134
Figura 56. Gráficos de <i>loadings</i> para as separações do modelo SPLS-DA para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), quando as classes são selecionadas como variável dependente.	135
Figura 57. Gráficos de barras de <i>loadings</i> para as separações do modelo SPLS-DA para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), quando as classes são selecionadas como variável dependente.	135
Figura 58. Gráficos de setas do modelo SPLS-DA para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), quando as classes são selecionadas como variável dependente.	136
Figura 59. Gráficos de SPLS-DA para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), utilizando $\Delta H'$ como variável dependente do modelo.	136
Figura 60. Gráficos de SPLS-DA para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), utilizando $\Delta S'$ como variável dependente do modelo.	137
Figura 61. Gráficos de SPLS-DA para ambos os sistemas ((a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH), utilizando $\ln P$ 35,4°C como variável dependente do modelo.	137

- Figura 62. Gráfico de ordenação de  $\Delta H^t$  de terpenos para ambos os sistemas estudados: (a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH. 138
- Figura 63. Gráfico de SPLS-DA para SDS/TBS (à esquerda) e gráfico de setas (à direita), utilizando os valores de  $\Delta H^t$  como classificador das classes. 139
- Figura 64. Gráfico de SPLS-DA para SDS/TBS/EtOH (à esquerda) e gráfico de setas (à direita), utilizando os valores de  $\Delta H^t$  como classificador das classes. 139
- Figura 65. Gráfico de SPLS-DA para SDS/TBS (à esquerda) e gráfico de setas (à direita), baseando-se na separação onde  $\Delta H^t$  foi utilizado como classificador das classes, considerando a proximidade dos compostos para determinar novos grupos. 140
- Figura 66. Gráfico de SPLS-DA para SDS/TBS/EtOH (à esquerda) e gráfico de setas (à direita) baseando-se na separação onde  $\Delta H^t$  foi utilizado como classificador das classes, considerando a proximidade dos compostos para determinar novos grupos. 140
- Figura 67. Gráfico de ordenação de  $\Delta S^t$  de terpenos para ambos os sistemas estudados: (a) SDS/TBS e (b) SDS/TBS/EtOH. 141
- Figura 68. Gráfico de SPLS-DA para SDS/TBS (à esquerda) e gráfico de setas (à direita), utilizando os valores de  $\Delta S^t$  como classificador das classes. 142
- Figura 69. Gráfico de SPLS-DA para SDS/TBS/EtOH (à esquerda) e gráfico de setas (à direita), utilizando os valores de  $\Delta S^t$  como classificador das classes. 142
- Figura 70. Gráfico de SPLS-DA para SDS/TBS (à esquerda) e gráfico de setas (à direita) baseando-se na separação onde  $\Delta H^t$  foi utilizado como classificador das classes considerando a proximidade dos compostos para determinar novos grupos. 143

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tensoativos de uso comum em Química Analítica.	32
Tabela 2. Concentração micelar crítica (cmc) de tensoativos em função do número de carbonos presentes na estrutura.	40
Tabela 3. Inclinação (b) do gráfico de densidade das soluções versus concentração de tensoativo (30 – 100 mmol.kg <sup>-1</sup> ), e volume parcial específico da fase micelar ( <i>v</i> ) para o sistema formado por SDS 30 mmol.kg <sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg <sup>-1</sup> em função da temperatura.	82
Tabela 4. Inclinação (b) do gráfico de densidade das soluções versus concentração de tensoativo (10 – 50 mmol.kg <sup>-1</sup> ), e volume parcial específico da fase micelar ( <i>v</i> ) para o sistema formado por SDS 30 mmol.kg <sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg <sup>-1</sup> + 10% v/v de EtOH em função da temperatura.	83
Tabela 5. Cmc em função da temperatura para o sistema SDS 30mmol.kg <sup>-1</sup> / TBS 20mmol.kg <sup>-1</sup> .	86
Tabela 6. Cmc em função da temperatura para o sistema SDS 30 mmol.kg <sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg <sup>-1</sup> + EtOH 10% v/v.	86
Tabela 7. Cmc de SDS puro em diferentes temperaturas. <sup>117</sup>	89
Tabela 8. Razão de volumes entre as fases micelar e aquosa para ambos sistemas em estudo.	90
Tabela 9. Parâmetros empíricos do Beckman MDQ CE* <sup>120</sup> .	91
Tabela 10. Temperaturas efetivas encontradas utilizando o método de Krilov <i>et. al.</i> <sup>120</sup> para cada temperatura selecionada no método em MEKC.	92
Tabela 11. Ln dos fatores de retenção para os terpenos nos sistemas compostos por SDS 30mmol.kg <sup>-1</sup> e TBS 20mmol.kg <sup>-1</sup> em função da temperatura.	92

Tabela 12. Ln dos fatores de retenção para os terpenos nos sistemas compostos por SDS 30 mmol.kg <sup>-1</sup> , TBS 20 mmol.kg <sup>-1</sup> e EtOH 10% em função da temperatura	93
Tabela 13. Ln do coeficiente de partição dos terpenos estudados em função da temperatura para o sistema SDS/ TBS em função da temperatura.	94
Tabela 14. Ln do coeficiente de partição dos terpenos estudados em função da temperatura para o sistema SDS/ TBS/ EtOH em função da temperatura.	94
Tabela 15. Parâmetros termodinâmicos de transferência entre as fases micelar e aquosa para os terpenos estudados a 25°C.	99
Tabela 16. Parâmetros estatísticos das regressões de ln <i>P</i> versus <i>Vx</i> dos terpenos, com exceção de cumeno e t-anetol, em função da temperatura, para o sistema SDS/TBS.	105
Tabela 17. Parâmetros estatísticos das regressões de ln <i>P</i> versus <i>Vx</i> dos terpenos, com exceção de cumeno, t-anetol e citronelal, em função da temperatura para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH.	107
Tabela 18. Parâmetros estatísticos das regressões de ln <i>P</i> versus <i>SmaO</i> dos terpenos (sem cumeno) em função da temperatura para o sistema formado por SDS/TBS.	107
Tabela 19. Parâmetros estatísticos das regressões de ln <i>P</i> versus <i>SmaO</i> em função da temperatura para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, retirando-se o <i>outlier</i> citronelal.	111
Tabela 20. Parâmetros estatísticos das regressões de ln <i>P</i> versus descritores escolhidos nos modelos LSER, em função da temperatura, para o sistema formado por SDS/TBS retirando-se t-anetol do modelo.	116
Tabela 21. Parâmetros estatísticos para as LSER obtidas no sistema formado por SDS/TBS/EtOH retirando cumeno.	122
Tabela 22. Parâmetros estatísticos das regressões de ln <i>P</i> versus descritores escolhidos nos modelos LSER em função da temperatura para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH sem cumeno e citronelal.	126

Tabela 23. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS, quando as classes definidas pelas características estruturais dos compostos são selecionadas como variável dependente do modelo.	128
Tabela 24. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS/EtOH, quando as classes definidas pelas características estruturais dos compostos são selecionadas como variável dependente do modelo.	128
Tabela 25. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS quando $\Delta H^f$ é selecionada como variável dependente do modelo.	130
Tabela 26. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS/EtOH quando $\Delta H^f$ é selecionada como variável dependente do modelo.	131
Tabela 27. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS quando $\Delta S^f$ é selecionada como variável dependente do modelo.	132
Tabela 28. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS/EtOH quando $\Delta S^f$ é selecionada como variável dependente do modelo.	132
Tabela 29. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS quando $\ln P$ 35,4°C é selecionada como variável dependente do modelo.	133
Tabela 30. Estatística dos modelos de SPLS para SDS/TBS/EtOH quando $\ln P$ 35,4°C é selecionada como variável dependente do modelo.	133

## SUMÁRIO

Capítulo 1. Introdução.....	28
1. Terpenos.....	29
2. Tensoativos.....	31
2.1 Agregação de tensoativos em solução aquosa .....	33
2.2 Concentração micelar crítica (cmc).....	37
3. Incorporação de solutos neutros em soluções micelares.....	43
4. Métodos experimentais para a determinação da partição (micela-água).....	47
4.1 Métodos de solubilização .....	47
4.2 Métodos espectroscópicos .....	48
4.3 Métodos de separação.....	49
5. A eletroforese capilar.....	51
5.1 Da eletroforese a eletroforese capilar .....	51
5.2 A cromatografia eletrocínética micelar (MEKC).....	54
5.2.1 Princípio de separação .....	54
5.2.2 Parâmetros que influenciam a resolução em MEKC .....	58
5.2.2.1 Número de pratos ( $N$ ).....	58
5.2.2.2 Fator de separação ( $\alpha$ ) .....	58
5.2.2.3 Fator de retenção ( $k$ ) .....	60
5.2.2.4 Janela de eluição .....	61
5.3 Obtenção dos parâmetros termodinâmicos .....	61
6. Relações lineares de energia livre (LSER) para caracterizar as interações existentes entre solutos e micelas.....	62

Capítulo 2. Objetivos e Justificativas .....	66
Capítulo 3. Parte Experimental.....	68
1. Reagentes e Soluções.....	69
2. Equipamentos e métodos .....	69
2.1 Determinação do fator de retenção ( $k$ ).....	69
2.2 Determinação da concentração micelar crítica (cmc).....	70
2.3 Determinação do volume parcial específico da fase micelar ( $v$ ).....	72
2.4 Determinação dos parâmetros termodinâmicos .....	72
2.5 Cálculo dos descritores.....	73
2.6 Estudo da variabilidade dos terpenos .....	73
2.7 Construção dos modelos LSER.....	75
Capítulo 4. Resultados e Discussão .....	77
1. Seleção dos terpenos e estudo dos descritores .....	78
1.1 Análise de agrupamento.....	78
1.2 Análise de componentes principais (PCA) .....	80
2. Medidas de densidade, cmc e fator de retenção e obtenção dos coeficientes de partição para os terpenos em estudo .....	81
2.1 Determinação do volume parcial específico da fase micelar ( $v$ ).....	81
2.2 Determinação da concentração micelar crítica (cmc) .....	83
2.3 Determinação da razão de volumes entre a fase micelar e aquosa ( $\frac{V_{mc}}{V_{aq}}$ ).....	89
2.4 MEKC – medidas do fator de retenção. ....	90
2.5 Determinação do coeficiente de partição ( $P$ ).....	93
3. Parâmetros termodinâmicos de transferência entre as fases aquosa e micelar .....	95

4. LSER através de regressão linear e regressão múltipla .....	102
5. LSER através de modelos PLS e seus derivados.....	127
Capítulo 5. Conclusões e Perspectivas .....	144
Capítulo 6. Referências Bibliográficas .....	147
Anexos .....	A
LISTA DE ANEXOS.....	B

# **Capítulo 1. Introdução**

## 1. Terpenos

Terpenos representam um dos primeiros grupos de produtos naturais estudados e provavelmente o mais difundido de pequenas moléculas sintetizadas por plantas<sup>1</sup> contendo, no total, mais de 55000 compostos diferentes<sup>2</sup>.

Além das plantas, terpenos podem ser encontrados em organismos marinhos, algas, microrganismos e, em menor extensão, em fungos<sup>3</sup>.

Na natureza eles ocorrem predominantemente como hidrocarbonetos sendo seus álcoois e glicosídeos, éteres, ácidos carboxílicos e ésteres denominados terpenóides<sup>4</sup>.

Estruturalmente, são definidos como um grupo de moléculas que possuem um número definido de unidades isoprênicas -  $(C_5H_8)_n$ . As estruturas químicas formadas através da junção cabeça-cauda de duas, três, quatro, seis, oito e mais do que cem unidades são chamadas de mono, sesqui, di, tri, tetra e politerpenos, respectivamente. Dessas classes, os monoterpenos e sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais e das resinas, enquanto que os representantes das demais classes são em sua maioria sólidos.

Por muitos anos, esses compostos foram considerados como desperdício fisiológico, ou mesmo, produtos de desintoxicação das plantas. Hoje é conhecida uma variedade de funções ecológicas que desempenham. Muitas plantas os produzem para atrair insetos específicos, para polinização, ou para expulsar animais, que as vêem como alimento<sup>5</sup>, e para se proteger contra pragas, perda de água e aumento da temperatura<sup>6</sup>. Essas substâncias odoríferas possuem ainda a propriedade de serem compostos de sinalização e reguladores de crescimento. Muitos insetos metabolizam terpenos, que adquirem através da alimentação, para produzir hormônios e feromônios (compostos de sinalização que insetos e animais excretam para se alertarem, marcarem recursos alimentares, demarcar território, e atrair parceiros sexuais para cópula).

Além das propriedades relativas a aromas e fragrâncias, muito exploradas desde o século XIX pelas indústrias de alimentos, bebidas e cosméticos, os terpenos vêm sendo reconhecidos também por sua atividade *in vivo*. Estudos de monoterpenos revelam que muitos desses compostos apresentam funções antimicrobiana<sup>7</sup>, hipotensiva<sup>8</sup>, anti-inflamatória<sup>9</sup>, analgésica<sup>10</sup>, antinociceptiva<sup>11</sup>, entre outras.

Quintans-Júnior *et al.*<sup>11</sup> realizaram um levantamento de estudos de 27 monoterpenos em modelos de nocicepção em animais e identificaram apenas o mentol sem atividade antinociceptiva. De agonistas opioides a moduladores de síntese de NO, muitos monoterpenos

apresentaram mais de um mecanismo de ação. O trabalho concluiu que monoterpenos acíclicos, como linalol e citronelal, geralmente modulam o sistema opioide, diminuindo também a liberação de NO. No caso de monoterpenos cíclicos, a vasta maioria apresentou atividade analgésica, sem a participação do sistema opioide. A grande maioria dos monoterpenos apresentaram ainda potencial anti-inflamatório e atividade anticarcinogênica.

Essas descobertas fazem dos terpenos grandes candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de vários processos patológicos que atingem a humanidade.

Tendo em vista a simplicidade estrutural dos terpenos e a alta hidrofobicidade, que sugere fracas interações intermoleculares, é difícil de se imaginar como esses compostos conseguem desempenhar funções tão específicas e diversas. É de se esperar que quanto mais complexa a estrutura do composto, mais fácil seja seu reconhecimento pelo organismo. Isso mostra o grande poder de reconhecimento do meio biológico.

Vários trabalhos demonstram que a partição micela-água pode ser utilizada como um preditor de biopartição de diversos compostos onde micelas desempenham um papel de agente biomimético. Já em 1899, Charles Ernest Overton, o primeiro “membranologista” conhecido, encontrou similaridade entre a permeabilidade de solutos em membrana e sua solubilidade em óleo de oliva, considerado um meio análogo ao miolo micelar de micelas aquosas<sup>12</sup>.

Quase 100 anos mais tarde, Terabe<sup>13</sup> e Dorsey *et al.*<sup>14</sup> demonstraram a utilização da cromatografia eletrocínica micelar (MEKC) na determinação dos coeficientes de partição e dos parâmetros termodinâmicos de transferência da fase aquosa para a fase micelar de diversas classes de solutos demonstrando que esses estudos podem contribuir para o entendimento da distribuição desses compostos, bem como auxiliar na compreensão das funções que os mesmos desempenham na natureza.

Vale citar ainda que substâncias odoríferas usadas em produtos industriais, como cosméticos, alimentos e detergentes, são normalmente solubilizadas em micelas de tensoativos antes de serem incorporados nos produtos acabados com o objetivo de tornar a solução aquosa estável<sup>15</sup>. Assim sendo, uma compreensão adequada do sítio de solubilização micelar para diferentes moléculas pode engradecer o conhecimento fundamental do mecanismo de *delivery* desses compostos nos produtos acabados.

Os terpenos estudados nesse trabalho pertencem a classe dos mono- e sesquiterpenos e foram escolhidos considerando suas estabilidades e possibilidade de separação em MEKC. A representação estrutural desses compostos está apresentada na Figura 1.

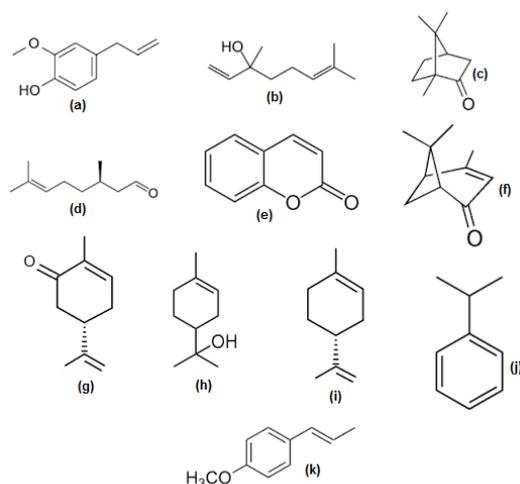


Figura 1. Fórmula estrutural dos mono- e sesquiterpenos presentes no estudo ((a) eugenol, (b) linalol, (c) cânfora, (d) citronelal, (f) verbenona, (g) carvona, (h) terpineol, (i) limoneno, (j) *p*-cumeno e (k) *t*-anetol) e (e) cumarina).

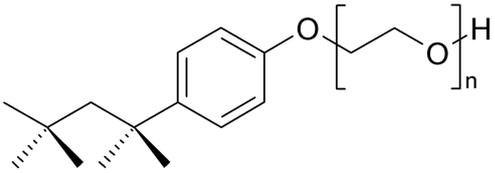
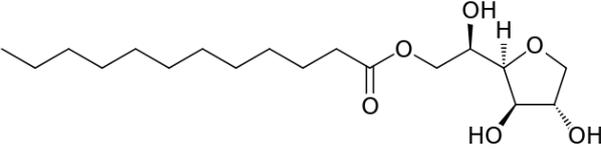
## 2. Tensoativos

Tensoativos são compostos anfifílicos. Em outras palavras, compostos que possuem uma “cabeça” polar hidrofílica e uma “cauda” apolar hidrofóbica. A região hidrofóbica é constituída normalmente de uma ou mais cadeias alquílicas ou alquilfenílicas que contém, em geral, de oito a dezesseis átomos de carbono, enquanto que a região hidrofílica é constituída por grupos iônicos ou não iônicos polares<sup>16</sup>.

A presença dessas duas regiões distintas numa mesma molécula faz com que a mesma apresente uma grande capacidade de adsorção na interface ar-água, óleo-água e superfície de sólidos, o que confere aos tensoativos uma infinidade de aplicações<sup>16,17</sup>. Tensoativos são empregados em uma variedade de produtos, desde os de usos geral ou consumidos em larga escala como, por exemplo, detergentes, até os de uso específicos e limitados como agentes dispersantes, solubilizantes, umectantes e emulsificantes em diversas formulações<sup>18</sup>.

A classificação dos tensoativos, é dada em função do grupo hidrofílico que apresentam, podendo ser aniônico, catiônico, zwitteriônico e não iônico. Alguns exemplos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Tensoativos de uso comum em Química Analítica.

<i>Aniônico</i>	
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{OCO}]_2\text{CHSO}_3^-\text{Na}^+$	Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato sódico (Aerosol OT)
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^-\text{Na}^+$	Dodecil sulfato de sódio (SDS)
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COO}^-\text{Na}^+$	Dodecanoato de sódio
$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}]_2\text{PO}_2^-$	Dihexadecil fosfato (DHF)
<i>Catiônico</i>	
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$	Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB)
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$	Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB)
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$	Brometo de tetradeciltrimetilamônio (TTABr)
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{N}^+(\text{H})_3\text{Cl}^-$	Cloreto de dodecilamônio (DAC)
<i>Zwitteriônico</i>	
$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{COO}^-$	N-dodecil-N,N-dimetil-betaína
$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3^-$	3-(N-dodecil-N,N-dimetilamônio)-propano 1-sulfonato
<i>Não-Aniônico</i>	
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{23}\text{OH}$	Polioxietileno(23) dodecanol (Brij 35)
	Polioxietileno (9-10) p-tercetil fenol (Triton X-100)
	Monolaurato de sorbitol (Span 20) <sup>®</sup>

Um aspecto físico-químico interessante dos tensoativos é a alta solubilidade em água, embora sejam constituídos de longas cadeias carbônicas. A solubilidade desses compostos alcança valores maiores do que a de alcanos, mesmo os de cadeia curta. Essa propriedade é originada das várias particularidades que as soluções desses compostos apresentam, como por exemplo, adsorção superficial e auto-associação em larga escala<sup>19</sup>.

Em soluções com baixas concentrações, os tensoativos iônicos comportam-se como eletrólitos fortes, enquanto que os não iônicos estão dissolvidos como solutos orgânicos simples<sup>20</sup>. A medida que se eleva a concentração, as moléculas começam a se auto agregar para formar as micelas<sup>21</sup>, em um processo conhecido como micelização. Em solventes orgânicos de baixa polaridade, são formadas micelas inversas, onde os grupos hidrofílicos dos tensoativos se agregam, formando o miolo micelar expondo as cadeias hidrofóbicas, que são solvatadas pelo solvente<sup>18,22</sup>.

Nesta dissertação são utilizadas apenas micelas aquosas iônicas e as discussões a seguir são restritas a elas.

## **2.1 Agregação de tensoativos em solução aquosa**

Por conta da grande cadeia hidrofóbica que os tensoativos apresentam, era de se esperar uma precipitação ou separação visível de fases, após a saturação da superfície da solução. De fato, a solução que é perfeitamente transparente a olho nu, apresenta espalhamento de luz<sup>19</sup>, sugerindo a formação dos agregados micelares.

De uma maneira geral, a dissolução de um tensoativo em água provoca um aumento de energia devido a alta coesão deste solvente. Os fatores que contribuem para isso são (i) alta tensão interfacial água/hidrocarboneto, (ii) estruturação das moléculas de água ao redor da cadeia hidrofóbica, e (iii) diminuição nos graus de liberdade da cadeia hidrofóbica<sup>21,23-25</sup>.

Quando as primeiras moléculas de tensoativos são solubilizadas, estas tendem a adsorver na interface água-ar expondo a cauda hidrofóbica para fora da solução, de modo a diminuir as interações repulsivas e, portanto, a energia livre do sistema.

Nesse processo, as moléculas de água presentes na superfície da solução passam a solvatar as cabeças, diminuindo a tensão superficial. A extensão dessa diminuição é determinada pela quantidade de monômeros na superfície, bem como, pela natureza do tensoativo.

Ao serem adicionados mais monômeros de tensoativos na interface, ocorre a saturação da superfície aumentando a energia livre do sistema. As moléculas então migram para o seio da solução, adsorvendo inicialmente na parede do recipiente que as contém. Após, dímeros, trímeros e tetrâmeros são formados.

O parâmetro termodinâmico que mais contribui para a diminuição da energia livre é a entropia.

Para que uma primeira molécula de tensoativo seja incorporada no seio da solução é necessário que se abra um espaço entre as moléculas de água. Nessa migração, interações de ligações de hidrogênio água-água são rompidas e a entropia do sistema diminui por conta do congelamento da água ao redor da estrutura hidrofóbica. Quando ocorre a associação de dímeros, trímeros e tetrâmeros, uma certa quantidade de água é liberada e a maioria das interações água-água são recuperadas. Assim, a entropia aumenta diminuindo a energia livre do sistema.

O posterior aumento da concentração de detergente na solução permite a formação de agregados maiores, conhecidos como agregados micelares<sup>21</sup>. Nessa formação, as cadeias hidrofóbicas dos monômeros se agrupam formando o miolo micelar e a parte hidrofílica se dispõe na superfície voltada para o exterior, sendo solvatada pela água<sup>18,26-28</sup>.

Vale esclarecer que a micelização é um processo dinâmico que ocorre em equilíbrio e as etapas citadas para esse processo foram discutidas dessa forma para facilitar seu entendimento. Em uma situação real, os monômeros populam todas as partes da solução desde a primeira alíquota de detergente adicionada. O que se leva em conta aqui é a distribuição preferencial desses compostos em cada estágio do processo.

Resumidamente, duas forças contrárias estão em jogo no processo de micelização: a energia de cavitação em água e a repulsão eletrostática entre as cabeças no aglomerado micelar. O balanço dessas forças define o tamanho da micela, sua forma e o grau de dissociação dos contra-íons. É conhecido que esse processo apresenta um fenômeno de compensação entálpico-entrópico, onde a variação da entalpia e entropia de micelização são linearmente dependentes<sup>29,30</sup>.

A geometria do agregado micelar é, em sua maioria, esférica ou elipsoidal, entretanto, é bastante afetada pela adição de solventes orgânicos, eletrólitos, impurezas, temperatura, pressão, estrutura molecular do tensoativo (comprimento da cadeia carbônica, natureza e posição do grupo polar, etc.), entre outras<sup>16,20</sup>. Membranas biológicas, por exemplo, são

formadas por bicamadas lipídicas. Tensoativos compostos de mais de uma cadeia carbônica formam bicamadas, podendo formar estruturas estáveis do tipo lamelar e vesículas<sup>19</sup>. Para dodecil sulfato de sódio (SDS), tensoativo utilizado nesse trabalho, é conhecido uma estrutura esférica para a micela com um número médio de agregação de 60 monômeros por micela<sup>31-33</sup>.

Vários modelos foram propostos na tentativa de descrever as características micelares, entre eles o modelo da “gota de óleo” de Hartley (1939)<sup>34</sup>, de “micela porosa” de Menger (1979)<sup>35</sup>, o modelo de “blocos” de Fromherz (1981)<sup>36</sup>, o modelo de “celas” de Dill e Flory (1981)<sup>37</sup>, e o modelo de Gruen (1985)<sup>38</sup>.

A primeira proposição sobre estruturas micelares aquosas de tensoativos iônicos é o modelo da “gota de óleo”. Nesse modelo, a cauda hidrofóbica dos tensoativos estendem-se em direção ao interior dos agregados formando o miolo micelar, que pode ser considerado como um meio análogo a hidrocarbonetos líquidos, enquanto que cabeças se colocam em contato com a água. As cabeças iônicas e cerca de 50 a 80% dos contra-íons formam a camada de Stern. Essa disposição confere uma carga residual positiva ou negativa para a micela dependendo da carga das cabeças, sendo por isso, envolvida por uma outra camada, onde se situam o restante dos contra-íons totalmente solvatados em equilíbrio com os íons em solução. Esse conjunto forma uma dupla camada elétrica, chamada de camada de Gouy-Chapman.

Menger<sup>35,39,40</sup> propôs uma teoria bastante porosa para a micela, admitindo que ocorre penetração de água na micela. Em uma situação bem diferente do modelo anterior, esse modelo sugere a natureza dinâmica da micela onde as ocorrências são eventuais e nenhum parâmetro (como raio micelar, limite entre miolo e superfície, etc.) pode ser definido com grande precisão.

Aplicando regras de minimização de energia ao modelo de Hartley, Fromherz desenvolve seu modelo, representando os tensoativos na forma de bastões. Nesse modelo, os monômeros são arranjados paralelamente na micela, afastando o máximo possível a “cabeça”, assemelhando-se ao modelo de Hartley por apresentar um miolo micelar bastante compacto e anidro<sup>36</sup>.

O modelo de Dill e Flory é muito semelhante ao modelo de Hartley. A principal característica dele é considerar a mobilidade das cadeias carbônicas, que apesar disso, preenchem todo volume do miolo micelar. Devido a mobilidade, Dill e Flory concluíram que dentro de um certo intervalo de tempo, é possível que a localização de segmentos dos monômeros seja a superfície micelar.

Reunindo e aprimorando as observações dos modelos anteriores, Gruen<sup>41,42</sup> através de estudos de dinâmica molecular do tensoativo SDS, construiu o modelo micelar capaz de explicar todos os fatos experimentais relatados para as características desses sistemas. A micela desse modelo, tem na média, todos os grupos apolares do tensoativo no miolo micelar, os grupos polares iônicos e água na superfície, excluídos do núcleo, os grupos hidrofóbicos apresentando desordem conformacional, preenchendo o miolo com densidade aproximadamente igual a de n-alcanos líquidos e a camada superficial hidrofílica rugosa.

As micelas estudadas nesse trabalho são de SDS em meio tamponado (pH 9,2) com tetraborato de sódio (TBS) na ausência e presença de etanol. Uma representação esquemática dos dois sistemas está representada na Figura 2.

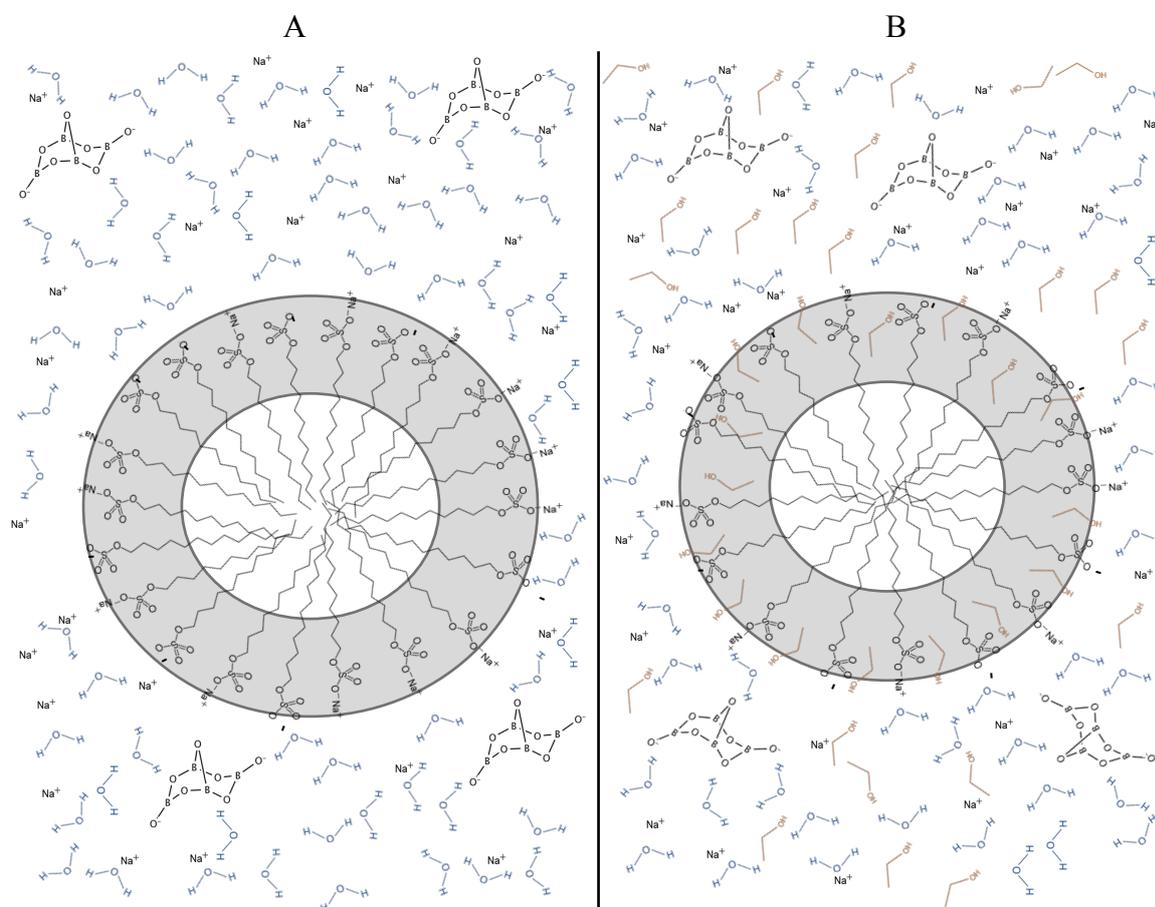


Figura 2. Representação dos sistemas micelares estudados. (A) SDS/TBS, (B) SDS/TBS/EtOH

As micelas de SDS possuem ao menos quatro ambientes de solubilização<sup>15</sup>: miolo micelar (*MC*), camada de solvatação (*SL*), interface interna (*INT-I*), entre o miolo e camada de solvatação e, interface externa (*INT-E*), entre a camada de solvatação e a superfície micelar. Na Figura 3 um modelo simplificado de uma micela de SDS é apresentado com os solutos alocados nestes diversos ambientes.

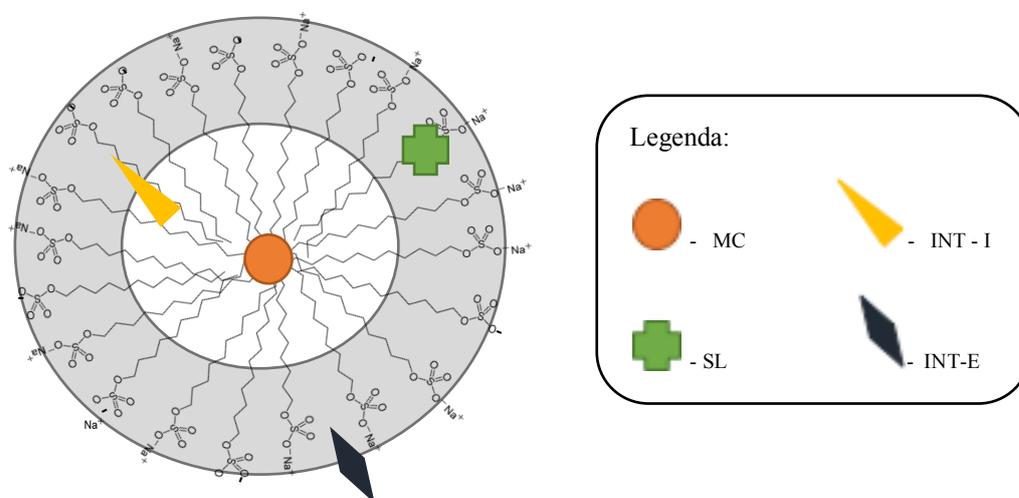


Figura 3. Ambientes de solubilização de compostos em micelas.

## 2.2 Concentração micelar crítica (cmc)

A existência de micelas na solução pode ser detectada pelas mudanças que ocorrem em muitas propriedades físico-químicas do sistema, como tensão superficial, pressão osmótica, tensão interfacial, condutividade, entre outras.

Dependendo do tensoativo e da propriedade que se mede, existe uma faixa de concentrações em que ocorrem variações bruscas da propriedade em questão, e é em geral bastante pequena, podendo ser considerada como um ponto. Esse ponto é chamado de concentração micelar crítica (cmc)<sup>19</sup>.

A Figura 4 representa a variação de algumas propriedades em função da concentração dos tensoativos nas regiões pré e pós micelização. É possível observar uma variação brusca das propriedades na região da cmc.

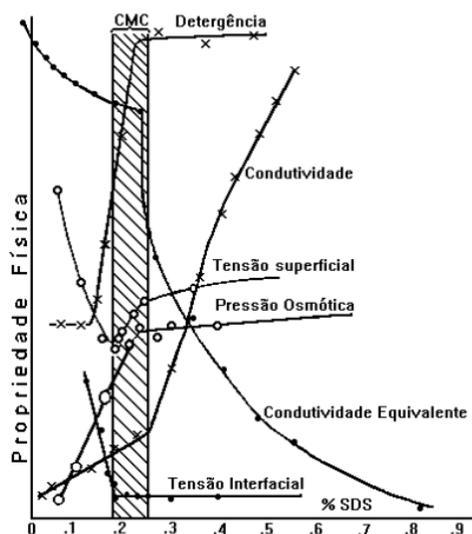


Figura 4. Variação de propriedades físico-químicas em função da porcentagem de SDS.

A cmc pode ser determinada por diversas técnicas, entre elas, condutometria, tensiometria<sup>43</sup>, espalhamento de luz, espectrofotometria, espectrofluorimetria, voltametria cíclica<sup>44</sup>, ressonância magnética nuclear (NMR, do inglês, *Nuclear Magnetic Resonance*), e eletroforese capilar (CE, do inglês, *Capillary Electrophoresis*)<sup>45</sup>.

Neste trabalho, para caracterizar a formação das micelas, foi utilizada a condutometria. Essa técnica mede a condutividade elétrica de soluções iônicas, que ocorre a partir da migração de íons positivos e negativos com aplicação de um campo eletrostático<sup>46</sup>. A condutividade da solução é a soma das condutividades individuais da totalidade de espécies iônicas presentes, e depende do número de íons presentes, bem como das cargas e da mobilidade dos mesmos.

Ao serem adicionados monômeros do tensoativo a uma solução aquosa, à medida que sua concentração aumenta, a disponibilidade de íons para contribuir com a condutividade aumenta de tal maneira que a concentração e a condutividade aumentam em uma dada proporção. Quando é atingida a cmc, as moléculas dos monômeros agregam-se para formar micelas, e contra-íons são associadas a ela, diminuindo a mobilidade iônica e, portanto, a taxa do aumento da condutividade na solução. Dessa forma, um gráfico de condutividade em função da concentração de tensoativos para determinação da cmc, é constituído por duas retas com inclinações diferentes. O ponto no qual ocorre a mudança abrupta de inclinação é a cmc.

Para se determinar esse ponto são utilizados os coeficientes lineares e angulares de ambas as retas (Equação [1]).

$$cmc = \frac{b_2 - b_1}{a_1 - a_2} \quad [1]$$

Onde  $b_1$  e  $b_2$  são os coeficientes lineares das retas que constituem o gráfico e  $a_1$  e  $a_2$  são os coeficientes angulares.

Além disso, a razão entre as inclinações das retas acima e abaixo da cmc é o que determina o grau de ionização ( $\alpha$ ) das micelas.

Uma representação hipotética de um gráfico de cmc está representado na Figura 5.

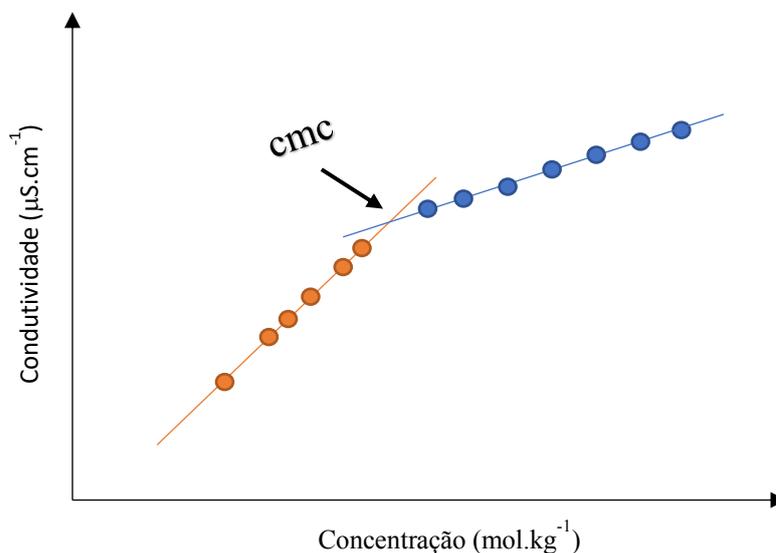


Figura 5. Representação hipotética de uma determinação de cmc via condutividade.

Assim como a estrutura do agregado micelar, a cmc das micelas é afetada por uma série de fatores, sendo os mais importantes: estrutura do tensoativo, natureza do contra-íon, temperatura, e adição de aditivos, como eletrólitos e compostos orgânicos.

A seguir, cada um desses efeitos é discutido individualmente.

#### a) Estrutura do tensoativo

O comprimento da cadeia carbônica do tensoativo é a propriedade que mais afeta a cmc. É conhecido que a mesma decresce com o número de carbonos<sup>47</sup> devido ao aumento da hidrofobicidade. Alguns valores de cmc reportados para tensoativos alquil sulfonados com diferentes comprimentos de cadeia carbônica são mostrados na Tabela 2. Para esse tensoativo é verificado que a adição de uma unidade etilênica provoca uma diminuição em um fator de aproximadamente 4.

Tabela 2. Concentração micelar crítica (cmc) de tensoativos em função do número de carbonos presentes na estrutura.

Tensoativo	cmc (mmol.L <sup>-1</sup> )
C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	160
C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	41
C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	9,7
C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2,5
C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,7

Adaptado de Myers<sup>47</sup>

As mudanças que grupos hidrofílicos de mesma cadeia carbônica provocam na cmc são bastante pequenas. Esse resultado não é surpreendente uma vez que do ponto de vista da formação da estrutura micelar, a força que favorece o processo é o ganho de energia vindo da diminuição de água congelada ao redor das cadeias hidrofóbicas (aumento de entropia)<sup>48</sup>, enquanto que o efeito do grupo iônico é trabalhar contra o processo de agregação. As diferenças de raio iônico, grau de hidratação e outras contribuições não elétricas são responsáveis pelas pequenas diferenças apresentadas<sup>49</sup>.

Entretanto, vale citar que comparando tensoativos iônicos e não iônicos, os primeiros apresentam cmc mais elevadas devido às interações favoráveis das “cabeças” dos tensoativos com água que aumentam a solubilidade dos monômeros em fase aquosa e por conta da repulsão entre as “cabeças” dos tensoativos.

#### *b) Natureza do contra-íon*

O efeito do contra-íon na formação das micelas está relacionado com o grau de hidratação dos mesmos. Quanto menos hidratado, mais facilmente o íon é adsorvido na superfície micelar, diminuindo a repulsão dos grupos hidrofílicos polares dos monômeros de tensoativos e, portanto, a cmc.

Para uma dada cadeia hidrofóbica e cabeça aniônica, a cmc geralmente diminui na ordem  $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Ca}^{2+} \approx \text{Mg}^{2+}$ ; enquanto que para tensoativos catiônicos, a cmc diminui na ordem  $\text{F}^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ <sup>47</sup>.

### *c) Temperatura*

O efeito da temperatura na cmc das micelas é bastante complexo e está relacionado com o comprimento da cadeia hidrofóbica, bem como, com a característica da cabeça hidrofílica dos tensoativos. O aumento da temperatura diminui a hidratação do grupo hidrofílico, o que favorece a micelização, mas por outro lado, também promove a diminuição da coesão entre as moléculas de água, aumentando a solubilidade da cadeia hidrofóbica, e então desfavorecendo a micelização. A cmc é determinada pela magnitude desses dois efeitos<sup>49</sup>.

### *d) Adição de eletrólitos e outros aditivos*

As mudanças comumente encontradas nas soluções que podem afetar a cmc, são: presença de eletrólito, presença de compostos orgânicos, etc.

- *Presença de eletrólitos*

A adição de eletrólitos é um dos maiores moduladores de cmc de tensoativos iônicos. A presença destes em solução contribui para a diminuição da repulsão entre os grupos polares, causando uma diminuição da cmc<sup>50</sup>.

- *Presença de compostos orgânicos*

Para entender como a presença de compostos orgânicos afeta a cmc das micelas, podemos dividi-los inicialmente em duas categorias: os compostos que possuem bastante afinidade pelas micelas (modificadores hidrofóbicos) e compostos bastante hidrofílicos que promovem alterações, principalmente, na fase aquosa do *bulk*.

O processo de solubilização de compostos orgânicos muito hidrofóbicos nos sistemas micelares pode mudar significativamente o tamanho do agregado e a curvatura da superfície micelar<sup>47</sup>. Na presença desses compostos, é esperado que ocorram mudanças nas energias de interação presentes nos compartimentos micelares, principalmente nas cabeças hidrofílicas da

superfície micelar. Mudanças nas interações das “caudas” hidrofóbicas devido a inserção de moléculas no miolo micelar, também podem ocorrer. Esses compostos são em sua maioria solubilizados no miolo micelar, provocando uma pequena diminuição na cmc do sistema.

Aditivos orgânicos que são bastante solúveis em água, como álcoois de cadeia curta, acetonitrila, acetona e tetrahidrofurano, não apresentam partição com o miolo micelar. Esses compostos diminuem a energia de coesão entre as moléculas de água, aumentando a solubilidade dos monômeros na fase aquosa do *bulk* e, portanto, a cmc. Em altas concentrações desses aditivos, a solubilidade nessa fase é tão grande, que as micelas deixam de existir.

Neste trabalho, foi utilizado etanol como modulador micelar, para solubilizar os terpenos mais hidrofóbicos. A seguir está apresentado detalhadamente o efeito que a adição desse e de outros álcoois provoca nos sistemas micelares.

Álcoois de cadeia longa são os co-surfactantes (tensoativos muito fracos para formar micelas), mais usados nos dias atuais. Estudos de dinâmica molecular<sup>51</sup> mostram que os agregados de álcoois apresentam uma vida muito curta, que pode ser justificada pela solubilidade que apresentam em água, podendo ser muito solúveis, e por apresentarem uma solubilidade menor que a cmc, ou ainda, por conta da fraca interação hidrofóbica<sup>52</sup>.

Zana<sup>52</sup> compilou uma série de estudos de sistemas micelares na presença de álcoois. Esses estudos demonstram que a influência dos álcoois na micela muda de acordo com o tamanho da cadeia carbônica que os formam, e de acordo com a localização que apresentam na micela.

Para álcoois de cadeia longa (mais que 4 carbonos), a mudança na cmc é predominantemente causada pela penetração de álcoois na interface (entre camada de solvatação – miolo micelar, vide Figura 3) ou no miolo micelar, afetando o potencial químico do tensoativo micelizado.

Comportamentos diversos são encontrados quando se estudam os efeitos da adição de álcoois de cadeia curta nas soluções micelares. A cmc dos tensoativos aumenta com a concentração de metanol, enquanto que para propanol apresenta um mínimo. Os gráficos (condutividade versus concentração) para etanol apresenta diferentes comportamentos de acordo com o tensoativo utilizado.

Vale citar, porém, que álcoois de cadeia curta quando em pequenas quantidades, penetram muito pouco na micela, atingindo em alguns casos apenas a camada de solvatação. Dessa forma, atuam como co-solventes e auxiliam no processo de micelização, modificando

as propriedades da água e, portanto, o potencial químico do tensoativo livre. A adição de álcoois de cadeia curta em grandes concentrações causa uma diminuição da constante dielétrica da água, contribuindo para uma diminuição no número de agregação. Um estudo realizado por filtração em gel<sup>53</sup> mostrou que uma concentração de etanol entre 3,4 e 5,1 mol.L<sup>-1</sup> promove o desaparecimento de micelas na solução. Um segundo estudo, utilizando medidas de espalhamento de luz, mostrou que uma concentração de metanol entre 6 e 11 mol.L<sup>-1</sup> também promove o desaparecimento das micelas<sup>52</sup>.

Resumidamente, o review de Zana<sup>52</sup> mostra que a adição de álcoois nos sistemas micelares pode ser entendida pela mudança que provoca no potencial químico do monômero (álcoois de cadeia curta), ou no potencial químico das micelas (álcoois de cadeia longa).

Outro trabalho importante sobre a influência de álcoois de cadeia curta na cmc do tensoativo de SDS é o de Safarpour, *et al.*<sup>54</sup>. Nesse estudo são mostradas a influência de etanol e propanol na cmc, e outras características das micelas de SDS. Na ausência de álcool, a cmc encontrada foi de 8,7 mmol.L<sup>-1</sup>. Em 10% (v/v) de álcool, a cmc caiu para 5,9 e 3,5 mmol.L<sup>-1</sup> para etanol e propanol, respectivamente. Em 20% (v/v), a cmc apresenta um acréscimo, atingindo 6,6 e 25 mmol.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Segundo os autores, o efeito desses álcoois pode ser racionalizado considerando a modificação que eles promovem na fase aquosa mais próxima à superfície micelar, ou ainda considerando sua incorporação, corroborando com as ideias de Zana<sup>52</sup>. Álcoois podem substituir moléculas de água na superfície micelar e ser ali adsorvidos, ou penetrar na camada de solvatação intercalando com as cabeças de tensoativo.

A penetração dos álcoois na camada de solvatação promove um aumento de área por grupo hidrofílico e, dessa maneira, diminui a densidade de carga na superfície micelar, diminuindo a cmc. Em concentrações maiores, as moléculas de tensoativo estão completamente rodeadas por moléculas de álcool na fase aquosa, o que estabiliza as mesmas. Isso é refletido em um aumento na cmc e aumento da energia livre de micelização.

### **3. Incorporação de solutos neutros em soluções micelares**

Uma das características mais importantes das micelas iônicas é a capacidade de interagir com solutos de qualquer natureza, desde os mais hidrofóbicos aos mais polares. Isso porque, diferentemente do comportamento de sistemas homogêneos, os sistemas micelares possuem compartimentos de solubilização (vide Figura 3) que permitem uma gama de

interações. Solutos muito hidrofóbicos geralmente são solubilizados no **MC**, os hidrofílicos são adsorvidos na **SL** e alguns intermediários ficam particionados nas interfaces (**INT-I** e **INT-E**).

Os principais modelos para interpretação da solubilização é o modelo da lei de ação de massas<sup>55</sup> e o modelo de partição.

No modelo da lei de ação de massas, a incorporação dos solutos na micela é descrita através de etapas sucessivas de equilíbrio entre o soluto na fase aquosa e na fase micelar conforme descrito a seguir (Equações [02 a 04]).



onde  $Mic_0$  é o agregado micelar livre de soluto,  $S_w$  é o soluto livre em solução aquosa e  $MicS_n$  é o agregado micelar com  $n$  solutos incorporados.

Para a  $n$ -ésima incorporação do soluto, a constante de equilíbrio ( $K_n$ ) pode ser descrita como:

$$K_n = \frac{[MicS_n]}{[MicS_{n-1}][S_w]} \quad [05]$$

Supondo que o número de agregação micelar seja independente da presença do soluto, que a velocidade de entrada do soluto seja independente da quantidade de soluto na micela, que a velocidade de saída dos solutos seja proporcional ao número dos mesmos na micela, e que a capacidade de incorporação do soluto seja infinita<sup>55</sup>, podemos simplificar a constante micelar de incorporação do soluto para uma condição em que o soluto se particiona entre a fase aquosa e uma pseudo-fase micelar:

$$K_n = \frac{[S_{mic}]}{[Mic][S_w]} \quad [06]$$

onde  $[S_{mic}]$  é a concentração de soluto incorporado na micela,  $[S_w]$  é a concentração de soluto livre na fase aquosa e  $[Mic]$  é a concentração total de micelas no sistema que é dada pela concentração de tensoativo micelizado ( $[T_{mic}]$ ) e o número médio de agregação ( $N$ ):

$$[Mic] = \frac{[T_{mic}]}{N} \quad [07]$$

$[T_{mic}]$  é dado por:

$$[T_{mic}] = [Mic] - cmc \quad [08]$$

A determinação do número de agregação das micelas é imprecisa e disponível apenas para alguns tensoativos<sup>55</sup> tornando difícil o estudo da incorporação de solutos através da constante  $K_n$ . Uma maneira mais conveniente de expressar a incorporação de um soluto nas micelas é considerando a partição do soluto entre a fase aquosa e a fase micelar, dando origem ao segundo modelo mais estudado.



onde:

$$P = \frac{[S_{mic}]}{[T_{mic}][S_w]} \quad [10]$$

Considerando o equilíbrio do soluto entre a fase aquosa e micelar, pode-se então medir um coeficiente de partição ( $P$ ) e obter parâmetros termodinâmicos de transferência entre essas fases ( $\Delta H'$ ,  $\Delta S'$  e  $\Delta G'$ ).

O estudo desses parâmetros pode fornecer indícios sobre a distribuição dos solutos nos compartimentos micelares e então elucidar a disseminação desses compostos na natureza.

De uma maneira geral, a transferência de um soluto neutro de baixa polaridade da água para micela (partição micela-água) pode ser atribuída à “interação hidrofóbica”<sup>56</sup>.

O químico americano Walter Kauzmann descobriu que quando substâncias apolares são solubilizadas em um meio aquoso se aglomeram ao invés de se distribuir pela solução buscando ter o menor contato possível com as moléculas de água, sendo atribuído à ele a descoberta da interação hidrofóbica<sup>56</sup>.

A incorporação de um composto hidrofóbico em uma solução aquosa ocorre pela quebra de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água (processo endotérmico). As moléculas de água ao redor do hidrófobo têm labilidade reduzida por conta da inexistência de interações entre os compostos. Em outras palavras, essa configuração torna o sistema (hidrofóbico) mais estruturado com uma diminuição da entropia total do sistema ( $\Delta S < 0$ ), tornando o processo não espontâneo.

Entretanto, quando hidrófobos se aglomeram e interagem, a entalpia e entropia do sistema aumentam por conta da diminuição da quantidade de água ao redor do hidrófobo bem como por conta do aumento da mobilidade das moléculas de água na solução. As mudanças que ocorrem na solução são demonstradas na Figura 6.

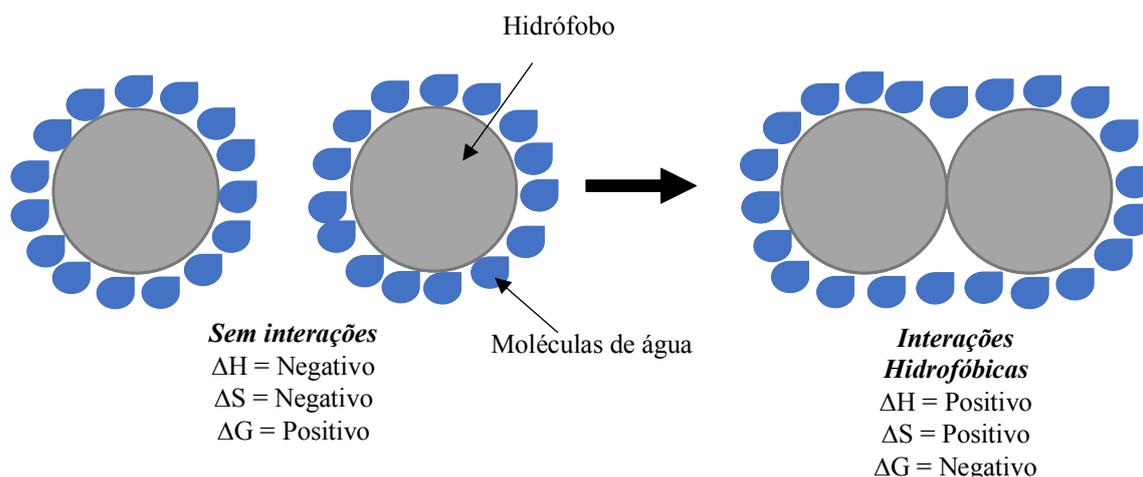


Figura 6. Representação esquemática das mudanças que ocorrem na solução quando da presença do efeito hidrofóbico.

Pensando na transferência de um terpeno da fase aquosa para fase micelar, podemos entender que a inexistência de interação entre as moléculas de água e esses compostos, que em geral são bastante hidrofóbicos, faz com que os mesmos fiquem adsorvidos na interface ar-solução de modo a diminuir a quantidade de água congelada ao redor do soluto e, portanto, a energia livre do sistema.

Quando ocorre a transferência do soluto para micela, a entropia é recuperada pelo desaparecimento da estrutura congelada. A variação da entropia depende da quantidade de água liberada na transferência, bem como da localização preferencial do soluto na micela. Para alcanos, a localização preferencial é o miolo micelar com interações fracas (dispersão de London), levando a elevados valores de entropia. Para compostos localizados nas interfaces (compostos mais polares) são esperados pequenos valores de entropia de transferência ou ainda valores negativos de transferência.

A variação da entalpia de transferência água-micela do soluto, por outro lado, é atribuída a força de interações intermoleculares existentes entre o soluto e o meio em que está dissolvido. Compostos hidrofílicos que possuem interações dipolo-dipolo ou de ligações de hidrogênio na água, quando são incorporados na camada de solvatação, possuem além dessas interações, interações do tipo íon-dipolo que sendo mais estáveis leva a uma liberação de energia e, portanto, a uma diminuição da entalpia.

#### 4. Métodos experimentais para a determinação da partição (micela-água)

Existe uma variedade de métodos instrumentais para investigar a incorporação de solutos em micelas. A localização micelar onde a solubilização ocorre varia com a natureza do material solubilizado e é importante pois reflete o tipo de interação existente entre o soluto e a micela<sup>15</sup>.

O trabalho de Suratkar, V e Mahapatra, S.<sup>15</sup> divide os métodos de acordo com a informação que os mesmos fornecem, sendo divididos em dois grupos, os métodos experimentais que determinam a localização dos solutos através das mudanças que os mesmos promovem em todo sistema quando são solubilizados (NMR<sup>57-61</sup> e espectroscopia UV<sup>62-65</sup>) e métodos que fornecem informações sobre as mudanças nas dimensões das micelas quando da solubilização (difração de raio-X<sup>66</sup>). Sepulveda *et al.*<sup>55</sup>, por outro lado, fazem uma divisão mais abrangente classificando esses métodos em quatro grupos principais: métodos de solubilização, métodos espectroscópicos, métodos de separação, e métodos diversos.

Os métodos diversos utilizam técnicas pouco comuns para determinação do coeficiente de partição, como medidas de diminuição da temperatura de Kraft e da cmc quando da micelização<sup>67</sup>, medidas de volume parcial molar<sup>68</sup>, medidas potenciométricas<sup>69</sup>, entre outras. Os demais métodos e exemplos de técnicas aplicados aos mesmos são descritos detalhadamente a seguir.

##### 4.1 Métodos de solubilização

O método de solubilização é o mais simples e antigo dos métodos e se baseia no aumento da solubilidade de compostos na presença de tensoativos, em concentrações acima da cmc. Como a quantidade de soluto livre na solução aquosa está em equilíbrio com o soluto micelizado, o método se baseia em determinar a quantidade total de soluto dissolvido na ausência e na presença de micelas.

Devido a simplicidade experimental, a concentração de solutos sólidos ou líquidos não podem ser controladas e são determinadas pela solubilidade do soluto em água. Dessa maneira, solutos muito solúveis na fase aquosa podem perturbar a estrutura micelar, o que torna difícil a interpretação dos resultados experimentais.

Zhou, W. e Zhu, L.<sup>70</sup> estudaram a solubilidade do pireno em quatro misturas de tensoativos iônicos e não iônicos (SDS-Triton X-405 (TX405), SDS-Brij35, SDS-Brij58 e

SDS-Triton X-100 (TX100)) através de medidas de razão de solubilização molar (MSR – número de mols de compostos orgânicos solubilizados na micela por número de mols de tensoativo acima da cmc), coeficiente de partição micela-água ( $P$ ) e concentração micelar crítica (cmc). O estudo concluiu que as misturas de tensoativos iônicos e não iônicos tem efeitos mistos na solubilização do pireno. As interações atrativas entre os componentes de misturas de tensoativos resultam em mudanças de estrutura e propriedades das micelas, onde são encontradas cmcs mais baixas em relação à mistura ideal para todos os tensoativos ocorrendo diminuição ou aumento de  $P$ .

#### 4.2 Métodos espectroscópicos

Os métodos espectroscópicos são baseados na diferença de absorção ou emissão de radiação eletromagnética entre as moléculas de solutos ligadas a micelas e aquelas livres em fase aquosa. Em geral, os métodos fornecem informações sobre modificações que ocorrem no ambiente de solubilização quando o soluto é incorporado na micela.

A adição de tensoativo (acima da cmc) para uma solução aquosa do soluto de interesse resulta no deslocamento do espectro de absorção. Em altas concentrações de soluto, não ocorre um maior deslocamento químico, indicando que o mesmo está totalmente incorporado na pseudo-fase micelar.

O método de absorção é simples, não perturba o sistema e pode ser empregado em uma gama de concentrações, tanto do tensoativo quanto do soluto, sendo restrito a sistemas nos quais a incorporação micelar do soluto é acompanhado por um deslocamento de espectro apropriado. Exceto por limitação prática, como relativa baixa sensibilidade, NMR é tida como uma técnica universal para as medidas de coeficiente de partição, devido ao fato de as propriedades dos núcleos dependerem do meio. A possibilidade de estudo individual dos núcleos permite uma avaliação da localização média do soluto na micela<sup>19</sup>.

Wang, T., *et al.*<sup>71</sup> estudaram a localização de álcoois cíclicos em micelas de SDS, utilizando <sup>1</sup>H NMR. Para isso, os pesquisadores obtiveram espectros de <sup>1</sup>H NMR de soluções com 40 mmol.L<sup>-1</sup> de SDS em D<sub>2</sub>O na presença e ausência dos álcoois. Comparando os espectros, observaram que o deslocamento químico de alguns prótons do SDS muda, como resultado da mudança do microambiente devido a solubilização dos álcoois. As mudanças de deslocamento químico desses prótons indicaram a interface (entre o miolo e a camada de solvatação) do SDS como localização para ciclopentanol, ciclohexanol e cicloheptanol.

### 4.3 Métodos de separação

Remover as micelas da fase aquosa é impossível visto que implica na destruição da mesma. Entretanto, há dois métodos, ultra filtração e filtração em gel, que em efeito permitem o isolamento de parte da fase aquosa do restante da solução contendo as micelas.

O método da ultra filtração é baseado na capacidade de certos filtros de membranas reter compostos com massa molecular similar ou maior que as micelas. O método requer agitação constante da solução e apenas uma pequena quantidade do filtrado deve ser coletado para análise para evitar alteração na composição do filtrante. As principais vantagens deste método são a variedade de aplicação e o fato de as concentrações do soluto e micelas poderem ser usados em uma larga escala. Por outro lado, problemas de adsorção de soluto ou tensoativo na membrana, diferenças na razão de filtração de água em relação ao monômero ou soluto livre e outros efeitos podem ocorrer.

No método da filtração em gel, a porção da fase aquosa contendo o soluto livre é separada do restante da solução pelo uso de um cross-linker de gel de dextran, que exclui de seu interior espécies com massa molecular acima de um certo limite, determinado pela característica do gel. Enquanto a micela tiver uma massa molecular maior que esse limite de exclusão, com a presença de uma fase móvel contendo micelas através de uma coluna de gel, a composição do soluto dentro da fase do gel deve corresponder à fase aquosa e, portanto, conter apenas monômeros de tensoativos livres, moléculas de soluto não ligadas e qualquer eletrólito de baixo peso molecular. Em concentrações de tensoativos muito acima da cmc, o volume de retenção de um soluto adicionado com baixa massa molecular será função do coeficiente de partição do soluto entre a fase micelar e aquosa.

Assim, dados os parâmetros da coluna de gel, grau de adsorção do soluto na matriz do gel, volume parcial específico das moléculas de tensoativo na micela e a constante de peneiração molecular, a partição micela-água pode ser obtida a partir do volume de retenção.

Outra técnica muito eficaz para medição de coeficiente de partição em sistemas micelares é a cromatografia líquida micelar (MLC, do inglês, *Micellar Liquid Chromatography*), um modo de cromatografia líquida de fase reversa (RPLC, do inglês, *Reversed-phase Liquid Chromatography*) com fase móvel contendo um tensoativo (iônico ou não-iônico) acima da cmc<sup>72</sup>. Nessas condições, a fase estacionária é modificada com aproximadamente uma quantidade constante de monômeros de tensoativo e a capacidade de

solubilização da fase móvel é alterada pela presença de micelas, dando origem a interações diversas (hidrofóbica, iônica e estéricas), com implicações maiores em retenção e seletividade.

Desde o começo de 1980, a técnica tem evoluído até se tornar uma alternativa real em algumas instâncias (e complementar em outras) para RPLC clássica com misturas hidro-orgânicas, devido a suas características específicas. MLC é um exemplo dos benefícios de um segundo equilíbrio em RPLC. O primeiro equilíbrio é a partição do soluto entre o solvente do *bulk* (água ou mistura hidro-orgânica) e a fase estacionária. Um segundo equilíbrio é estabelecido com as micelas na fase móvel.

A técnica é baseada no conceito de que os solutos que incorporam nas micelas devem ser separados em uma taxa diferente do que apresentaria na ausência de micelas pois experimentam um microambiente diferente daquele do solvente do *bulk*. Isso é refletido por perturbações nas propriedades físico-químicas do soluto, incluindo mudanças na solubilidade, acidez, entre outras. Solutos são separados baseando-se na partição diferencial entre o *bulk* do solvente e micelas na fase móvel ou estacionária. O equilíbrio de partição pode ser descrito por três coeficientes:  $P_{ws}$  (partição entre a fase aquosa e estacionária),  $P_{wm}$  (partição entre a fase aquosa e micelar), e  $P_{ms}$  (partição entre as micelas e fase estacionária). Os coeficientes  $P_{ws}$  e  $P_{wm}$  mostram a afinidade do soluto com a fase estacionária e micelas, respectivamente, e tem efeitos opostos na retenção do soluto.  $P_{ws}$  aumenta com a retenção, enquanto que  $P_{wm}$  aumenta com a diminuição da retenção devido à forte associação com micelas. Solutos que se associam ou se ligam a micelas mostram diminuição na retenção quando a concentração de micelas na fase móvel aumenta. Do efeito do tensoativo no volume de eluição, é possível obter a partição do soluto. Quando aplicado com cuidado, esse método parece ser um dos potencialmente mais úteis para determinar a partição micela-água ( $P_{mw}$ )<sup>55</sup>.

Waters, L. J. *et al*<sup>73</sup> avaliaram a aplicação da MLC como modelo de predição de penetração de uma série de compostos na pele, comparando os resultados com medidas de partição octanol-água ( $P_{ow}$ ). O estudo sugeriu que  $\log P_{mw}$  representa uma melhora substancial em comparação ao modelo tradicional do  $\log P_{ow}$  na predição dos coeficientes de penetração na pele. Em adição ao modelo da partição octanol-água, a massa molecular dos compostos se mostrou como um importante preditor do coeficiente de penetração da pele. Concluiu ainda que MLC oferece muitos benefícios comparada a técnicas tradicionais empregadas para obtenção dos valores de  $\log P$ .

Neste trabalho, a técnica de separação utilizada na determinação de partição micela-água foi a eletroforese capilar (CE). As vantagens econômicas fazem da mesma uma das mais baratas para esse tipo de estudo.

## 5. A eletroforese capilar

### 5.1 Da eletroforese a eletroforese capilar

A palavra eletroforese é originada do grego, *electro* – eletricidade, *phóresis*-transporte<sup>74</sup>. A técnica é definida como o transporte em solução eletrolítica de solutos carregados, que são separados por apresentarem diferença de mobilidade eletroforética, quando submetidos a um campo elétrico<sup>75-77</sup>.

Historicamente, já em 1809, Reuss publicou observações nos efeitos de campos elétricos em partículas de argila coloidal suspensas em solução, enquanto que Faraday e Du Bois-Reymond caracterizaram o fenômeno com mais detalhes anos seguintes<sup>78</sup>. O termo eletroforese surgiu em 1909, quando Michaelis o utilizou pela primeira vez<sup>76</sup>. Entretanto, a técnica só começou ganhar atenção quando o químico sueco Arne Tiselius apresentou à comunidade científica, em 1930, sua tese intitulada “*The Moving Boundary Method to Study the Electrophoresis of Proteins*”, que envolveu a separação de proteínas presentes no plasma sanguíneo<sup>74,76,79</sup>. Sua pesquisa em eletroforese e análises de adsorção, especialmente pelas descobertas acerca da natureza complexa das proteínas, conferiram ao mesmo o prêmio Nobel de química em 1948.

O principal problema nos primórdios da eletroforese era a convecção térmica causada pelo efeito Joule, que arruinava a separação misturando as zonas separadas. Para diminuir esse efeito vários materiais de suporte eram utilizados, como géis, filmes e papéis. Com os anos, a técnica passou por aperfeiçoamentos, os quais diminuíram ainda mais os problemas de aquecimento produzidos pela ação do campo elétrico. Um dos grandes avanços foi a utilização de colunas capilares com diâmetros cada vez menores, motivo pelo qual a técnica passou a ser denominada *eletroforese capilar* (CE).

Um trabalho notável buscando esses avanços é o de Hjertén<sup>80</sup>, que desenvolveu uma técnica de eletroforese de zona em solução livre utilizando um tubo de quartzo rotativo com um diâmetro interno de 3 mm, diâmetro externo de 7,8 mm e comprimento total de 36 cm. Nesse trabalho, a rotação efetiva do capilar a 40 rpm preveniu eficientemente a solução dentro do capilar de sofrer convecção. Porém, a técnica não foi totalmente aceita devido à dificuldade

de operação.

A eletroforese de zona, ou eletroforese em solução livre, realizada em um capilar é geralmente conhecida como eletroforese capilar de zona (CZE, ou simplesmente CE (IUPAC)). Nessa técnica, os analitos migram pelo capilar em direção ao cátodo (polo negativo) devido ao forte fluxo eletrosmótico (EOF) quando a superfície do capilar está negativamente carregada, ocorrendo em condições neutras ou alcalinas. A Figura 7 representa como ocorre a migração, bem como a ordem de eluição dos compostos em um sistema eletroforético.

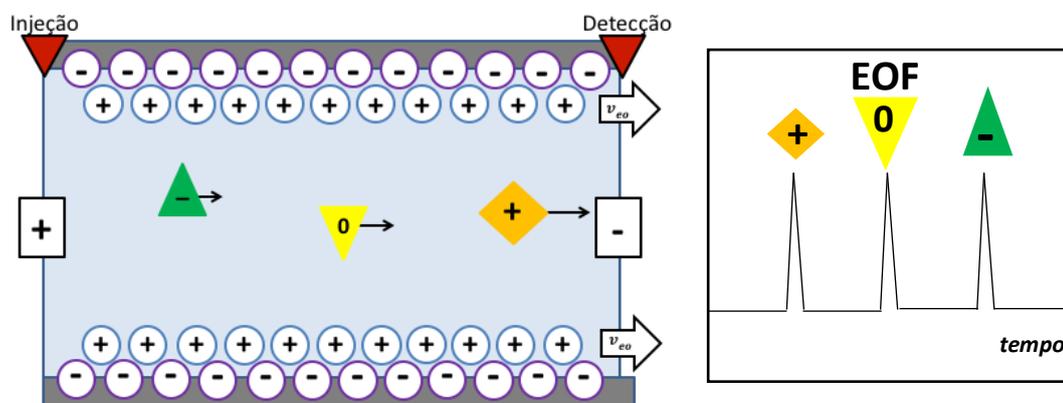


Figura 7. Representação esquemática da migração (à esquerda) e ordem de eluição (à direita) de compostos aniônicos (-), neutros (0) e catiônicos (+) em uma separação realizada por CZE.

A técnica como eletroforese capilar começou a ser reconhecida a partir de 1981, com a publicação de Jorgenson e Lukacs<sup>81</sup>, os quais atraíram a atenção de muitos químicos analíticos, conseguindo a façanha de realizar a separação de derivados de aminoácidos, dipeptídeos e aminas em uma amostra de urina humana com 400000 pratos em menos de 30 min, utilizando um método de CZE. Demonstraram assim, um aumento na eficiência, resolução e velocidade das análises com a utilização de tubos capilares de sílica de diâmetro reduzido e alta tensão (capilar Pyrex<sup>TM</sup>, diâmetro interno de 75  $\mu\text{m}$ , diâmetro externo de 550  $\mu\text{m}$ , comprimento do capilar de 80 a 100 cm e voltagem de +30 kV).

Vale citar que o capilar trouxe vantagens à técnica, pois a relação entre a área superficial interna e o volume é relativamente grande, o que possibilita a dissipação do calor, e a resistência elétrica também é grande, mesmo com a aplicação de altos campos elétricos, o que resulta em separações de alta eficiência (número de pratos elevados) e tempos de análise curtos. Além disso, a técnica exige pequena quantidade de amostra (volumes na ordem de nanolitros) e de solventes (mL), o que a torna sustentável e de baixo custo analítico. A facilidade de operação e manuseio, possibilidade de injeção e detecção em fluxo e, baixo tempo de execução

de metodologias desenvolvidas são outras grandes vantagens<sup>74,79,82</sup>.

A utilização dos capilares de sílica, porém, veio atrelada ao EOF, que é gerado como um fenômeno eletrocinético pela carga na superfície interna e pelo campo elétrico aplicado ao longo do eixo capilar<sup>75</sup>. A sílica, material polimérico que constitui o capilar, em contato com solventes aquosos apresenta vários grupos silanóis (SiOH) na interface, que apresentam caráter ácido. Em solução aquosa, a parede interna do capilar da sílica encontra-se negativamente carregada em virtude da ionização parcial destes grupos. Esta superfície atrai íons positivamente carregados gerando uma dupla camada elétrica (camada de Stern). Quando uma tensão é aplicada, os cátions da camada difusa, externos a dupla camada elétrica, são atraídos pelo cátodo, e uma vez que estão solvatados pelo solvente carregam o mesmo através do capilar. Como muitas vezes a vazão do fluxo eletrosmótico é maior que a velocidade de migração eletroforética dos íons individuais, o mesmo é efetivamente a “bomba de vácuo da fase móvel” e, é indiscriminado, pois carrega tanto solutos neutros quanto carregados (ânions e cátions). A magnitude do EOF é dependente do eletrólito, especialmente do pH e demais condições utilizadas nas separações<sup>76,77</sup>.

O fluxo eletrosmótico é um dos principais responsáveis por tornar a técnica de eletroforese capilar de alta eficiência, pois o mesmo, diferentemente dos métodos cromatográficos em fase líquida, que apresentam um perfil parabólico na migração do fluxo laminar, apresenta um perfil radial de velocidade constante (Figura 8)<sup>77,83</sup>.

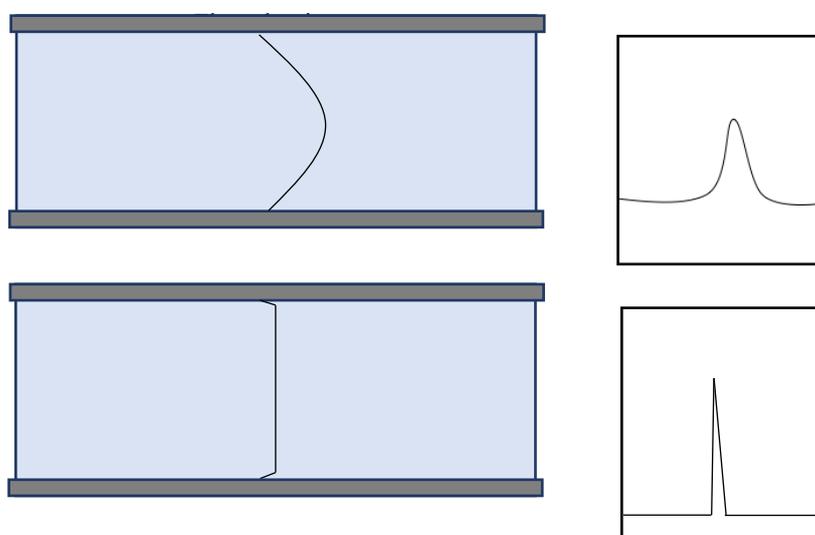


Figura 8. Representação esquemática de um fluxo induzido por pressão (laminar) e um fluxo induzido por um campo elétrico (eletrosmótico) e correspondente efeito na variação de distribuição temporal (à direita). Adaptado

de Tavares<sup>77</sup>.

## 5.2 A cromatografia eletrocinética micelar (MEKC)

Apenas dois anos após a publicação de Jorgenson e Lukacs<sup>81</sup>, Nakagawa (1981) publicou o resumo “*A note to those who are interested in solubilization phenomena*”, propondo a ideia de adicionar micelas iônicas para separar compostos neutros por eletroforese em papel<sup>84,85</sup>.

A cromatografia eletrocinética micelar (MEKC) começou a ser desenvolvida logo em seguida por Terabe *et al.* em 1982, sendo apresentada à comunidade científica em 1984, com a publicação “*Electrokinetic Separations with Micellar Solutions and Open-Tubular Capillaries*”<sup>86</sup>. Em um primeiro experimento, foi adicionado SDS ao eletrólito de corrida comumente utilizado em análises por CZE. Os compostos acetilacetona, fenol, o-, m-, o-cresol e óxido de mesilita foram satisfatoriamente separados em condições neutras. Como esses compostos são todos neutros e não ionizáveis, Terabe *et al.* sugeriram que as micelas de SDS serviam como uma fase pseudo-estacionária, em analogia à fase estacionária de fase reversa de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)<sup>86</sup>.

### 5.2.1 Princípio de separação

Em se tratando do princípio de separação, entre os eletrólitos estudados até então, os sistemas que formam micelas cuja migração se opõe ao fluxo eletrosmótico são os que produzem melhores resultados em MEKC<sup>79</sup>. Nesses sistemas, como em CZE, micelas aniônicas migram em direção ao cátodo (polo negativo) devido ao forte EOF, tanto em condições neutras como alcalinas. O fluxo eletrosmótico migra mais rapidamente em direção ao cátodo do que as micelas aniônicas, que tem velocidade eletroforética em direção ao ânodo (polo positivo). Uma porção dos compostos neutros adicionados para separação é incorporada na micela e migram na mesma velocidade que esta, enquanto que outra porção livre na solução aquosa apresenta a mesma velocidade do EOF. Como o equilíbrio de solubilização é rapidamente estabelecido, o tempo de migração do analito neutro é dado pela partição entre as fases micelar e aquosa<sup>79,84,85</sup>. Assim, a ordem de eluição dos componentes será primeiramente o fluxo eletrosmótico, seguido pelos solutos (onde a ordem de eluição dos mesmos é determinada pela partição que apresentam pela micela) e finalmente, a micela (Figura 9).

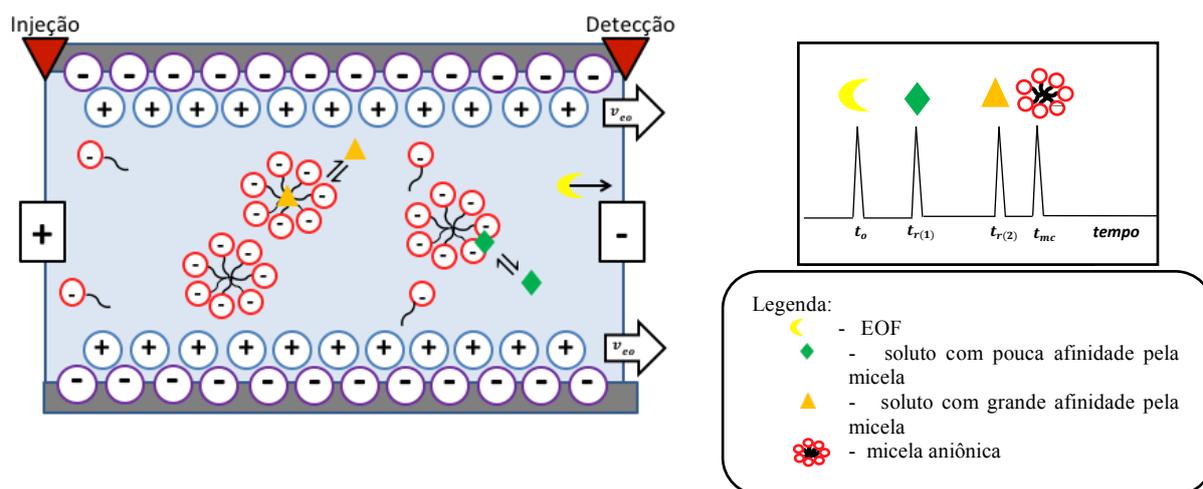


Figura 9. Representação esquemática da migração (à esquerda) e ordem de eluição (à direita) de compostos em uma separação realizada por MEKC.

A detecção fotométrica é geralmente utilizada quando a solução de tensoativo não absorve luz ultravioleta (UV) significativamente, e os solutos sim. Nesse sistema de detecção, o fluxo eletrosmótico e a micela não são detectados pelo detector, e compostos com características específicas são adicionados para marcar os mesmos<sup>87</sup>.

Compostos neutros que absorvem muita radiação UV, que apresentam alta solubilidade no *bulk* (eletrólito escolhido para separação), e que não apresentam afinidade pela micela (exemplos: formamida, tiourea, acetona, dimetilsulfóxido, etc.) são comumente usados como marcadores do fluxo eletrosmótico ( $t_0$ ). Alternativamente, são usados solventes que possuem baixa absorção UV, como por exemplo, metanol e acetonitrila, que causam uma perturbação na linha de base quando passam pelo detector, por apresentarem diferença de índice de refração com o eletrólito escolhido para separação.

Para determinar o tempo de migração da micela ( $t_{mc}$ ), o composto marcador deve possuir solubilidade aceitável no eletrólito, forte absorção UV e uma grande afinidade pela micela. Antraceno, Sudan III, dodecanofenona e dodecilbenzeno são os compostos mais comumente utilizados para esse fim. Esses compostos apresentam baixíssima solubilidade em água e geralmente são solubilizados em metanol ou acetonitrila e depois diluídos no tampão aquoso, de maneira a evitar sua precipitação no capilar<sup>87</sup>.

A incorporação de solutos pela micela pode envolver uma série de mecanismos e ocorre em diferentes regiões da mesma<sup>76,79</sup>. Em geral, solutos apolares ou pouco polares se associam ao miolo micelar através de interações dispersivas de London (interações hidrofóbicas).

Solutos polares se associam a superfície micelar através de interações eletrostáticas ou ligação de hidrogênio. Solutos anfífilicos tendem a se alinhar com a micela localizando-se na interface entre o miolo micelar e a superfície, de forma a interagir tanto dispersivamente com o núcleo hidrofóbico quanto eletrostaticamente ou por ligações de hidrogênio, com a cabeça do tensoativo<sup>79</sup>.

A extensão com que a associação soluto/micela ocorre determina a ordem de eluição dos solutos. Quanto mais hidrofóbico o soluto, mais fortemente associado a micela e, portanto, menor sua velocidade de migração em direção ao detector. O tempo de migração de um soluto neutro ( $t_r$ ) é dado pela Equação [11].

$$t_r = \frac{1+k}{1+k\frac{t_o}{t_{mc}}} t_o \quad [11]$$

onde  $k$  é o fator de retenção, definido como a razão do número de mols do analito incorporados na micela ( $n_{mc}$ ) pelo número de mols do analito livres na fase aquosa ( $n_{aq}$ ).

Reajustando essa equação, temos que  $k$  também pode ser obtido de acordo com a Equação [12].

$$k = \frac{t_r - t_o}{t_o \left(1 - \frac{t_r}{t_{mc}}\right)} \quad [12]$$

O tempo de migração do fluxo eletrosmótico ( $t_o$ ), e o tempo de migração da micela ( $t_{mc}$ ) são determinados pela velocidade do fluxo eletrosmótico, pela velocidade de migração da pseudo-fase micelar e pelas dimensões do capilar (comprimento até o detector). A velocidade de migração da micela ( $v_{mc}$ ) é a soma das velocidades individuais do fluxo eletrosmótico ( $v_{eo}$ ) e da velocidade eletroforética da micela ( $v_{ep(mc)}$ ) (Equação [13])

$$v_{mc} = v_{eo} + v_{ep(mc)} \quad [13]$$

A velocidade de migração da micela ( $v_{mc}$ ) é um vetor de quantidade e é positivo quando direcionado ao cátodo e  $v_{eo}$  e  $v_{ep(mc)}$  têm, geralmente, sinais opostos.

A velocidade de migração do analito neutro ( $v_a$ ) depende da distribuição do mesmo entre as fases e pode ser determinada de acordo com a Equação [14].

$$v_a = \frac{v_{eo} + v_{mc}k}{(1+k)} \quad [14]$$

onde os termos  $\frac{1}{(1+k)}$  e  $\frac{k}{(1+k)}$  são as frações do analito livre na fase aquosa e a fração incorporada na micela, respectivamente.

A  $v_a$  pode ser obtida ainda através do tempo de migração do analito ( $t_r$ ) e do comprimento efetivo do capilar ( $l$ ), pela Equação [15].

$$v_a = \frac{t_r}{l} \quad [15]$$

Da mesma forma  $v_{mc}$  e  $v_{eo}$  podem ser obtidos a partir dos tempos de migração da micela e do EOF, respectivamente (Equações [16] e [17]).

$$v_{mc} = \frac{t_{mc}}{l} \quad [16]$$

$$v_{eo} = \frac{t_o}{l} \quad [17]$$

De maneira resumida, as separações em MEKC são resultado da combinação de efeitos na diferença de partição dos solutos entre as fases micelar e aquosa, assim como da diferença de mobilidade de espécies iônicas, e pode ser controlada principalmente pela concentração e composição química do tensoativo e outros aditivos como solvente orgânico e agentes complexantes<sup>76,79,84</sup>.

O fator de retenção está relacionado com o coeficiente de partição dos solutos entre as fases micelar e aquosa ( $P$ ) e com a razão do volume de tensoativo que formam as micelas ( $V_{mc}$ ) e o volume de tensoativo livre na fase aquosa ( $V_{aq}$ ) através da relação:

$$k = P \frac{V_{mc}}{V_{aq}} = P \frac{v(C_{sf} - cmc)}{1 - v(C_{sf} - cmc)} \quad [18]$$

onde  $v$  é o volume parcial específico do tensoativo constituindo a micela e  $C_{sf}$  é a concentração total de tensoativo.

O volume parcial específico ( $v$ ) é definido como a contribuição que o tensoativo possui no volume total da solução e pode ser calculado através da determinação da inclinação da reta de um gráfico da densidade ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) de solução do eletrólito em função da concentração do tensoativo e a partir da Equação [19].

$$v = \left[ \frac{1}{MM} \right] \left[ \left( \frac{MM}{\rho} \right) + \left( \frac{1000}{\rho^2} \right) b \right] \quad [19]$$

onde  $b$  é a inclinação da reta do gráfico mencionado acima,  $\rho$  é a densidade da solução para qual  $v$  está sendo calculado e  $MM$  é a massa molecular do tensoativo em estudo.

### 5.2.2 Parâmetros que influenciam a resolução em MEKC

Em qualquer problema analítico que envolve separação, o objetivo fundamental é obter completa resolução entre todos os analitos presentes. A resolução ( $R_s$ ) é definida como uma medida quantitativa da capacidade do sistema em separar dois analitos<sup>88</sup> e é influenciada principalmente pelo número de pratos ( $N$ ), fator de separação ( $\alpha$ ) - definido pela razão entre os fatores de retenção dos solutos ( $\frac{k_2}{k_1}$ ) onde os subscritos 1 e 2 representam a ordem de eluição dos solutos ( $k_2 \geq k_1$ ), fator de retenção e janela de eluição.

A resolução é dada por:

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left( \frac{1-\alpha}{\alpha} \right) \left( \frac{k_2}{1+k_2} \right) \left( \frac{1 - \frac{t_0}{t_{mc}}}{1 + \left( \frac{t_0}{t_{mc}} \right) k_1} \right) \quad [20]$$

#### 5.2.2.1 Número de pratos ( $N$ )

O número de pratos é determinado por uma série de parâmetros experimentais. Entretanto, a difusão longitudinal do analito no eixo capilar é o fator que mais contribui para o alargamento de bandas em MEKC<sup>89</sup> e, portanto, o parâmetro que mais afeta o número de pratos. Isso é válido assumindo que os demais parâmetros que causam alargamento de banda, como efeito Joule, adsorção de analitos na parede do capilar, volume de injeção, etc., estejam minimizados por escolhas corretas das condições experimentais.

Separações realizadas a altas tensões que encurtam o tempo de análise e analitos que difundem lentamente e que possuem grandes massas moleculares fornecem  $N$  baixos. O número de pratos obtidos em MEKC é tipicamente na ordem de algumas centenas de milhares<sup>84,85</sup>.

#### 5.2.2.2 Fator de separação ( $\alpha$ )

O fator de separação é um dos parâmetros que mais influencia a resolução em MEKC e é governado principalmente pela estrutura do tensoativo e pela composição das fases aquosas e micelar, que podem ser modificadas pela presença de aditivos<sup>85</sup>.

Como já descrito, a separação de compostos neutros em MEKC é baseada na diferença de partição dos solutos entre a fase aquosa e a pseudo-fase micelar iônica. Dessa forma, a separação de compostos que possuem coeficiente de partição muito próximos uns dos outros, ou a análise de compostos muito hidrofóbicos, que possuem baixa solubilidade em água, é difícil de ser realizada.

Uma das maneiras de resolver esses problemas é modificar a estrutura do tensoativo de modo a alterar a distribuição dos solutos entre as fases, para que uma separação seletiva seja alcançada. Khaledi, M. e Yang, S.<sup>90</sup> estudaram a separação de uma série de 60 compostos aromáticos neutros, bases aceptoras de ligação de hidrogênio e ácidos doadores de prótons de ligação de hidrogênio em três sistemas diferentes (SDS, SC (colato de sódio) e LiPFOS (perfluorooctanato sulfonato de lítio)). Relações lineares de energia de solvatação (LSER) correlacionando o fator de retenção com descritores estruturais, como tamanho molecular, polarizabilidade e facilidade de realizar ligações de hidrogênio dos solutos com as micelas foram estudadas. Para os tensoativos aniônicos SDS e SC, as LSER mostraram que a retenção dos solutos é principalmente influenciada pelo tamanho molecular e pela basicidade de ligações de hidrogênio, enquanto que para LiPFOS, a acidez das ligações de hidrogênio e o tamanho molecular do soluto são os fatores mais importantes. O estudo concluiu que a diferença de seletividade entre os tensoativos é influenciada principalmente pelas interações de ligação de hidrogênio e são pouco influenciadas por outras interações dipolares.

A distribuição dos solutos entre as fases também pode ser alterada pela adição de modificadores. Dois tipos de modificadores podem ser considerados: os que promovem mudanças na fase aquosa do *bulk* e aqueles que alteram a fase micelar.

Solventes orgânicos muito hidrofílicos como metanol e acetonitrila<sup>91</sup> e diversos compostos, como ureia<sup>92</sup>, glicose, cátions metálicos<sup>93</sup>, entre outros, têm sido comumente utilizados como modificadores da fase aquosa. A adição dos mesmos promove o aumento da solubilidade dos solutos nessa fase, o que faz diminuir o coeficiente de partição desses compostos<sup>84,85</sup>. Além disso, a adição desses modificadores tem sido realizada a fim de promover um aumento na “janela” de migração, melhorar o formato dos picos eletroforéticos e modificar a retenção relativa, através da diminuição da coesão entre as micelas e solução eletrolítica e, do aumento da acidez de ligações de hidrogênio na pseudo-fase micelar<sup>87</sup>.

Por outro lado, a modificação da fase micelar tem sido realizada pelo uso de tensoativos estruturais especiais e micelas mistas de diferentes tensoativos; ou ainda através da adição de compostos que promovem modificações na estrutura micelar.

Katsuta, S. e Saitoh, K.<sup>94</sup> estudaram o efeito de aditivos orgânicos “anfífilos” (compostos hidroxílicos e cetonas) nas separações de diversos compostos (metanol, fenol, Co(acac)<sub>3</sub>, 1,4-dinitrobenzeno, Cr(acac)<sub>3</sub>, nitrobenzeno, p-cresol, acetofenona, 4-clorofenol, tolueno, clorobenzeno, 2-naftol, naftaleno, Pd(acac)<sub>3</sub> e Oil Yellow OB) em um sistema onde micelas de SDS foram utilizadas. O estudo mostrou que os efeitos que os modificadores promovem na seletividade da separação é significativa, e é dependente da localização que ocupam na micela. Quando a distribuição dos modificadores ocorre predominantemente na superfície da micela, próxima a camada de Stern, a competitividade dos compostos hidrofílicos pela micela é diminuída, aumentando a partição desses compostos. Quando os solutos se associam aos modificadores através de interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio, a incorporação mais interna na micela é favorecida. E, quando modificadores se associam ao MC, aumenta o tamanho do miolo das micelas favorecendo a incorporação de compostos apolares.

### 5.2.2.3 Fator de retenção ( $k$ )

O fator de retenção é representado pelo terceiro termo da Equação [20]. Diferentemente dos métodos de cromatografia convencional onde quanto maior  $k$ , melhor  $R_s$ , em MEKC, as melhores resoluções são obtidas quando o fator de retenção é aproximadamente igual a 2 ( $k_{opt}$ ), pois os tempos de migração estão limitados entre  $t_o$  e  $t_{mc}$ .  $k_{opt}$  pode ser determinado através da Equação [21].

$$k_{opt} = \sqrt{\frac{t_{mc}}{t_o}} \quad [21]$$

Uma das vantagens de MEKC é a facilidade de manipular o fator de retenção dos solutos modificando apenas a concentração do tensoativo. Como mostrado na Equação [18], o fator de retenção é linearmente proporcional a concentração do tensoativo. Assim, dependendo da natureza do tensoativo, sua concentração pode ser ajustada para obter  $k_{opt}$ . Em geral, as concentrações que produzem melhores resoluções são aquelas que possuem um valor igual a 10 vezes o da cmc do tensoativo.

#### 5.2.2.4 Janela de eluição

A janela de eluição em MEKC é o intervalo de tempo disponível para a eluição dos solutos neutros. Em outras palavras, todos os solutos neutros devem ser separados entre  $t_o$  e  $t_{mc}$ .

Uma pequena supressão no EOF melhora a resolução alterando a janela de eluição, porém aumenta o tempo das separações<sup>95</sup>. Um baixo pH ou o uso de um capilar como superfície de sílica revestida pode ser empregado para suprir o EOF.

### 5.3 Obtenção dos parâmetros termodinâmicos

A entalpia ( $\Delta H^t$ ) e entropia ( $\Delta S^t$ ) de transferência da fase aquosa para pseudo-fase micelar podem ser obtidas através da relação de van't Hoff (Equação [22]).

$$\ln P = -\frac{\Delta H^t}{RT} + \frac{\Delta S^t}{R} \quad [22]$$

onde  $R$  é a constante dos gases e  $T$  é a temperatura absoluta.

Assim, de um gráfico de  $\ln P$  versus  $\frac{1}{T}$ ,  $\Delta H^t$  pode ser obtido através do coeficiente angular, enquanto que o coeficiente linear fornece  $\Delta S^t$ .

Essa relação é válida para transferências que apresentam parâmetros termodinâmicos constantes com a temperatura.

Em alguns casos,  $\Delta H^t$  e  $\Delta S^t$  mudam bastante com a temperatura. Uma aproximação de primeira ordem, assume que a capacidade calorífica dos solutos é diferente em cada uma das fases e um novo termo ( $\frac{c}{T^2}$ ) aparece na equação de van't Hoff. Um ajuste polinomial pode então ser usado para analisar os dados que exigem um ajuste não linear.

$$\ln P = a + \frac{b}{T} + \frac{c}{T^2} \quad [23]$$

onde:

$$\Delta H^t = -R \left( b + \frac{2c}{T} \right) \quad [24]$$

$$\Delta S^t = R \left( a - \frac{c}{T^2} \right) \quad [25]$$

## 6. Relações lineares de energia livre (LSER) para caracterizar as interações existentes entre solutos e micelas.

Uma das maneiras de obter informação sobre o compartimento micelar preferencialmente populado por um soluto é através da análise dos parâmetros termodinâmicos de transferência entre a solução aquosa e micelas, como descrito anteriormente. Para corroborar as conclusões obtidas dessa análise foram pesquisadas relações lineares de energia de solvatação (LSER, do inglês, *Linear Solvation Energy Relationships*) utilizando parâmetros moleculares capazes de identificar as propriedades estruturais que governam a interação soluto-micela e, portanto, a transferência dos solutos do *bulk* aquoso para a micela, podem ser pesquisadas. Essas relações são modelos matemáticos que podem ser construídos usando métodos estatísticos como regressão múltipla, PCR, PLS, entre outros.

Historicamente, as LSER têm origem nos estudos que descreveram o efeito de substituintes em anéis aromáticos nas velocidades de reação e equilíbrio ácido-base. Um dos mais notórios trabalhos é o de Hammett, que em 1937 inaugurou o estudo de relações lineares de energia livre (LFER, do inglês, *Linear Free-energy Relationships*), obtendo uma correlação linear entre o logaritmo da constante de equilíbrio,  $K$  (proporcional a energia livre), e a constante  $\sigma$  de cada substituinte, baseada na ionização dos ácidos benzóicos em água (Equação [26]).

$$\log K = f_{linear}(\sigma) \quad [26]$$

As LSER descrevem o processo de solvatação e/ou transferência de solutos entre duas fases, onde cada variável é intencionalmente construída de modo a responder por uma característica específica. Essas relações quantificam a importância de descritores empíricos ou descritores baseados na estrutura molecular, e foram introduzidas por Kamlet e Taft<sup>96,97</sup>, e mais recentemente vem sendo estudada por Abraham *et. al.*<sup>98</sup> e outros.

Abraham *et. al.*<sup>98</sup> em seus estudos, substituem a  $K$  da LFER pelo coeficiente de partição ( $P$ ) (Equação [27]). Nesse modelo, o processo de solvatação é descrito como a transferência do soluto da fase gasosa para uma fase condensada, e ocorre através das seguintes etapas: (1) criação de uma cavidade do tamanho do soluto no solvente, (2) reorganização do solvente em torno da cavidade e introdução do soluto na cavidade e (3) “nascimento” de ligações soluto-solvente (Figura 10).

$$\log P = f_{linear}(Vx, E, S, A, B) \quad [27]$$

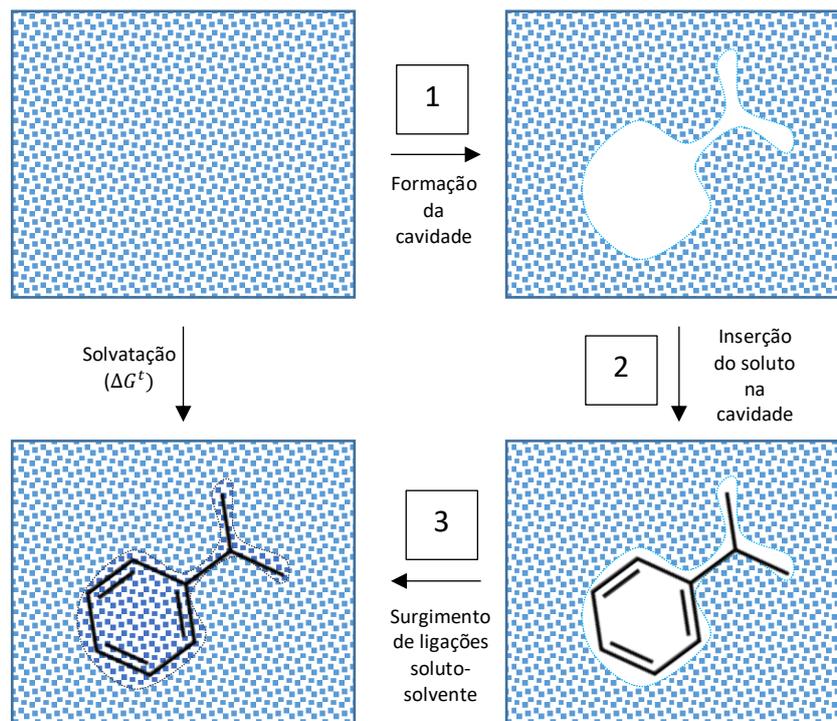


Figura 10. Representação esquemática das mudanças que ocorrem na fase aquosa quando da transferência de um soluto da fase gasosa para essa fase.

A solvatação do soluto é explicada por dois diferentes tipos de interações intermoleculares<sup>99</sup>:

- a) Hidrofóbicas, representadas pelo termo  $Vx$ <sup>100</sup> (Volume de McGowan): descrevem a formação da cavidade – interações dispersivas.
- b) Polares, representadas pelos termos  $E$  e  $S$ : descrevem interações dipolares e de polarizabilidade; e específicas: termos  $A$  (acidez – capacidade doadora de ligações de hidrogênio) e  $B$  (basicidade – capacidade receptora de ligações de hidrogênio): descrevem ligações de hidrogênio.

Esses descritores ( $Vx$ ,  $E$ ,  $S$ ,  $A$  e  $B$ ) são propriedades experimentalmente determinadas, obtidas através de constantes de equilíbrio e variações de máximos de absorção espectroscópica em função do solvente e de referências<sup>101,102</sup>. Este enfoque ainda é utilizado com sucesso em inúmeras correlações e tem fornecido interpretações bastante detalhadas sobre as relações entre a estrutura molecular e equilíbrios de partição entre fases. Entretanto, a necessidade de medidas experimentais é uma dificuldade considerável, principalmente quando se pretende planejar moléculas para determinados fins, como fármacos por exemplo<sup>103,104</sup>. Além desta dificuldade, existe uma grande redundância entre os descritores, apresentando sobreposição de informação

e até multicolinearidade. A capacidade doadora de ligações de hidrogênio ( $A$ ), por exemplo, leva informações do volume molecular ( $Vx$ ), uma vez que os hidrogênios estão na parte periférica da estrutura. Vale citar também que a molécula contém implicitamente toda informação química, mas apenas uma parte dessa informação pode ser extraída por medidas experimentais<sup>105</sup>.

Descritores baseados apenas na estrutura molecular evitam a determinação experimental dos descritores empíricos e principalmente a síntese do soluto. Também permitem diferenciar moléculas dentro de uma mesma classe funcional.

Esses descritores abrangem índices topológicos e baseados em cálculos quânticos.

Os descritores topológicos são amplamente empregados devido a facilidade em calcular seus índices a partir da estrutura molecular. Esses descritores mostram de maneira simples as ramificações, forma, tamanho, semelhanças e diferenças moleculares. Apesar destas facilidades de obtenção são necessários uma série de índices topológicos para descrever apenas uma característica estrutural, o que leva as correlações dependerem de um grande número amostral para serem estatisticamente significantes<sup>105</sup>.

Os descritores quânticos conseguem expressar muitas das propriedades eletrônicas e geométricas de uma molécula e suas interações com o ambiente, fornecendo uma visão mais detalhada e acurada dos efeitos eletrônicos que os métodos empíricos. Sua desvantagem é o custo computacional, o que dificulta a obtenção de descritores com rapidez. O desenvolvimento de métodos semi-empíricos, porém, tem resultado em valores realísticos de grandezas moleculares em tempos razoáveis de computação<sup>105</sup>.

Uma das tentativas mais bem-sucedidas de substituir descritores empíricos por descritores teóricos é a de Famini e colaboradores<sup>101,106</sup>, que encontraram correlações empregando LSER contendo seis parâmetros: o volume molecular do soluto e cinco parâmetros “substitutos” derivados de cálculos químicos quânticos teóricos. Esses parâmetros substitutos incluem cargas atômicas específicas (maior carga de hidrogênio e carga do átomo mais negativo), polarizabilidades e as energias HOMO/LUMO do soluto. Anos mais tarde, Farah e colaboradores<sup>107</sup> aplicaram com sucesso a mesma abordagem para explicar a solubilização de solutos não iônicos em micelas aniônicas de dodecil sulfato de sódio (SDS) e demonstraram que a LSER resultante é quimicamente razoável e consistente com aquela obtida empregando o sistema de Abraham para os parâmetros do soluto. Nessas correlações, os descritores estruturais dos solutos são incorporados no modelo de Abraham dando a expressão geral:

$$\log k = f_{\text{linear}}(\text{descritores}) \quad [28]$$

onde o fator de retenção ( $k$ ) pode ser substituído pelo coeficiente de partição ( $P$ ).

A facilidade obtenção de coeficientes de partição a partir de dados precisos de retenção por cromatografia micelar (MLC e MEKC) possibilitou muitos estudos de QSRR (do inglês, *Quantitative Structure Retention Relationships*)<sup>108,109</sup> e LSER (conhecendo-se a razão de volumes de fases).

MEKC é uma das técnicas mais vantajosas no estudo de interações soluto-micela por LSER. A aplicação dessa abordagem nesses meios organizados leva em consideração aspectos como a estrutura, tamanho e formato das micelas, que podem ser facilmente alterados pelas características do meio. Modulando a composição do eletrólito, através da adição de modificadores, como solventes orgânicos, por exemplo, novas fases dispersas podem ser criadas para estudar a interação soluto-micela<sup>99</sup>. Vale citar ainda, que em uma única corrida, é possível obter valores precisos de  $k$  para uma ampla gama de compostos.

## **Capítulo 2. Objetivos e Justificativas**

O principal objetivo deste trabalho é determinar os parâmetros termodinâmicos de incorporação de terpenos em micelas aquosas de SDS por MEKC, visando escrutinar a localização desses compostos em dois diferentes sistemas: um formado por SDS e TBS e outro formado por SDS, TBS e 10% v/v de etanol. Além disso, relações lineares de energia de solvatação (LSER) são utilizadas para estudar os descritores moleculares que mais explicam a transferência dos solutos entre as fases.

Como apresentado na introdução deste trabalho, etanol é um solvente modificador da fase aquosa desse sistema sendo utilizado, principalmente, para aumentar a solubilidade dos solutos nessa fase. Neste trabalho, uma concentração elevada de álcool foi utilizada buscando não apenas aumentar a solubilidade dos solutos na fase aquosa, mas também forçar a incorporação destes na micela, modificando as interações que os solutos apresentariam nos compartimentos micelares, quando da ausência de álcool. A ideia é estudar as mudanças que esse solvente promove no sistema, e como os coeficientes de partição dos solutos são afetados.

Outro tensoativo foi cogitado para o estudo, o SLES (lauril éter sulfato de sódio). Esse detergente possui uma camada hidrofílica a mais em sua estrutura (paliçada), o que engrandeceria o conhecimento da distribuição dos terpenos nesses sistemas. Entretanto, a dependência de purificação e/ou síntese do tensoativo, bem como cmcs muito baixas e difíceis de serem determinadas<sup>120-124</sup>, e a indicação de estudos de dinâmica molecular que mostraram que em 20% de etanol, apenas pequenos agregados existem, fez com que esse estudo não fosse continuado.

Por conta da variedade de interações intermoleculares que podem ocorrer nos multi-compartimentos micelares, este estudo pode contribuir para o entendimento da distribuição desses compostos nos sistemas micelares em estudo, bem como auxiliar na compreensão das funções que os mesmos desempenham na natureza.

## **Capítulo 3. Parte Experimental**

## 1. Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho eram de classe analítica, não havendo a necessidade de purificação. Álcool etílico absoluto (P.A.) foi adquirido de Labsynth (Diadema, SP), SDS foi adquirido da Sigma-Aldrich (Japan) e TBS da Riedel-de-Haen (Germany). A água foi deionizada e purificada em um sistema de purificação de água (Millipore Milli-Q Gradient<sup>®</sup>, MA, USA) e usada para preparar todas as soluções.

Os padrões de t-anetol, cânfora, citronelal, cumarina, eugenol, cumeno, limoneno, linalol,  $\alpha$ -terpineol e verbenona foram adquiridos de Sigma Chemical Company (Louis, MO; USA), carvona foi adquirida de Fluka (Switzerland) e dodecilbenzeno foi adquirido de Sigma-Aldrich (Japan). As soluções estoque desses compostos foi preparada em álcool etílico absoluto na concentração de 1000 mg.L<sup>-1</sup> e eram mantidas em temperatura ambiente. As soluções para trabalho diário foram preparadas por diluição das soluções estoque com o mesmo solvente diretamente no *vial* do equipamento até uma concentração de 100 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto que a concentração do marcador de tempo de migração da micela (dodecilbenzeno) utilizada foi de 50 mg.L<sup>-1</sup>.

## 2. Equipamentos e métodos

A obtenção dos parâmetros termodinâmicos é dependente de três principais medidas: fator de retenção dos solutos, cmc dos sistemas micelares, e volume parcial específico da fase micelar no eletrólito de cada sistema em cada uma das temperaturas trabalhadas. A seguir são mostrados, individualmente, como foram realizadas cada uma dessas medições.

São mostrados também como foram obtidos os descritores teóricos para a construção dos modelos de LSER, e como as demais análises multivariadas utilizadas foram realizadas.

### 2.1 Determinação do fator de retenção (*k*)

Os experimentos para determinação do fator de retenção dos solutos foram conduzidos em um equipamento de eletroforese capilar (Beckman Coulter, PA 800, Fullerton, CA, USA) equipado com um detector de UV com comprimento de onda selecionáveis e dispositivo de controle de temperatura. O software para aquisição de dados também foi fornecido pela Beckman Coulter (32 Karat<sup>™</sup>). Um capilar de sílica fundida revestida com poliamida de 50 $\mu$ m de diâmetro interno (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA) com

dimensões de 40,2 cm de comprimento total (30,0 cm de comprimento efetivo) foi usado para a separação. Em cada experimento, a temperatura do capilar foi selecionada de 25°C até 45°C variando-se de 4 em 4°C. As amostras foram mantidas em um sistema de auto-amostrador e injetadas hidrodinamicamente com pressão de 0,5 psi por 3 s. Uma tensão constante de +20 kV foi aplicada para separação. A detecção foi efetuada em um comprimento de onda de 200 nm. Todas as corridas foram realizadas em triplicata. Foram retiradas as médias dos tempos ( $t_o$ ,  $t_r$  e  $t_{mc}$ ) para obtenção dos coeficientes de retenção obtidos em cada eletroferograma e os mesmos foram utilizados para a obtenção do coeficiente de partição.

Novos capilares foram condicionados por lavagem com 1 mol.L<sup>-1</sup> de hidróxido de sódio (NaOH) por 30 min, posteriormente com água deionizada por 30 min e então com eletrólito por 30 min. No início de cada dia de trabalho, o capilar foi condicionado com 1 mol.L<sup>-1</sup> de NaOH por 5 min, então com água deionizada por 10 min e finalizando com eletrólito de corrida por 10 min. Entre as injeções, o capilar foi lavado com o eletrólito por 1 min.

Os eletrólitos de trabalho consistiam em misturas de TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> e SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup>, e TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup>, SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> e 10% (v/v) de etanol. Todos os reagentes (SDS, TBS, etanol e água) eram pesados em uma balança analítica com precisão de ± 0,0001g (Mettler Toledo, Switzerland) para determinação da concentração molar.

## 2.2 Determinação da concentração micelar crítica (cmc)

A cmc dos sistemas formados por SDS e TBS e SDS, TBS e EtOH foram determinadas por condutividade utilizando um condutivímetro (Digimed, DM – 32, SP). As cmcs foram determinadas de 25 a 45°C, sendo que a correta temperatura nas medições foi promovida por um banho termoestabilizado (Lauda ECO RE1225, Lauda-Köenigshofen, Germany). As soluções foram mantidas em um recipiente de vidro silanizado.

A sinalização foi realizada após ter sido observada adsorção de SDS e TBS no recipiente e eletrodo de platina em camisa de vidro. Nesse processo, o recipiente foi embebido com clorotrimetilsilano e seco em estufa a 40°C por 24 horas. A reação desse processo está representada na Equação [29].



O eletrodo de vidro foi substituído por um eletrodo com camisa de plástico.

Além da adsorção foi observada a evaporação da solução do eletrólito de SDS, TBS e EtOH com o aumento da temperatura. Esse efeito foi contornado mantendo o recipiente onde foi realizado a titulação, e solução estoque fechados. Além disso, a determinação da cmc para os sistemas foram realizadas de formas diferentes.

Para o sistema SDS/TBS, foram preparadas soluções com concentrações constantes de TBS ( $20 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ) em variadas concentrações de SDS ( $0,3 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ,  $0,7 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ,  $0,9 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ,  $1,3 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ,  $1,7 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ,  $3,1 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ,  $5,1 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ,  $10,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$  e  $15,3 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ). Cada solução foi transferida para um copo termostaticado a  $45^\circ\text{C}$  e após a constância na temperatura, foram resfriadas até atingir  $25^\circ\text{C}$  computando as medidas de condutividade a cada 10 s. Quando a solução atingia  $25^\circ\text{C}$ , a solução era descartada, o copinho era lavado, aquecido até  $45^\circ\text{C}$  e mais uma medida da solução de mesma concentração era realizada. Esse procedimento foi realizado para todas as soluções.

Nesse sistema, como as medidas de condutividade ( $C$ ) de cada solução foram determinadas em todo o intervalo de temperaturas entre  $25^\circ\text{C}$  e  $45^\circ\text{C}$ , foi criado um *script* no software R (Anexo 1), que antes de obter os gráficos de  $C$  em função da molalidade do tensoativo, realiza uma série de tratamentos nos dados. Inicialmente, foi verificado como ocorre a variação de  $C$  com a temperatura ( $T$ ) para cada molalidade. O melhor ajuste obtido é uma parábola para todas as concentrações. Após, foram calculados os resíduos de cada ponto em relação as parábolas ajustadas e os pontos que possuíam desvios absolutos altos em relação às mesmas foram retirados, até que o erro do ajuste da parábola fosse menor que 3%. Os gráficos de  $C$  em função da molalidade foram então plotados em várias temperaturas e escolhidos quais os pontos fariam parte das regressões antes e após a cmc.

Para o sistema SDS/TBS/EtOH, uma titulação condutimétrica foi realizada de  $25^\circ\text{C}$  a  $45^\circ\text{C}$ , em intervalos de  $4^\circ\text{C}$ . Foram preparadas soluções estoque com TBS  $20 \text{ mmol.kg}^{-1} + 10\%$  v/v de EtOH (solução A) e SDS  $200 \text{ mmol.kg}^{-1} + \text{TBS } 20 \text{ mmol.kg}^{-1} + 10\%$  v/v de EtOH (solução B).

Aproximadamente 50 g da solução A foi pesada no copo e termostaticada em cada uma das temperaturas. Após a constância da temperatura e da condutividade da solução (computadas através de aproximadamente 10 medidas de igual valor), a condutividade foi anotada. Foram adicionadas sucessivas alíquotas da solução B anotando a condutividade, após verificada a constância da condutividade da solução. Foram realizadas ao todo 22 adições de solução estoque B. A solução final atingiu aproximadamente uma concentração de  $7 \text{ mmol.kg}^{-1}$  de SDS. A determinação dessa cmc foi realizada em duplicata.

A construção dos gráficos para obtenção da cmc (condutividade versus concentração molal de tensoativo) para esse sistema foi realizada utilizando o software StatView™ SE+Graphics v 1.03,9/15/80 (desenvolvido por Dan Feldman, Jim Gangnon, Rich Hofmann e Joe Simpson).

Os dois métodos se mostraram eficientes na determinação da cmc.

### **2.3 Determinação do volume parcial específico da fase micelar ( $v$ )**

Para obtenção do volume parcial específico da fase micelar das soluções de trabalho, medidas de densidade das soluções, contendo os mesmos componentes do eletrólito, variando-se a concentração de SDS, foram realizadas de 25 a 45°C em intervalos de 2°C para o sistema SDS/ TBS, e de 4° em 4°C para o sistema SDS/TBS/EtOH, utilizando um densímetro (Anton Paar, DMA 5000M, Graz, Austria).

Para o sistema de SDS/TBS/EtOH foram preparadas soluções com concentrações de aproximadamente 10 a 50 mmol.kg<sup>-1</sup> de tensoativo e para o sistema de SDS/TBS o intervalo utilizado foi de 30 a 100 mmol.kg<sup>-1</sup>. O densímetro possuiu um sistema automático que permite escolher um intervalo de temperaturas para as medições, sendo que as densidades são computadas apenas após a temperatura atingir um valor constante.

As densidades de cada sistema foram então plotadas versus a concentração molal do tensoativo para obtenção do  $b$  (inclinação dessa reta) utilizado na equação [19], para cálculo do  $v$ . As densidades das soluções dos eletrólitos utilizado nas separações nos dois sistemas foram também medidas em todas as temperaturas, e utilizadas posteriormente nessa mesma equação para calcular o volume parcial específico da fase micelar de cada sistema.

### **2.4 Determinação dos parâmetros termodinâmicos**

Os parâmetros termodinâmicos de transferência entre as fases aquosa e micelar para ambos os sistemas foram obtidos a partir de relações de van't Hoff descritas pelas equações [22] e [23].

Para escolha do ajuste (linear ou polinomial) de cada relação  $\ln P$  versus  $T^{-1}$  foi utilizada a estatística Cp de Mallows<sup>128</sup>, além dos demais parâmetros da regressão como coeficiente de determinação ( $R^2$ ), coeficiente de determinação ajustado ( $R^2$  ajustado), coeficiente de correlação ( $Q^2$ ), soma dos quadrados dos resíduos preditos (PRESS) e análise de resíduos.

O  $C_p$  é usado para avaliar o modelo de regressão mais adequado em estimar a variável dependente na regressão. Um valor pequeno de  $C_p$  (próximo ao grau de liberdade do modelo) indica que o modelo é relativamente preciso (tem pequena variância) e não equivocado em estimar os coeficientes verdadeiros da regressão e prever respostas futuras.

Dois ajustes foram comparados para cada terpeno em cada sistema estudado: regressão linear e regressão polinomial de segundo grau, considerando inicialmente todas as temperaturas nas quais as medidas de coeficiente de partição foram realizadas e, após, retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação ao ajuste. Quando o  $C_p$  para a regressão linear era menor ou igual a 2, ela foi escolhida. Para  $C_p$ s maiores, o ajuste selecionado foi o polinomial de segundo grau.

Para construção das regressões (lineares e polinomiais) bem como determinação do  $C_p$ , foi utilizado o software R. O script encontra-se anexado a esta dissertação (Anexo 2).

## **2.5 Cálculo de descritores**

Para obtenção dos descritores, as geometrias de equilíbrio dos confôrmeros mais estáveis para cada composto da série de terpenos estudados foram determinadas usando um método empírico AM1 como implementado no programa Amsol v7.1 (escrito por G.D. Hawkins, D.J. Giesen, G.C. Lynch, C.C. Chambers, I. Rossi, J.W. Storer, J. Li, J.D. Thompson and P. Winget, University of Minnesota, Minneapolis, MN, U.S.A.). Para cada conformação foram calculadas as áreas de acesso ao solvente (água, raio=1,4Å) utilizando o programa GEPOL93 v8 (escrito por J. L. Pascual-Ahuir, E. Silla and I. Tunon, University of Valencia, Burjassot, Valencia, Spain) e composições entre as cargas atômicas parciais (CM2 e Mulliken), para todos os átomos das moléculas, com médias populacionais baseadas na energia de formação. As mesmas médias foram usadas para calcular energias do HOMO e LUMO, momento de dipolo, entre outros descritores. Também foi calculado o volume molecular ( $V_x$  de McGowan).

## **2.6 Estudo da variabilidade dos terpenos**

A seleção dos terpenos para estudo foi realizada considerando a estabilidade dos mesmos em solução e a possibilidade de separação por MEKC. Entretanto, a ideia é que além dessas propriedades os mesmos possuam diferentes características e populem, preferencialmente, diferentes posições nas micelas.

Buscando estudar a variabilidade de características dos compostos selecionados para o estudo, análises de agrupamentos e análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) foram realizadas. Nessas análises os descritores teóricos calculados foram utilizados como variáveis para ambos os modelos. Essas análises permitem identificar ainda se os descritores teóricos calculados conseguem descrever as características moleculares dos compostos.

A análise de agrupamentos (ou *cluster*) é um procedimento estatístico multivariado hierárquico, que tem como propósito identificar grupos homogêneos em uma série de dados. Permite ainda, classificar objetos baseados na observação das semelhanças e diferenças entre eles. O método agrupa os indivíduos em função das informações existentes, de modo que os indivíduos de um grupo sejam tão semelhantes entre si e tão diferentes dos restantes dos demais quanto possível.

Para realizar a análise de agrupamentos, as variáveis (descritores) foram normalizadas pela escala Z e foram analisadas, duas a duas, as correlações existentes entre elas. Quando uma correlação maior que 0,85 era encontrada, uma das variáveis era pré-selecionada para o modelo e a outra era descartada. Essa escolha foi baseada na entropia de Shannon<sup>115</sup>, onde aquela com maior entropia foi selecionada para o modelo. Se a variável pré-selecionada apresentava correlação com uma outra variável, a entropia era novamente utilizada como parâmetro de seleção, e assim sucessivamente, até que nenhuma variável correlacionada estivesse presente no modelo.

A entropia de Shannon<sup>115</sup> é uma medida do grau de variabilidade para um conjunto de dados que representam uma mesma variável. O conceito de entropia se associa à ideia de que quanto maior essa variabilidade (entropia), maior é a informação que se obtém ao observar sua ocorrência. Encontra-se anexada a esta dissertação um *script* utilizado no software R para cálculo da entropia de Shannon das variáveis (Anexo 3).

Já, a análise de componentes principais é um método estatístico multivariado introduzido por Karl Pearson em 1901<sup>111</sup> que tem por finalidade a análise de dados visando sua redução, eliminação de sobreposição e escolha das formas mais representativas de dados a partir de combinações lineares das variáveis originais. A primeira componente principal (PC1) representa o arranjo que melhor representa a distribuição dos dados. Em outras palavras, PC1 é a componente que possui maior variância. A segunda componente principal (PC2) representa o arranjo com segunda maior variância, e assim por diante.

Na PCA, uma matriz é construída com todas as informações das amostras sendo finalmente decomposta em um produto de duas matrizes, uma matriz de *scores* e uma matriz

de *loadings*. O conjunto de *scores* e *loadings* é denominado de componentes principais. Cada componente principal é ortogonal às demais de modo que não sejam correlacionadas e expliquem diferentes características do modelo. As componentes principais que possuem maior variância são utilizadas para explicar a separação dos compostos no modelo final.

## 2.7 Construção dos modelos LSER

Os modelos de LSER foram construídos através de regressões lineares simples e múltiplas de  $\ln P$  versus os descritores calculados. A escolha dos descritores para a regressão múltipla foi realizada utilizando o pacote *leaps* (função *regsubsets*) do software R (<http://www.r-project.org/>). Essa função busca para ambas as regressões, os descritores que mais se correlacionam com  $\ln P$ . Na regressão múltipla, a procura dos dois melhores descritores para o modelo foi realizada até que fossem encontrados dois descritores não correlacionados entre si.

Foram também utilizadas regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês, *Partial Least Squares Analysis*), regressão por mínimos quadrados parciais esparsas (SPLS, do inglês, *Sparse Partial Least Squares Analysis*) assim como modelos de análises discriminantes: PLS-DA (do inglês, *Partial Least Squares Discriminant Analysis*), SPLS-DA (do inglês, *Sparse Partial Least Squares Discriminant Analysis*) para estudar os principais descritores que explicam  $\ln P$ ,  $\Delta H^\circ$  e  $\Delta S^\circ$ . O modelo PLS foi construído utilizando a similaridade de características estruturais dos compostos,  $\Delta H^\circ$ ,  $\Delta S^\circ$  e  $\ln P$  35,4°C como variáveis dependentes do modelo.

Os modelos multivariados esparsos foram os que apresentaram melhores separações entre os grupos pré-definidos e apenas esses resultados são apresentados nessa dissertação.

Os modelos SPLS-DA foram estudados ainda realizando a separação entre os grupos baseando-se na proximidade de valores de  $\Delta H^\circ$  e  $\Delta S^\circ$ .

O modelo PLS pode ser entendido como uma combinação de recursos da análise de componentes principais e regressão múltipla<sup>112</sup>. Essa técnica reduz o número de preditores para um conjunto menor de componentes não correlacionadas, assim como em PCA, e executa a regressão por mínimos quadrados nas novas componentes, em vez dos dados originais, buscando a máxima correlação com variáveis pré-definidas<sup>113</sup>.

O modelo PLS-DA é um modelo supervisionado de estatística multivariada PLS que reduz a dimensão dos dados preservando o máximo de discriminação entre as classes. A

discriminação consiste em procurar características capazes de serem utilizadas para alocar objetos em diferentes grupos pré-definidos<sup>14</sup>. Em outras palavras, o modelo realiza uma transformação, que maximiza a diferença entre as classes, enquanto diminui a dispersão entre os compostos de mesma classe.

Os modelos esparsos (SPLS e SPLS-DA) são utilizados para reduzir ainda mais a redundância dos dados, onde o número de variáveis que explicam a separação entre os grupos é restrito, em outras palavras, pode ser fixado. A restrição utilizada aqui considerou dez variáveis para o modelo final.

Todas as análises multivariadas foram realizadas utilizando o software R. Os scripts desses programas podem ser visualizados em anexo (Anexo 4).

## **Capítulo 4. Resultados e Discussão**

## 1. Seleção dos terpenos e estudo dos descritores

Como abordado na introdução dessa dissertação, buscando estudar a variabilidade estrutural dos terpenos selecionados para estudo, bem como, identificar se os descritores calculados conseguem descrever as características moleculares dos compostos, análises de agrupamento e análises de componentes principais foram realizadas. Os resultados obtidos desses modelos são descritos nos itens 1.1 e 1.2 a seguir.

### 1.1 Análise de agrupamento

Existem diferentes maneiras de se realizar uma análise de agrupamentos. Para as análises realizadas aqui, o tratamento que se mostrou mais adequado foi o método hierárquico onde a medida de similaridade foi expressa como função da distância euclidiana, ou seja, através da distância geométrica entre os pontos.

Em um primeiro tratamento, todos os descritores teóricos foram considerados. Em um segundo agrupamento, os dados foram preparados para remover variáveis redundantes, ou seja, descritores correlacionados.

Considerando os compostos no estudo, o primeiro tratamento sugeriu a separação em três grupos: um formado por cumeno, t-anetol e eugenol; um segundo, formado por limoneno, linalol e terpineol; e, um terceiro, formado por citrônella, carvona, verbenona e cânfora (Figura 11).

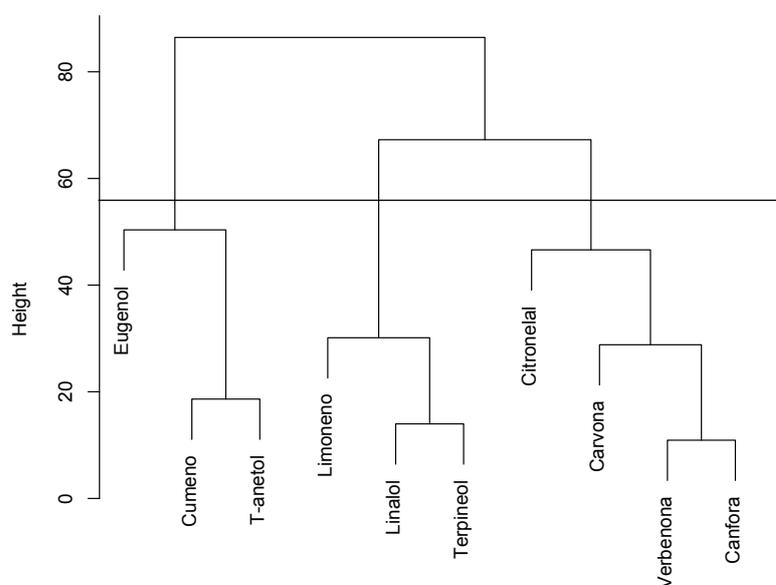


Figura 11. Grupos obtidos na análise de agrupamentos considerando todos os descritores teóricos calculados.

Em um segundo tratamento, as variáveis selecionadas para a construção do dendograma foram: *HOMO*, *LUMO*, *Dipcm2X*, *Dipcm2Y*, *Dipcm2Z*, *DM\_hybX*, *DM\_hybY*, *DM\_hybZ*, *MaxcO*, *MaxmH*, *MaxmO*, *ScH*, *ScaO*, *SrmH*, *RelaTcH*, *RelaTmH*, *QADmH*, *RATH*, *mxcpHo* e *rahcc*.

Os resultados são expostos na Figura 12. Quatro grupos são obtidos: linalol e citronelal em um primeiro grupo, cumeno e terpineol em um segundo grupo, cânfora, carvona e limoneno em um terceiro grupo e, finalmente, t-anetol e verbenona em um quarto grupo. Eugenol não é classificado em nenhum grupo.

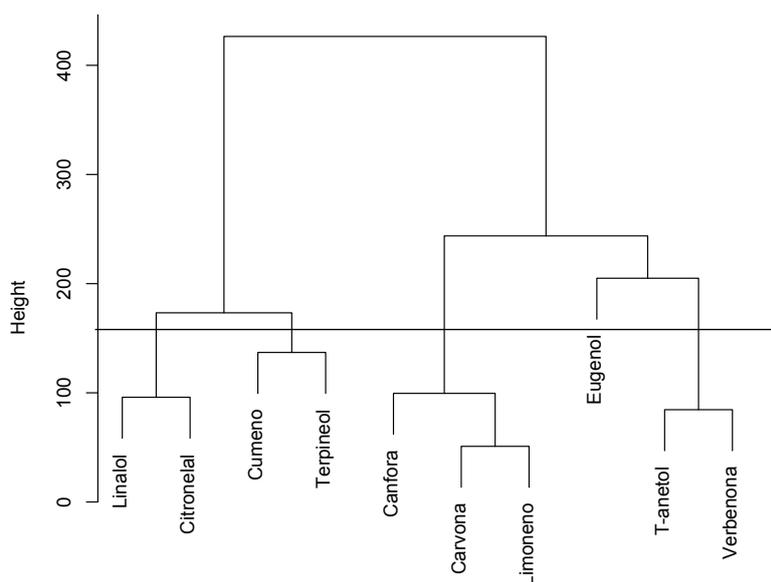


Figura 12. Grupos obtidos na análise de cluster quando variáveis correlacionadas são removidas do modelo.

As melhores separações observadas são aquelas obtidas através do primeiro tratamento. Cumeno e t-anetol, compostos bastante hidrofóbicos da série, são classificados em um mesmo grupo, dando uma ideia de que a interação hidrofóbica deve governar a transferência desses compostos no sistema. Embora eugenol possua grupos polares, a presença de uma ligação de hidrogênio intramolecular deve favorecer a contribuição hidrofóbica para a transferência, sendo esse composto classificado no grupo com compostos hidrofóbicos da série.

Para os compostos mais hidrofílicos, a classificação é bem criteriosa, estando as carbonilas separadas dos álcoois. Limoneno é o composto mais hidrofóbico da série, mas é classificado no grupo dos álcoois.

De uma maneira geral, podemos verificar que ocorre perda de informação, quando as variáveis correlacionadas são descartadas (Figura 12), indicando que o modelo mais adequado para estudo é o que considera todos os descritores calculados.

Além disso, a separação dos terpenos apresentada nos dendogramas consegue agrupar compostos com características e propriedades estruturais semelhantes, bem como classificar terpenos não similares em grupos diferentes, demonstrando que os descritores teóricos computados são suficientes para descrever a retenção dos terpenos nos sistemas micelares em estudo.

## 1.2 Análise de componentes principais (PCA)

Assim como na análise de agrupamentos, a análise de PCA foi realizada utilizando os descritores teóricos calculados como variáveis. O gráfico da PC1 versus PC2 está representado na Figura 13.

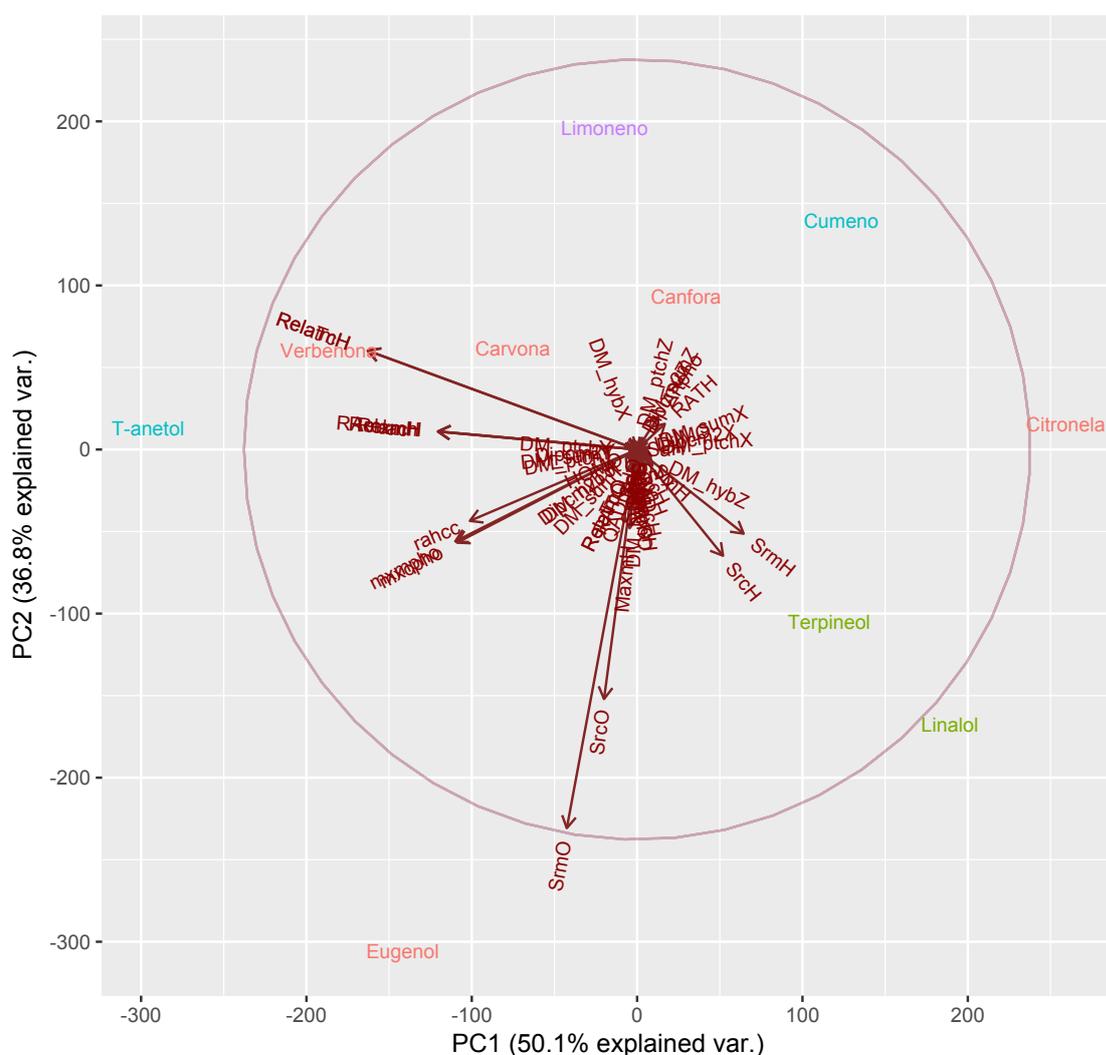


Figura 13. Gráfico de PCA baseados em descritores teóricos para os terpenos em estudo.

Como podemos verificar na Figura 13, a análise de PCA não mostra grupos bem definidos, indicando a diversidade estrutural dos compostos. Tanto os descritores hidrofóbicos

quanto os descritores hidrofílicos contribuem para a discriminação entre os terpenos. *SrmO* (somatória de carga Mulliken de oxigênio sobre área total) e *SrcO* (somatória de carga de oxigênio sobre área total) foram os descritores hidrofílicos mais importantes para o modelo, enquanto que *RelatcH* (somatória de carga CM2 de hidrogênio sobre área total) foi o descritor hidrofóbico mais relevante.

Podemos verificar ainda que as classes definidas baseadas nas características estruturais dos compostos não são agrupadas. Além disso, a PCA para o sistema considerando as duas primeiras componentes, explicam apenas 86,9% da variância do modelo.

## **2. Densidade, cmc, fator de retenção e obtenção dos coeficientes de partição para os terpenos em estudo.**

Como já abordado, o cálculo dos parâmetros termodinâmicos de transferência é dependente de três diferentes medidas: densidade ( $\rho$ ), para se determinar o volume parcial específico ocupado pelas micelas, cmc, para se determinar a razão de volumes ocupados pelas fases (micelar e aquosa) e fator de retenção ( $k$ ) para se determinar o coeficiente de partição.

Os resultados obtidos de cada uma dessas determinações são compilados e discutidos abaixo.

### **2.1 Determinação do volume parcial específico da fase micelar ( $v$ )**

O volume parcial específico da fase micelar representa a parcela de volume da solução ocupada pelas micelas. Sua determinação é dependente de medidas de densidade da solução variando-se a concentração de SDS.

A inclinação do gráfico de densidade das soluções ( $\text{g.cm}^{-3}$ ) versus concentração molar de SDS representa o termo  $b$  da equação [19], utilizada para o cálculo do volume. O  $b$  obtido em função das temperaturas nas quais os fatores de retenção foram determinados por MEKC para o sistema formado por SDS/TBS, bem como os volumes parciais específicos da fase micelar para o eletrólito utilizado nas separações estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Inclinação ( $b$ ) do gráfico de densidade das soluções versus concentração de tensoativo (30 – 100 mmol.kg<sup>-1</sup>), e volume parcial específico da fase micelar ( $v$ ) para o sistema formado por SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> em função da temperatura.

$T$ (°C)	$b$ ( $10^{-3}kg^2.cm^{-3}.mol^{-1}$ )	$v$ ( $cm^3.g^{-1}$ )
27,1	0,0358 ± 0,0006	1,12 ± 0,02
31,2	0,0351 ± 0,0006	1,12 ± 0,02
35,4	0,0344 ± 0,0006	1,12 ± 0,02
39,9	0,0337 ± 0,0006	1,12 ± 0,02
44,1	0,0330 ± 0,0006	1,12 ± 0,02
48,3	0,0323 ± 0,0006	1,12 ± 0,02

Para o sistema formado por SDS/TBS/EtOH, as inclinações do gráfico de densidade (g.cm<sup>-3</sup>) versus a concentração molal de SDS e os volumes parciais específicos micelares para esse sistema na solução de eletrólito utilizado para as determinações do fator de retenção em MEKC são ligeiramente maiores e estão compiladas na Tabela 4.

Tabela 4. Inclinação ( $b$ ) do gráfico de densidade das soluções versus concentração de tensoativo (10 – 50 mmol.kg<sup>-1</sup>), e volume parcial específico da fase micelar ( $v$ ) para o sistema formado por SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> + 10% v/v de EtOH em função da temperatura.

$T$ (°C)	$b$ ( $10^{-3}kg^2.cm^{-3}.mol^{-1}$ )	$v$ ( $cm^3.g^{-1}$ )
27,1	0,039 ± 0,002	1,15 ± 0,05
31,2	0,038 ± 0,002	1,15 ± 0,05
35,4	0,037 ± 0,002	1,15 ± 0,05
39,9	0,037 ± 0,002	1,15 ± 0,05
44,1	0,036 ± 0,002	1,15 ± 0,05
48,3	0,035 ± 0,002	1,15 ± 0,05

Comparando os dados apresentados é possível verificar que não há dependência de  $v$  com a temperatura para ambos os sistemas. Isso demonstra a estabilidade da micela que mantém praticamente constante seu número de agregação e formato para todas as temperaturas do estudo. O sistema formado por SDS/TBS possui um volume ligeiramente menor ao

apresentado pelo sistema em etanol evidenciando que ocorre incorporação de etanol na camada de solvatação da micela<sup>116</sup>.

## **2.2 Determinação da concentração micelar crítica (cmc)**

Como descrita na parte experimental dessa dissertação, as cmcs dos sistemas estudados foram obtidas de maneiras diferentes.

Para SDS/TBS, uma rampa de aquecimento foi utilizada para cada concentração gerando dados para uma série de temperaturas. Os gráficos de  $C$  em função da molalidade para algumas das temperaturas está representada na Figura 14.

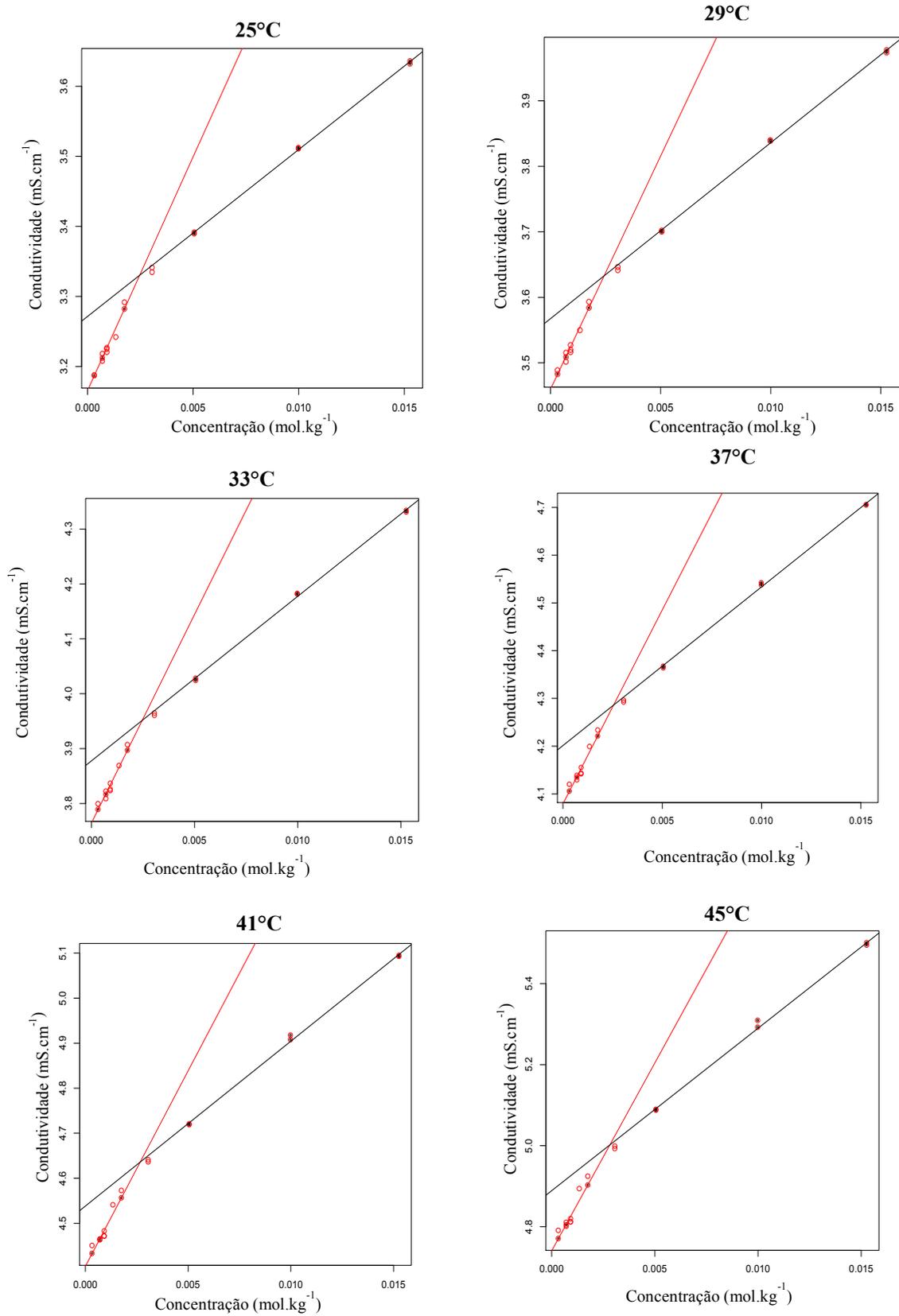


Figura 14. Gráficos de condutividade em função da concentração molar de SDS para o sistema SDS/TBS para obtenção de cmc em função da temperatura.

Os pontos cheios da Figura 14 representam os pontos que foram considerados para a construção das curvas (antes e após a cmc), e obtenção da concentração em que as micelas são formadas. Esses pontos foram escolhidos considerando novamente o resíduo em valor absoluto que cada ponto apresentava com sua respectiva reta até ser alcançado um resíduo máximo de 3%. É possível constatar a dificuldade de obter uma boa repetibilidade entre as duplicatas, nas concentrações mais baixas e nas temperaturas mais altas. Ocorre perda de precisão, até mesmo nas concentrações após a cmc. Mesmo assim, a variação da cmc com a temperatura apresentou um resultado bastante coerente como mostrado na Figura 15.

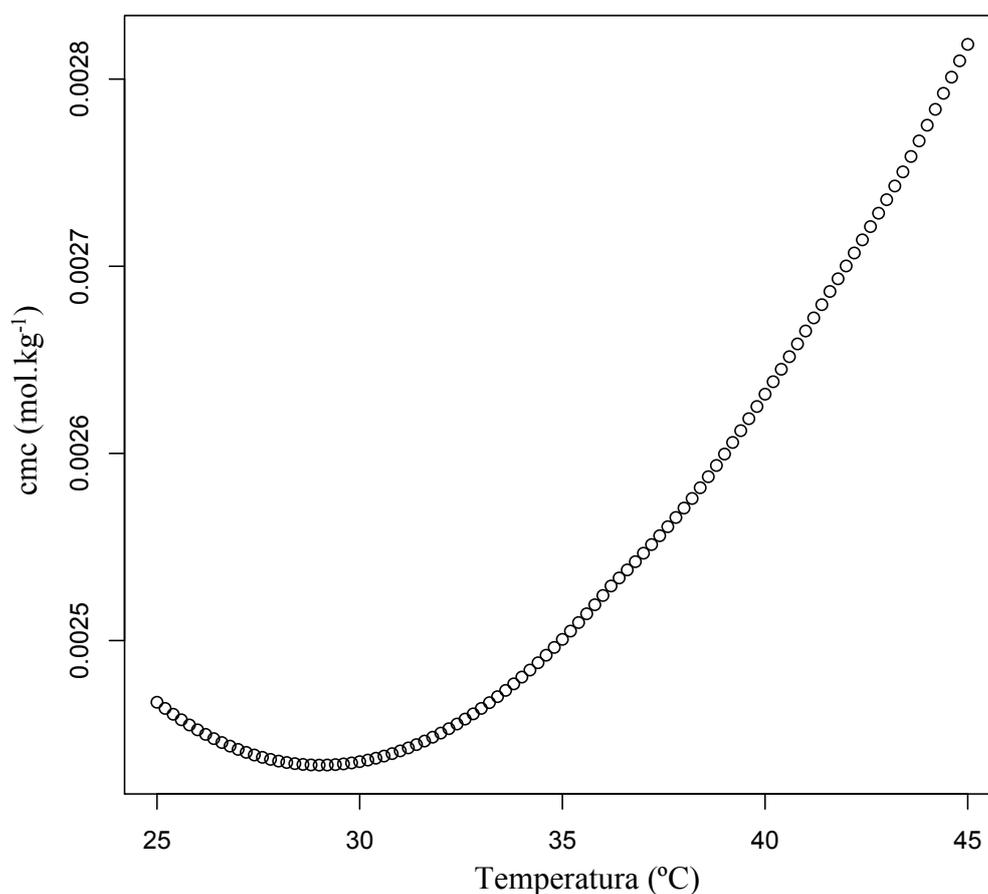


Figura 15. Gráfico da concentração micelar crítica (cmc) em função da temperatura para o sistema SDS + TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup>.

Como é possível verificar no gráfico, inicialmente, o aumento da temperatura favorece a micelização. Isso ocorre, provavelmente, por conta da diminuição na hidratação do grupo hidrofílico e/ou diminuição da repulsão entre as cabeças polares. Quando a temperatura alcança 27°C, o efeito predominante muda e a ruptura das interações água-hidrocarboneto deve aumentar a solubilidade da cadeia hidrofóbica, aumentando a cmc.

As cmcs para o sistema nas temperaturas nas quais os coeficientes de retenção foram determinados em MEKC são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Cmc em função da temperatura para o sistema SDS 30mmol.kg<sup>-1</sup>/TBS 20mmol.kg<sup>-1</sup>.

<b><i>T</i> selecionada (°C)</b>	<b><i>cmc</i> (mmol.kg<sup>-1</sup>)</b>
27,1	2,50 ± 0,07
31,2	2,52 ± 0,08
35,4	2,60 ± 0,08
39,9	2,74 ± 0,08
44,1	2,92 ± 0,09
48,3	3,16 ± 0,09

Para o segundo sistema micelar (SDS/TBS/EtOH), as cmcs foram obtidas para as temperaturas de 25°C a 45°C, em intervalos de 4°C.

Os resultados interpolados dessa curva para as temperaturas nas quais os coeficientes de partição foram determinados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Cmc em função da temperatura para o sistema SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> + 10% v/v de EtOH.

<b><i>T</i> selecionada (°C)</b>	<b><i>cmc</i> (mmol.kg<sup>-1</sup>)</b>
27,1	2,27 ± 0,05
31,2	2,3 ± 0,1
35,4	2,51 ± 0,03
39,9	2,80 ± 0,03
44,1	3,16 ± 0,03
48,3	3,6 ± 0,1

Podemos verificar na Tabela 6 que para o sistema micelar contendo etanol, a cmc aumenta em todo intervalo de temperatura. O efeito predominante nesse sistema é o ganho de mobilidade da cauda hidrofóbica com o aumento da temperatura; em outras palavras, o

aumento da temperatura diminui a “água congelada” ao redor da estrutura hidrofóbica, aumentando sua solubilidade.

A Figura 16 mostra um gráfico de cmc em função da temperatura para esse sistema.

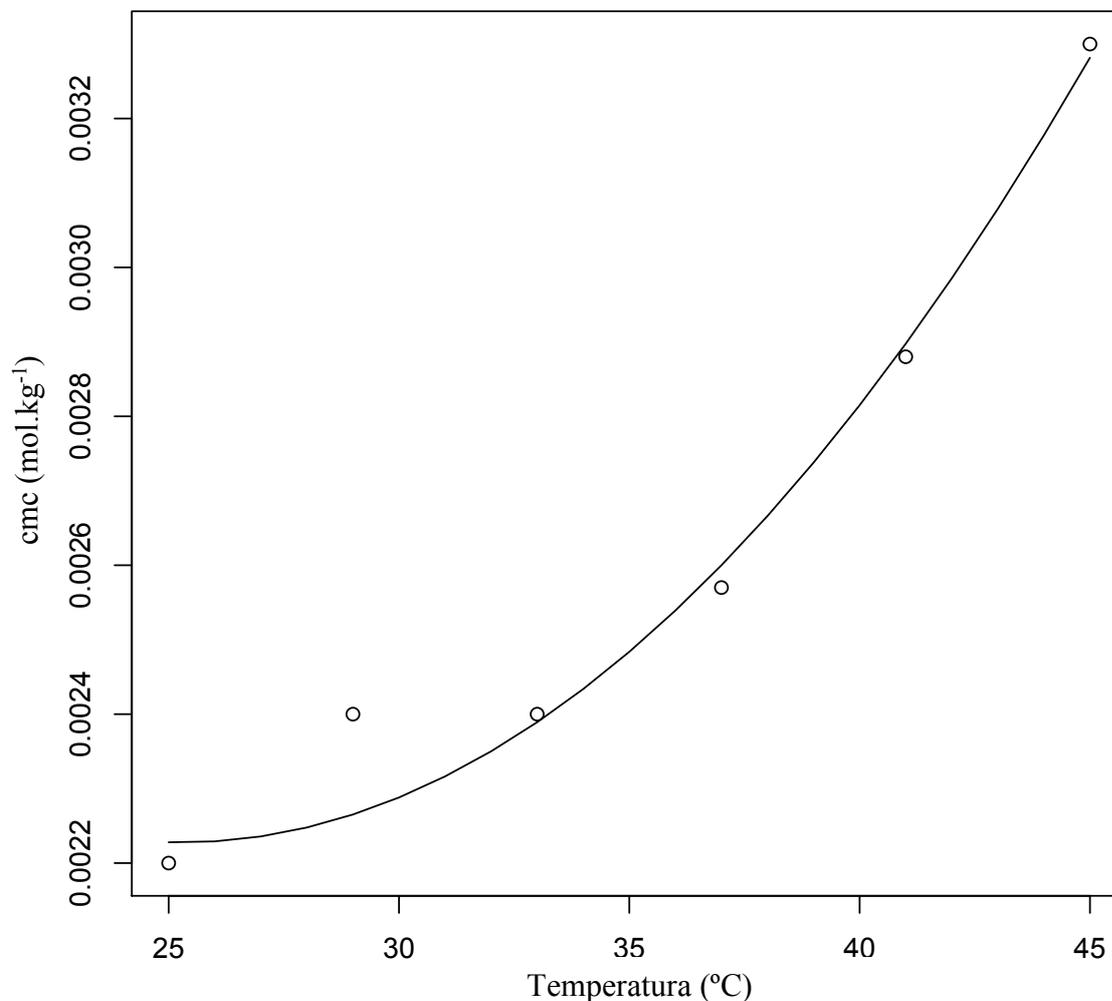


Figura 16. Gráfico da concentração micelar crítica (cmc) em função da temperatura para o sistema SDS + TBS 20mmol.kg<sup>-1</sup>+ EtOH 10% v/v.

Comparando a cmc de ambos os sistemas estudados (Figura 17), observa-se que o efeito do etanol é dependente da temperatura.

Para as temperaturas mais baixas (25 a 35 °C), o valor da cmc na presença de etanol é inferior à apresentada pelo sistema SDS/TBS. Isso ocorre porque o efeito predominante é a diminuição da repulsão entre as cabeças por conta da incorporação de etanol na camada de solvatação da micela. Para as temperaturas mais altas, a cmc em etanol é superior devido ao aumento da solubilidade dos monômeros na fase do *bulk*.

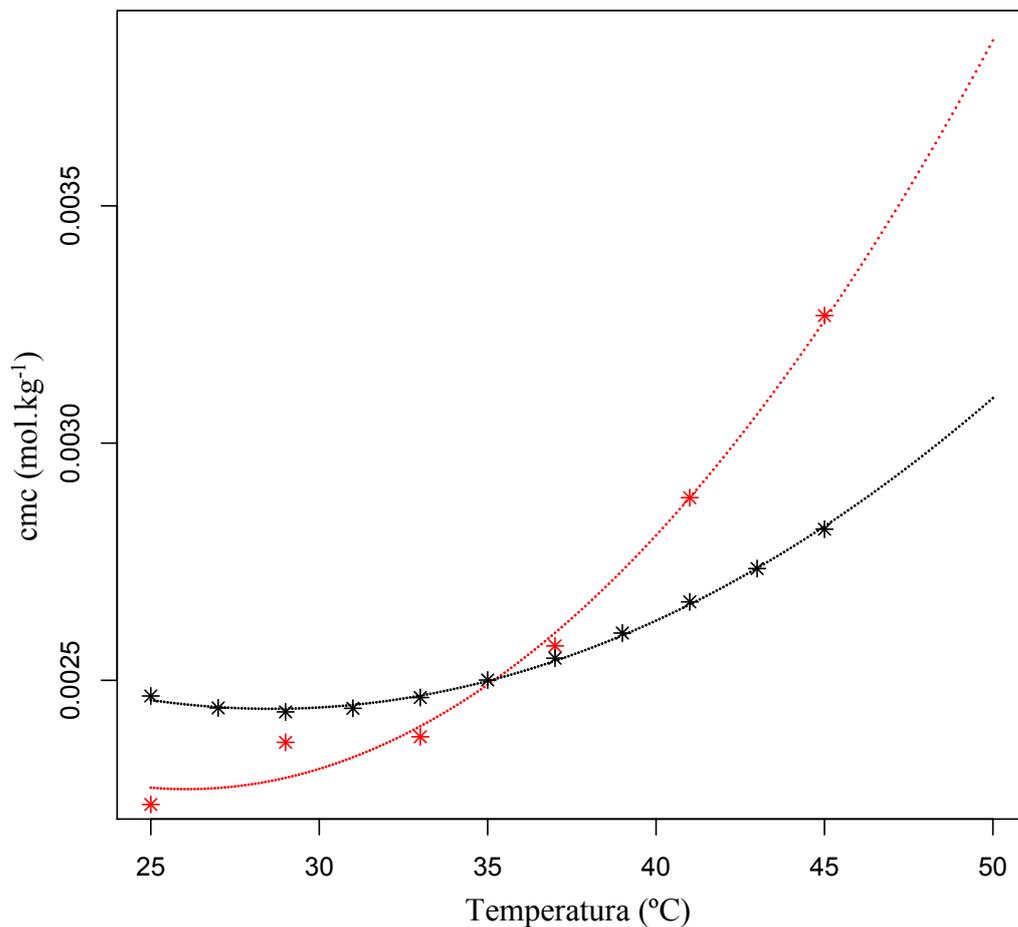


Figura 17. Gráfico da concentração micelar crítica (cmc) em função da temperatura para o sistema os sistemas SDS + TBS 20mmol.kg<sup>-1</sup> (pontilhado em preto) e para o sistema SDS + TBS 20mmol.kg<sup>-1</sup>+ 10% v/v de EtOH (pontilhado em vermelho).

Vários estudos sobre as características e propriedades das micelas de SDS são encontrados na literatura<sup>47,49,117,118</sup>. Miranda, M. e Marcolongo, J. P.<sup>119</sup> estudaram a termodinâmica de micelização de SDS puro. Uma das propriedades determinadas no estudo foi a cmc desse tensoativo em função da temperatura. Os resultados dessas determinações são encontrados na Tabela 7.

Tabela 7. Cmc de SDS puro em diferentes temperaturas<sup>119</sup>.

<b>Temperatura (°C)</b>	<b>cmc (mmol.L<sup>-1</sup>)</b>
10,85	8,4
14,85	8,2
19,85	8,0
24,85	8,2
29,85	8,2
34,85	8,4
39,85	8,7
49,85	9,2
59,85	9,2

Como podemos verificar na Tabela 7, a variação da cmc com a temperatura para SDS puro tem praticamente o mesmo comportamento apresentado pelo sistema SDS/TBS. Para temperaturas mais baixas, ocorre uma diminuição de cmc com o aumento da temperatura, e para temperaturas mais altas, um aumento na cmc é observado com o acréscimo da mesma. Isso mostra que o efeito do TBS na cmc do tensoativo é o mesmo para todas as temperaturas. Os íons do sal neutralizam as cargas na superfície da micela reduzindo a atmosfera iônica ao redor da cabeça iônica do tensoativo e a repulsão eletrostática entre eles, diminuindo a cmc.

Comparando as cmcs dos dois sistemas estudados (SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> + TBS 20mmol.kg<sup>-1</sup> e SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup> + TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> + 10% v/v de EtOH) (Figura 17), valores bem menores que os obtidos para SDS puro são encontrados, mostrando que nesse caso, o efeito do TBS na cmc é superior ao do etanol.

### 2.3 Determinação da razão de volumes entre as fases micelar e aquosa ( $\frac{V_{mc}}{V_{aq}}$ )

A razão de volumes entre as fases micelar e aquosa ( $\frac{V_{mc}}{V_{aq}}$ ) pode ser calculada através do volume parcial específico da fase micelar, e da concentração micelar crítica. As razões de volumes encontradas para os dois sistemas são mostradas na Tabela 8.

Tabela 8. Razão de volumes entre as fases micelar e aquosa para ambos sistemas em estudo em função da temperatura.

<b><i>T</i> selecionada (°C)</b>	<b><math>\frac{V_{mc}}{V_{aq}}</math> SDS, TBS</b>	<b><math>\frac{V_{mc}}{V_{aq}}</math> SDS, TBS, 10% EtOH</b>
27,1	0,0314 ± 0,0009	0,0368 ± 0,0007
31,2	0,0314 ± 0,0009	0,037 ± 0,002
35,4	0,0313 ± 0,0009	0,0365 ± 0,0003
39,9	0,0312 ± 0,0009	0,0361 ± 0,0004
44,1	0,0310 ± 0,0009	0,0356 ± 0,0004
48,3	0,0307 ± 0,0009	0,035 ± 0,001

Como é observado na Tabela 8, a razão de volumes entre as fases em um sistema com etanol é superior em relação ao sistema onde o solvente é apenas água, evidenciando novamente a incorporação de etanol na micela.

## 2.4 MEKC – Fator de retenção

Um dos grandes problemas da eletroforese capilar desde os primórdios do desenvolvimento da técnica tem sido o aquecimento do eletrólito no interior do capilar gerado pelo efeito Joule<sup>125,126</sup>. Os sistemas de refrigeração utilizados atualmente, como a passagem de um líquido refrigerante (*coolant*) externamente ao capilar, bem como o controle de temperatura onde os *vials* ficam alocados melhoram, mas ainda não são totalmente eficientes para controlar o aquecimento do capilar. Assim, a temperatura interna do eletrólito pode diferir da temperatura externa do líquido refrigerante.

Se essa discrepância não for considerada, as determinações de fator de retenção, que são dependentes da temperatura, não podem ser obtidas com exatidão.

Krylov *et. al.*<sup>127</sup> desenvolveram um método para calcular a diferença de temperatura do interior do capilar àquela escolhida para separação no instrumento, medindo a constante de dissociação de um complexo de proteína-DNA termossensível. A equação proposta neste estudo é a Equação [30].

$$\Delta T_{ef} = M_{ef} \frac{(VxI)}{L} \quad [30]$$

onde  $\Delta T_{ef}$  é a diferença entre a temperatura no interior do capilar e a temperatura selecionada no instrumento,  $M_{ef}$  é um “multiplicador” dependente de parâmetros empíricos ( $c$ ,  $g$  e  $n$ ) do equipamento (MDQ CE, PA800, PA800plus, entre outros), e do diâmetro do capilar expostos na Tabela 9 e calculado de acordo com a Equação [31],  $V$  é a voltagem aplicada,  $I$  é a corrente gerada e  $L$  é o comprimento do capilar.

$$M_{ef} = \frac{\frac{c(VxI)}{L^n}}{(g + \frac{VxI}{L})^n} \quad [31]$$

Tabela 9. Parâmetros empíricos do Beckman MDQ CE\*<sup>127</sup>.

$d$ ( $\mu\text{m}$ )	$c$	$g$	$n$
<b>20</b>	20925	23064	0,186
<b>50</b>	6203	7608	0,147
<b>75</b>	6761	9066	0,129
<b>100</b>	6583	9768	0,155
<b>150</b>	1,108	0,883	0,593
<b>200</b>	4,115	5,473	0,236

Adaptado de Krylov *et al.*<sup>127</sup>

\* O sistema de refrigeração dos equipamentos PA800 e PA800plus são iguais ao do MDQ CE, tendo os mesmos parâmetros empíricos.

Utilizando a metodologia proposta por Krylov *et al.*<sup>127</sup>, as diferenças entre a temperatura selecionada no método para a separação (25°C a 45°C) e a temperatura efetiva dentro do capilar foram calculadas e diferem de 2 a 3,5°C. As temperaturas efetivas calculadas são mostradas na Tabela 10.

Tabela 10. Temperaturas efetivas encontradas utilizando o método de Krilov *et. al.*<sup>127</sup> para cada temperatura selecionada no método em MEKC.

<b>T selecionada (°C)</b>	<b>T efetiva (°C)</b>
25,0	27,1
29,0	31,2
33,0	35,4
37,0	39,9
41,0	44,1
45,0	48,3

Os logaritmos neperianos dos fatores de retenção obtidos para todos os terpenos nos dois sistemas micelares estudados são mostrados nas Tabelas a seguir (11 e 12).

Tabela 11. Ln dos fatores de retenção para os terpenos nos sistemas compostos por SDS 30mmol.kg<sup>-1</sup> e TBS 20mmol.kg<sup>-1</sup> em função da temperatura.

<b>Terpeno/ T (°C)</b>	<b>27,1</b>	<b>31,2</b>	<b>35,4</b>	<b>39,9</b>	<b>44,1</b>	<b>48,3</b>
<b>Cumeno</b>	1,048 ± 0,003	1,013 ± 0,003	0,971 ± 0,003	0,922 ± 0,004	0,870 ± 0,003	0,810 ± 0,001
<b>Linalol</b>	6,30 ± 0,03	6,19 ± 0,03	6,09 ± 0,02	5,867 ± 0,009	5,57 ± 0,01	5,268 ± 0,009
<b>t-anetol</b>	17,08 ± 0,04	15,900 ± 0,005	14,65 ± 0,01	13,43 ± 0,01	12,148 ± 0,005	10,94 ± 0,01
<b>Verbenona</b>	1,937 ± 0,003	2,0769 ± 0,0009	2,195 ± 0,002	2,307 ± 0,007	2,408 ± 0,007	2,508 ± 0,009
<b>Terpineol</b>	5,68 ± 0,02	5,63 ± 0,02	—	5,21 ± 0,03	4,884 ± 0,03	4,528 ± 0,02
<b>Cumarina</b>	1,48 ± 0,01	1,3699 ± 0,0007	1,265 ± 0,006	1,161 ± 0,004	1,063 ± 0,004	0,962 ± 0,001
<b>Eugenol</b>	4,721 ± 0,005	4,325 ± 0,001	3,988 ± 0,003	3,66 ± 0,03	3,38 ± 0,02	3,06 ± 0,02
<b>Carvona</b>	4,1148 ± 0,0003	3,875 ± 0,009	3,63 ± 0,01	3,344 ± 0,007	3,074 ± 0,007	2,79 ± 0,01

Tabela 12. Ln dos fatores de retenção para os terpenos nos sistemas compostos por SDS 30 mmol.kg<sup>-1</sup>, TBS 20 mmol.kg<sup>-1</sup> e EtOH 10% em função da temperatura.

Terpeno/ T (°C)	27,1	31,2	35,4	39,9	44,1	48,3
<b>Cumeno</b>	0,730 ± 0,002	0,707 ± 0,002	0,683 ± 0,001	0,637 ± 0,003	0,607 ± 0,002	0,573 ± 0,002
<b>Linalol</b>	3,944 ± 0,003	3,82 ± 0,02	3,657 ± 0,008	3,457 ± 0,006	3,26 ± 0,01	3,063 ± 0,006
<b>t-anetol</b>	—	2,16 ± 0,01	2,037 ± 0,008	1,923 ± 0,003	1,804 ± 0,006	1,678 ± 0,006
<b>Verbenona</b>	0,926 ± 0,002	0,903 ± 0,002	0,873 ± 0,002	0,833 ± 0,006	0,776 ± 0,002	0,743 ± 0,001
<b>Terpineol</b>	3,84 ± 0,01	3,65 ± 0,06	3,34 ± 0,03	3,173 ± 0,009	2,901 ± 0,002	2,725 ± 0,003
<b>Cumarina</b>	0,787 ± 0,004	0,708 ± 0,007	0,659 ± 0,008	0,601 ± 0,002	0,539 ± 0,004	0,476 ± 0,001
<b>Eugenol</b>	2,599 ± 0,003	2,405 ± 0,004	2,220 ± 0,007	2,05 ± 0,01	1,869 ± 0,004	1,72 ± 0,01
<b>Carvona</b>	2,008 ± 0,001	1,891 ± 0,007	1,768 ± 0,006	1,657 ± 0,005	1,550 ± 0,006	1,448 ± 0,006
<b>Cânfora</b>	2,160 ± 0,001	2,032 ± 0,006	1,915 ± 0,006	1,795 ± 0,005	1,679 ± 0,004	1,570 ± 0,006
<b>Citronelal</b>	10,91 ± 0,01	10,39 ± 0,04	9,70 ± 0,05	8,99 ± 0,04	8,34 ± 0,05	7,594 ± 0,03
<b>Limoneno</b>	60 ± 1	54,3 ± 0,2	47,6 ± 0,1	41,5 ± 0,1	36,3 ± 0,2	32,8 ± 0,2

As medidas de fator de retenção dos terpenos cânfora, citronelal e limoneno só puderam ser realizadas nos sistemas alcoólicos devido a baixa solubilidade desses compostos no sistema SDS/TBS.

Comparando os fatores de retenção ( $\frac{n_{mc}}{n_{aq}}$ ) apresentados nas tabelas, podemos verificar que maiores valores são encontrados para o sistema formado apenas por SDS e TBS. Os valores encontrados indicam que a presença de etanol no eletrólito, como era de se esperar, aumenta a solubilidade dos compostos na fase aquosa do *bulk*.

## 2.5 Determinação do coeficiente de partição (*P*)

Obtidos os fatores de retenção (*k*) dos solutos e a razão de volumes entre as fases micelar e aquosa ( $\frac{V_{mc}}{V_{aq}}$ ) em ambos os sistemas micelares, o coeficiente de partição (*P*) de cada terpeno foi determinado. Os resultados dessas partições são mostrados nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13. Ln do coeficiente de partição dos terpenos estudados em função da temperatura para o sistema SDS/TBS em função da temperatura.

Terpeno/ T (°C)	27,1	31,2	35,4	39,9	44,1	48,3
<b>Cumeno</b>	3,507 ± 0,009	3,474 ± 0,009	3,434 ± 0,009	3,388 ± 0,009	3,336 ± 0,009	3,272 ± 0,009
<b>Linalol</b>	5,300 ± 0,006	5,284 ± 0,006	5,270 ± 0,006	5,238 ± 0,006	5,193 ± 0,006	5,144 ± 0,006
<b>t-anetol</b>	6,298 ± 0,005	6,227 ± 0,005	6,148 ± 0,005	6,066 ± 0,005	5,972 ± 0,005	5,876 ± 0,005
<b>Verbenona</b>	4,121 ± 0,007	4,192 ± 0,007	4,250 ± 0,007	4,305 ± 0,007	4,354 ± 0,007	4,402 ± 0,007
<b>Terpineol</b>	5,197 ± 0,006	5,188 ± 0,006	5,034 ± 0,006	5,120 ± 0,006	5,061 ± 0,006	4,993 ± 0,006
<b>Cumarina</b>	3,849 ± 0,008	3,776 ± 0,008	3,699 ± 0,008	3,618 ± 0,008	3,536 ± 0,008	3,444 ± 0,008
<b>Eugenol</b>	5,012 ± 0,006	4,926 ± 0,006	4,847 ± 0,006	4,766 ± 0,006	4,692 ± 0,006	4,600 ± 0,006
<b>Carvona</b>	4,874 ± 0,004	4,816 ± 0,006	4,753 ± 0,006	4,676 ± 0,006	4,598 ± 0,006	4,508 ± 0,006

Tabela 14. Ln do coeficiente de partição dos terpenos estudados em função da temperatura para o sistema SDS/TBS/ EtOH em função da temperatura.

Terpeno/ T (°C)	27,1	31,2	35,4	39,9	44,1	48,3
<b>Cumeno</b>	2,99 ± 0,07	3,0 ± 0,1	2,93 ± 0,04	2,87 ± 0,03	2,84 ± 0,03	2,80 ± 0,08
<b>Linalol</b>	4,7 ± 0,1	4,7 ± 0,2	4,61 ± 0,06	4,56 ± 0,05	4,52 ± 0,05	4,5 ± 0,1
<b>t-anetol</b>	—	5,5 ± 0,2	5,35 ± 0,06	5,25 ± 0,05	5,14 ± 0,05	5,0 ± 0,1
<b>Verbenona</b>	3,225 ± 0,07	3,2 ± 0,1	3,18 ± 0,04	3,14 ± 0,03	3,08 ± 0,03	3,06 ± 0,09
<b>Terpineol</b>	4,646 ± 0,1	4,6 ± 0,2	4,52 ± 0,05	4,48 ± 0,04	4,40 ± 0,04	4,4 ± 0,1
<b>Cumarina</b>	3,06 ± 0,07	3,0 ± 0,1	2,89 ± 0,03	2,81 ± 0,03	2,72 ± 0,03	2,61 ± 0,07
<b>Eugenol</b>	4,26 ± 0,09	4,2 ± 0,2	4,11 ± 0,05	4,04 ± 0,04	3,96 ± 0,04	3,9 ± 0,1
<b>Carvona</b>	4,00 ± 0,09	3,9 ± 0,2	3,88 ± 0,05	3,83 ± 0,04	3,77 ± 0,04	3,7 ± 0,1
<b>Cânfora</b>	4,07 ± 0,09	4,0 ± 0,2	3,96 ± 0,05	3,91 ± 0,04	3,85 ± 0,04	3,8 ± 0,1
<b>Citronelal</b>	5,7 ± 0,1	5,7 ± 0,2	5,58 ± 0,07	5,52 ± 0,06	5,46 ± 0,05	5,4 ± 0,2
<b>Limoneno</b>	7,4 ± 0,2	7,3 ± 0,3	7,17 ± 0,09	7,05 ± 0,07	6,93 ± 0,07	6,8 ± 0,2

Os terpenos cânfora, citronelal e limoneno apresentam pequena solubilidade em água não sendo possível a obtenção dos coeficientes de partição para esses compostos no sistema sem solvente orgânico.

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 13 e 14, para os compostos estudados em ambos os sistemas micelares, é possível verificar que as partições no sistema SDS/TBS são maiores que aquelas encontradas no sistema SDS/TBS/EtOH. Isso ocorre devido a maior solubilidade dos compostos no *bulk* quando da presença de etanol, diminuindo a transferência dos compostos para a micela.

### **3. Parâmetros termodinâmicos de transferência entre as fases aquosa e micelar**

Como descrito na parte experimental dessa dissertação, foi utilizado o Cp de Mallovs para decidir qual ajuste (linear ou polinomial) seria o mais adequado para obtenção dos parâmetros termodinâmicos através da relação de van't Hoff ( $\ln P$  versus  $T^{-1}$ ). A seguir está apresentado um exemplo de terpeno em que o melhor ajuste encontrado foi uma reta (Figura 18) e um caso em que o ajuste polinomial foi o mais adequado (Figura 19). Os demais gráficos estão apresentados anexos a essa dissertação (Anexos 5-14). Os eixos dos gráficos “dt[,2]” e “dt[,1]” representam  $\ln P$  e  $T^{-1}$  respectivamente, enquanto que “model\$res” representa os resíduos.

a) Ajuste linear

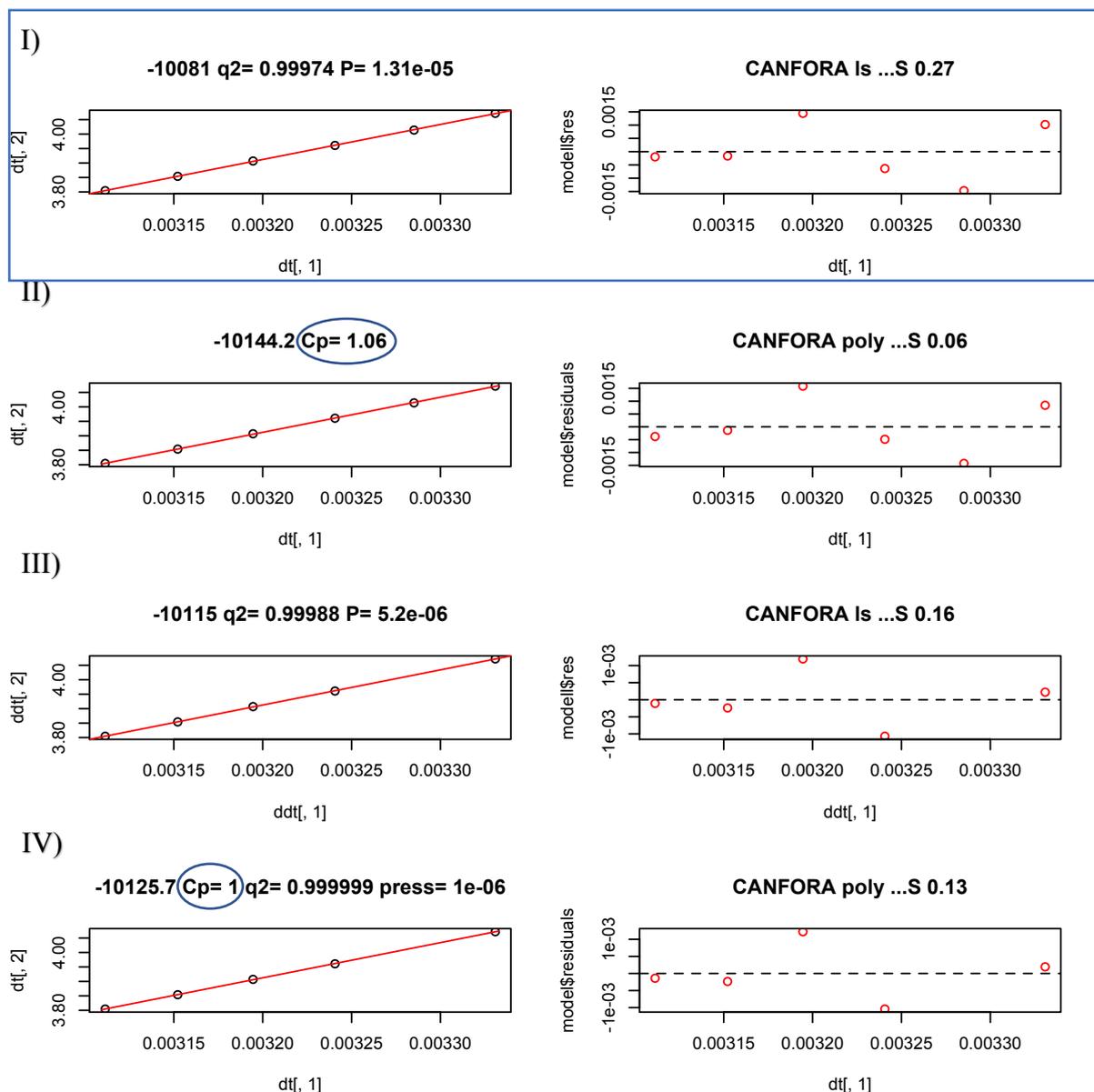


Figura 18. Gráficos de vant't Hoff (ajuste linear e polinomial de segundo grau) para a cânfora no sistema formado por SDS, TBS e EtOH (à esquerda) e seus respectivos gráficos de resíduos (à direita). Legenda: (I) regressão linear, (II) regressão polinomial do segundo grau, (III) regressão linear retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a reta obtida em I e (IV) regressão polinomial do segundo grau retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a curva obtida em (II).

Para a cânfora, no sistema SDS, TBS e EtOH o melhor ajuste encontrado foi uma reta. Como podemos verificar na Figura 17 os  $C_p$ s nos dois casos considerando todos os pontos da regressão e retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação ao ajuste são próximos ou iguais a 1.

Considerando os parâmetros das regressões, o melhor ajuste obtido foi a regressão linear com todos os pontos (I) sendo esse modelo utilizado para a obtenção dos parâmetros termodinâmicos de transferência.

b) Ajuste polinomial

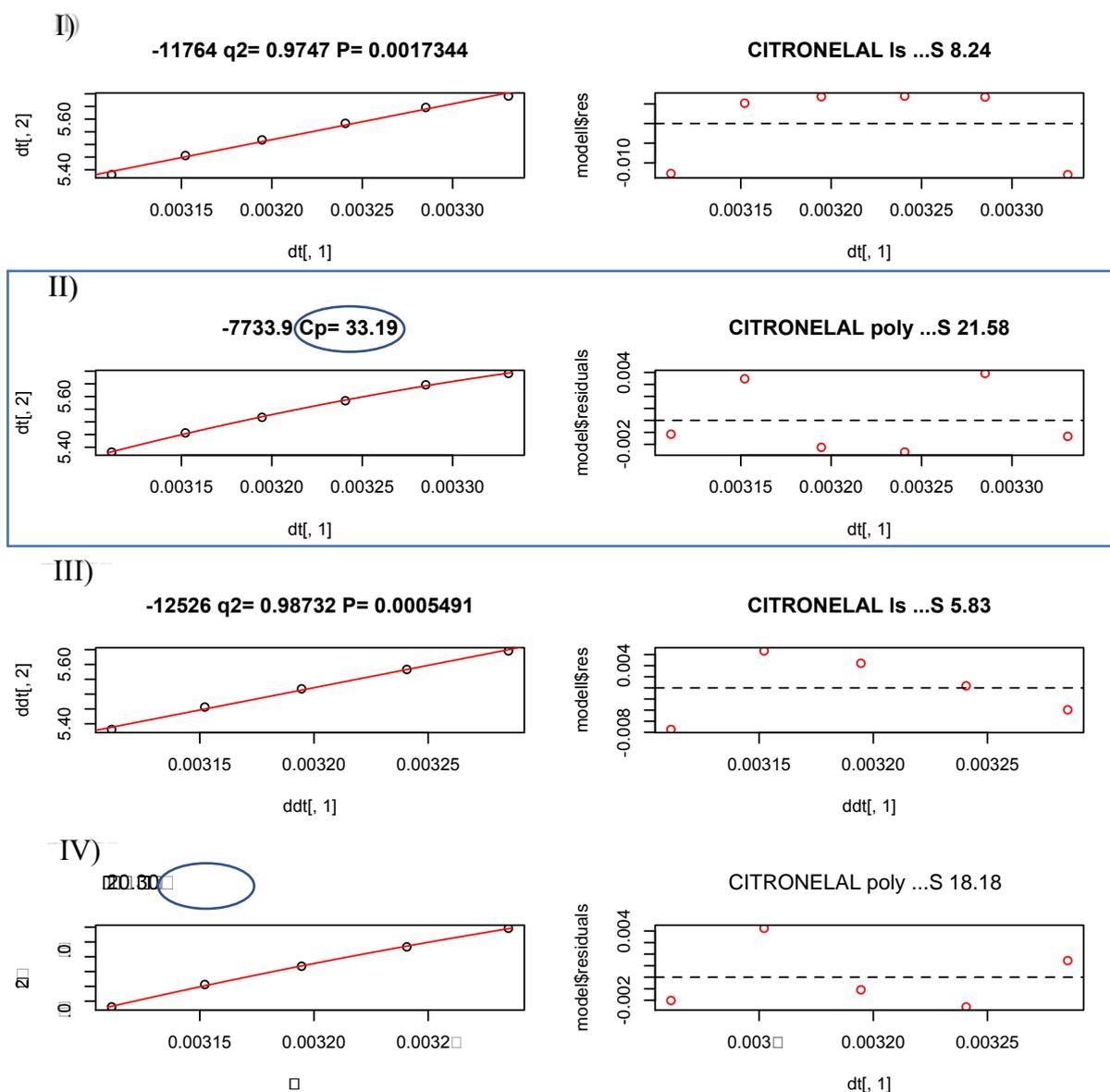


Figura 19. Gráficos de van't Hoff (ajuste linear e polinomial de segundo grau) para a citronelal no sistema formado por SDS, TBS e EtOH (à esquerda) e seus respectivos gráficos de resíduos (à direita). Legenda: (I) regressão linear, (II) regressão polinomial do segundo grau, (III) regressão linear retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a reta obtida em I e (IV) regressão polinomial do segundo grau retirando-se o ponto que possui maior resíduo em relação a curva obtida em (II).



Tabela 15. Parâmetros termodinâmicos de transferência entre as fases micelar e aquosa para os terpenos estudados a 25°C.

Terpeno	Estrutura	$\Delta H^{\ddagger}$ SDS/TBS (KJ/mol)	$-T\Delta S^{\ddagger}$ SDS/ TBS (KJ/mol)	$\Delta H^{\ddagger}$ SDS/ TBS/
---------	-----------	---	--	---------------------------------



































































































































































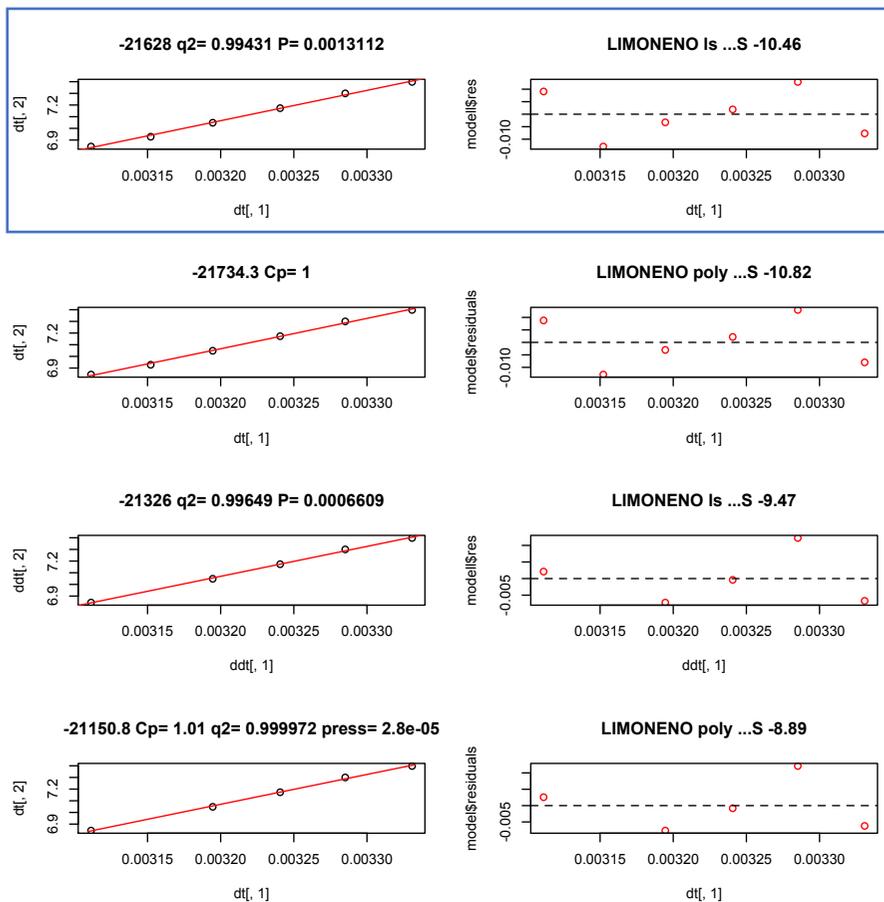






Anexo 13 Gráficos de van Hoff (ajuste linear e polinomial de segundo grau) para o sistema SDS/EtOH.

30mmol.kg<sup>-1</sup> SDS, 20mmol.kg<sup>-1</sup> TBS, 10% EtOH



# SÚMULA CURRICULAR

## DADOS PESSOAIS

Nome: Carolina Raíssa Costa Picossi

Local e data de nascimento: São Paulo — SP, 03 de junho de 1993.

## 1. EDUCAÇÃO

Escola Técnica Estadual de Tiquatira

Habilitação Profissional Técnica de Nível Médio de Técnico em Química 2011

Faculdades Oswaldo Cruz, São Paulo

Graduação (Bacharelado em Química) 2015

Mestrado em Química (Química Analítica) Em andamento

## 2. OCUPAÇÃO

Bolsista de Mestrado, CNPq, 03/2016 — 03/2018

## 3. PUBLICAÇÕES (Artigos Completos e Resumos em Congressos)

Apresentação de Poster — LACE 2015 (Cartagena, Colombia – 05 a 08 de dezembro)

Picossi, C. R. C., Stoianoff, I., Farah, J. P. S., Tavares, M. F. M.

“New insights on the hydrophobicity of terpenes based on their micellar electrokinetic chromatography behavior”

Apresentação de Poster — LACE 2015 (Cartagena, Colombia – 05 a 08 de dezembro)

Picossi, C. R. C., Stoianoff, I., Farah, J. P. S., Tavares, M. F. M.

“Studies of steroids using micellar electrokinetic chromatography derived transfer entropy in linear solvation-energy relationships (LSER)”

Apresentação de Poster — LACE 2016 (Santiago, Chile)

Picossi, C. R. C., Farah, J. P. S., Tavares, M. F. M.

“Study of steroid hormone-micelle interactions based on thermodynamic parameters derived from micellar electrokinetic chromatography (MEKC)”

Apresentação Oral — MSB 2018 (Rio de Janeiro, Brasil)

“Study of thermodynamic parameters as a means to assess terpene-micelle interactions using micellar electrokinetic chromatography (MEKC)”