

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE VALOR ACRESCENTADO UTILIZANDO SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS CONSTITUÍDOS POR LÍQUIDOS IÔNICOS

Ana M. Ferreira e Mara G. Freire*

CICECO-Instituto de Materiais de Aveiro, Departamento de Química, Universidade de Aveiro
maragfreire@ua.pt

Extraction and purification of value-added compounds using aqueous biphasic systems composed of ionic liquids – *In the past few years, the number of studies comprising the application of ionic liquids (ILs) as potential alternatives to volatile organic solvents in the extraction and purification of value-added compounds has increased significantly. This review manuscript aims to describe and highlights the advantages of using ILs as alternative solvents, particularly as phase-forming components of aqueous biphasic systems (ABSs), for the extraction of biomolecules and/or other value-added compounds. ABS fit within the liquid-liquid systems and where the majority solvent is water, presenting thus economic and biocompatibility advantages. IL-based ABS have been largely investigated for the extraction and purification of the most diverse products, such as alkaloids, antioxidants, terpenes/terpenoids, drugs, proteins, among others. In this work we highlight the most promising results gathered with IL-based ABS, in particular in what concerns their high performance in extraction efficiency, recovery and purification. Some evidences of model applications of these systems are firstly addressed, followed by examples of their application in real matrices, such as fermentation media, extracts of biomass and biological samples. Finally, some strategies for the recovery of value-added products and the reuse of solvents are described aiming at the development of more sustainable processes.*

O número de estudos que abordam a aplicação de líquidos iónicos (LIs) como alternativa aos solventes orgânicos voláteis na extração e purificação de compostos de valor acrescentado tem vindo a aumentar significativamente nos últimos anos. Este trabalho de revisão tem por objetivo descrever e destacar as vantagens da utilização de LIs como solventes alternativos, principalmente em sistemas aquosos bifásicos (SABs), para a extração de biomoléculas e/ou outros produtos de valor acrescentado. Os SABs são sistemas extrativos do tipo líquido-líquido onde o solvente maioritário é água, apresentando portanto vantagens em termos económicos e de biocompatibilidade. Até à data, os SABs constituídos por LIs têm sido estudados para a extração e purificação dos mais diversos produtos, tais como alcaloides, antioxidantes, terpenos/terpenóides, fármacos, proteínas, entre outros. Neste trabalho destacam-se os resultados mais promissores envolvendo SABs constituídos por LIs, nomeadamente no que respeita à sua elevada performance em eficiências de extração, recuperação e purificação. Apresentam-se inicialmente algumas demonstrações da aplicação destes sistemas, seguidos de exemplos de aplicação a matrizes reais, tais como meios fermentativos, extratos de biomassa e amostras biológicas. Por fim, apresentam-se estratégias para a recuperação dos produtos de valor acrescentado e reutilização dos solventes visando o desenvolvimento de processos mais sustentáveis.

INTRODUÇÃO

Os processos atualmente utilizados para a extração/purificação de produtos de valor acrescentado, a partir de extratos de biomassa, meios fermentativos e biológicos, requerem a utilização de solventes orgânicos voláteis e um elevado consumo energético, assim como equipamento sofisticado e dispendioso. Para superar estes inconvenientes, tem-se procurado desenvolver técnicas de separação sustentáveis e mais rentáveis, sendo a extração líquido-líquido uma dessas alternativas. Este processo, em comparação com as técnicas cromatográficas já bem estabelecidas, apresenta várias vantagens, nomeadamente a sua simplicidade tecnológica e um baixo custo, a capacidade de proporcionar fatores de recuperação e purificação elevados, e permite ainda combinar as etapas de extração e purificação [1,2]. As extrações líquido-líquido requerem, na sua maioria, a utilização de solventes orgânicos voláteis devido à sua imiscibilidade com meios aquosos [3]. Contudo, os solven-

tes orgânicos mais utilizados apresentam algumas desvantagens, tais como as suas elevadas toxicidade e volatilidade [1]. Como alternativa, em 1958, Albertson [4] introduziu o conceito de sistemas aquosos bifásicos (SABs) como uma técnica de extração do tipo líquido-líquido para a separação dos mais variados produtos. Como as duas fases imiscíveis são aquosas, com 70-90 (m/m) % de água, o autor [4] propôs a utilização destes sistemas para a separação e purificação de moléculas biologicamente ativas, tais como proteínas, vírus e organelos.

Os SABs são formados por dois solutos com elevada solubilidade em água, como por exemplo dois polímeros, um polímero e um sal ou dois sais, onde acima de determinadas concentrações ocorre a separação de duas fases imiscíveis predominantemente aquosas [5]. De um modo geral, uma das espécies promove o *salting-out* levando à formação de sistemas de duas fases. Os SABs são sistemas ternários e apresentam um diagrama de fases único que

depende da temperatura [6]. Antes de qualquer aplicação destes sistemas em processos de extração e purificação, é imprescindível determinar o respetivo diagrama de fases para um determinado par de compostos em solução aquosa, visando reunir a informação necessária sobre as suas regiões monofásica/bifásica. A extração/separação de produtos em SABs ocorre através da sua partição ou afinidade para cada uma das fases. A Figura 1 descreve um exemplo de um diagrama de fases para um SAB constituído por um polímero, um sal e água.

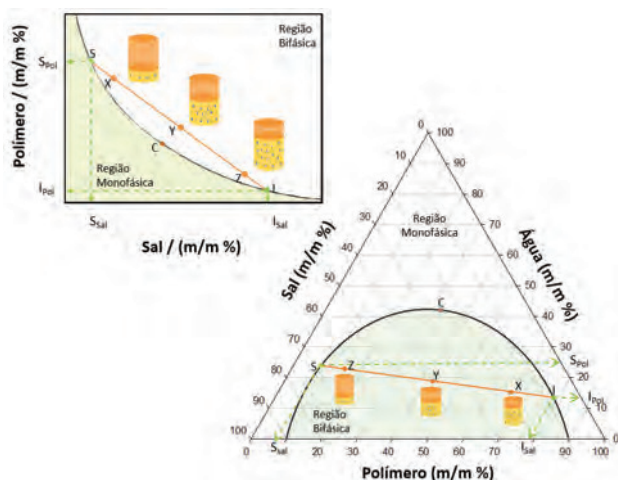


Figura 1 – Representação ortogonal e triangular de um diagrama de fases de um SAB: SCI - Curva binodal; C - ponto crítico; SI - linha de equilíbrio; S - composição da fase superior; I - composição da fase inferior; X, Y e Z - composição de vários pontos de mistura na região bifásica

A curva binodal, SCI, separa as regiões monofásica e bifásica, onde composições acima da mesma correspondem a sistemas de duas fases aquosas, enquanto para composições representadas abaixo da curva binodal se tem uma mistura homogênea que corresponde à região monofásica [5]. Quanto maior a área da região bifásica, maior é a capacidade dos compostos envolvidos para formar um SAB. Cada diagrama de fases é caracterizado adicionalmente pelas linhas de equilíbrio (*tie-lines*, TLs) que dão informação sobre a composição da fase superior (S) e inferior (I) para um determinado ponto de mistura (X, Y ou Z) [5]. Qualquer uma das misturas, X, Y e Z, como se encontram ao longo

da mesma TL, apresentam a mesma composição em cada fase, apresentando no entanto diferentes razões volumétricas ou mássicas [5]. O comprimento da linha de equilíbrio (*tie-line length*, TLL) é um indicador numérico da diferença de composição entre as ambas as fases e é geralmente utilizado para correlacionar as tendências na partição dos mais variados solutos. O ponto crítico do sistema ternário, ponto C, corresponde à composição da mistura ternária onde a composição de ambas as fases é a mesma [5].

LÍQUIDOS IÓNICOS (LIs) E SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS (SABs)

Os LIs são compostos iónicos, e portanto sais, sendo que por definição devem apresentar uma temperatura de fusão inferior a 100 °C [7]; muitas das vezes os LIs são líquidos a temperaturas próximas da temperatura ambiente, permitindo assim a sua utilização como solventes alternativos nas mais diversas aplicações. As baixas temperaturas de fusão dos LIs estão associadas à falta de uma estrutura cristalina ordenada [7], dado que estes são geralmente constituídos por um catião orgânico de grandes dimensões e um anião orgânico ou inorgânico [7].

O primeiro LI sintetizado foi o nitrato de etilamónio, em 1914 por Paul Walden, quando o investigador procurava alternativas à nitroglicerina [8]. Mais tarde, em 1934, Charles Graenacher patenteou uma aplicação industrial de LIs como solventes para um dos mais recalcitrantes polímeros - celulose [9]. Durante a II Guerra Mundial, surgiram novas patentes envolvendo a utilização de LIs, contemplando misturas de cloreto de alumínio(III) e brometo de 1-etilpiridínio, para a eletrodeposição de alumínio [10, 11]. Todavia, só a partir de 1992 foram sendo sintetizados LIs estáveis na presença de ar e água, derivados de catiões pirrolidínio, imidazólio, piridínio, amónios e fosfónios quaternários. O catião pode ser altamente complexo, com diferentes cadeias alquílicas, diferentes posições de substituição e com vários grupos funcionais [12]. Os aniões mais estudados para a síntese de LIs são halogenetos, tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, alquilsulfatos, alquilsulfonatos, alquilcarboxilatos, entre outros. A Figura 2 mostra a estrutura química dos iões de LIs mais estudados.

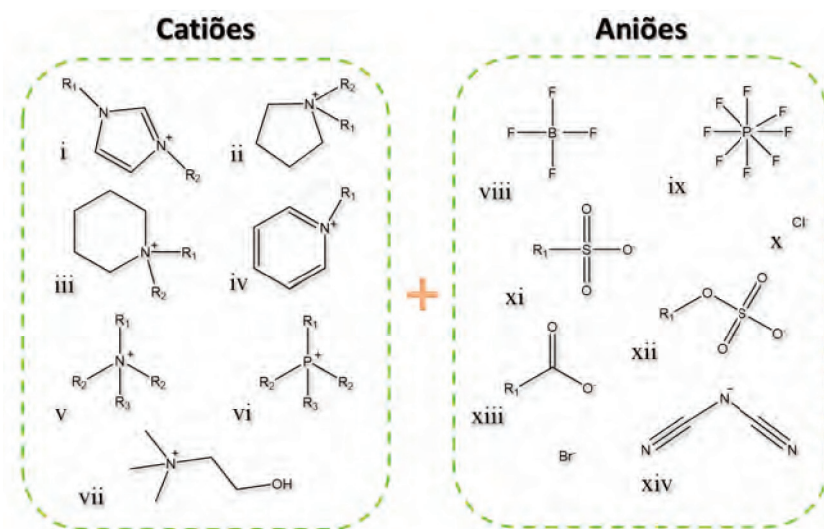


Figura 2 – Estrutura química dos iões mais estudados dos LIs. Catiões: (i) dialquilimidazólio; (ii) dialquilpirrolidínio; (iii) dialquimpiperidínio; (iv) alquilpiridínio; (v) amónios quaternários; (vi) fosfónios quaternários e (vii) colínio. Aniões: (viii) tetrafluoroborato; (ix) hexafluorofosfato; (x) cloreto; (xi) alquilsulfonatos; (xii) alquilsulfatos; (xiii) alquilcarboxilatos; (xiv) diacianamida e (xv) brometo

A natureza iónica dos LIs é responsável pelas suas propriedades únicas, nomeadamente uma pressão de vapor desprezável à temperatura ambiente, o facto de serem não inflamáveis, uma elevada estabilidade térmica e química, uma grande gama de temperaturas em que se mantêm no estado líquido, e elevada condutividade iónica [13,14]. Todas estas propriedades fazem destes compostos uma alternativa promissora aos solventes orgânicos voláteis tipicamente utilizados na investigação ou pela indústria. Para além da existência de mais de seis centenas de solventes orgânicos utilizados atualmente pela indústria, a maioria dos LIs apróticos são uma alternativa mais sustentável devido à combinação única de não-volatilidade e não-inflamabilidade [13,15]. Apesar de existir atualmente alguma controvérsia quanto às suas características e designação como “solventes verdes”, o facto de serem não voláteis nas condições ambientais certamente conduz a uma redução da poluição atmosférica. No entanto, para tal categorização, os LIs devem também serem biocompatíveis, apresentar uma baixa toxicidade, e uma elevada biodegradabilidade. Contudo, uma das suas características mais promissoras, e que muito contribuiu para um estudo intensivo em LIs nas últimas duas décadas, prende-se com a possibilidade de se poderem manipular as suas estruturas químicas, e logo as suas propriedades e aplicações, sendo atualmente vistos como *designer solvents* [16]. Estima-se que se possam sintetizar cerca de 10^6 LIs diferentes, chegando a um valor de 10^{18} se se considerarem misturas de LIs [17].

Atualmente os LIs são utilizados numa vasta gama de aplicações, por exemplo como solventes em reações químicas [18], de síntese [19] ou biotransformação [20], novos materiais em electroquímica [21], solventes em separações cromatográficas [22], entre outras. Para além destas aplicações, os LIs têm sido vastamente utilizados em extrações líquido-líquido das mais diversas biomoléculas a partir de soluções aquosas [23]. Dentro desta aplicação, podem-se utilizar LIs imiscíveis com água, denominados como hidrofóbicos, ou LIs miscíveis com água (hidrofílicos) através da formação de SABs.

Para além dos SABs convencionais constituídos por polímeros e amplamente estudados, em 2003, Gutowski et al. [24] demonstraram que SABs também podem ser formados por adição de sais inorgânicos a soluções aquosas de líquidos iónicos (LIs). Após este trabalho pioneiro, outros estudos demonstraram que estes sistemas podem ser formados por combinações de LIs e polímeros, aminoácidos ou hidratos de carbono em meio aquoso [5]. Na última década, estes sistemas têm vindo a ser propostos como alternativas promissoras face aos sistemas convencionais dado que apresentam um conjunto de vantagens importantes, como a sua baixa viscosidade e elevadas eficiências de extração e seletividade [5]. Estas últimas propriedades devem-se à possibilidade de manipular a polaridade das fases coexistentes por uma seleção adequada da estrutura química do LI, podendo desta forma atingir-se a extração completa dos mais variados compostos para uma das fases

e num único passo. A Figura 3 mostra o aspeto macroscópico destes sistemas e alguns exemplos de extração completa conseguidos pela utilização de SABs constituídos por LIs, sendo que a fase superior corresponde à fase rica em LI.

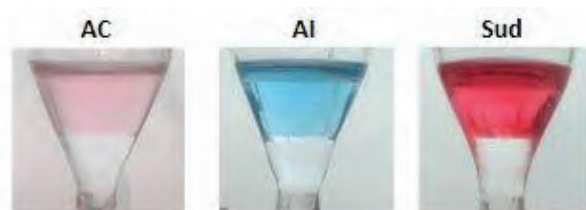


Figura 3 – Extração de ácido cloranílico (AC), azul índigo (AI) e Sudão III (Sud) utilizando SABs constituídos por LIs e sais [25]

Para além da necessidade de determinação dos diagramas de fase para SABs constituídos por LIs, a maior parte dos estudos encontra-se direcionada para a avaliação do potencial destes sistemas para a extração de biomoléculas e/ou produtos de valor acrescentado [5]. A principal vantagem dos SABs constituídos por LIs prende-se com o facto de se poderem adaptar as polaridades das fases de modo a promover extrações seletivas e eficientes. Note-se que existem várias abordagens para manipular a partição de um soluto específico entre as fases coexistentes: (i) a aplicação de diferentes sais e/ou LIs; (ii) alteração da composição ternária da mistura utilizada na extração; e (iii) introdução de co-solventes, anti-solventes ou estruturas anfífilas para controlar a afinidade do soluto para uma das fases. Numa grande parte dos estudos contemplando SABs com LIs, demonstrou-se que uma escolha apropriada dos componentes e composição pode levar à extração completa e a elevados fatores de concentração e purificação [5]. Apesar dos SABs constituídos por LIs ainda estarem restringidos à escala laboratorial, o *scale-up* de SABs tradicionais formados por polímeros já foi demonstrado, sendo atualmente utilizados na purificação de proteínas a nível industrial [26].

Os SABs constituídos por LIs já foram estudados para a extração e purificação de uma panóplia alargada de compostos, onde se destacam aminoácidos e proteínas, fármacos, e compostos oriundos de fontes naturais, tais como alcaloides, compostos fenólicos e terpenoides [5]. No entanto, apesar do número de LIs atualmente disponível ser bastante alargado e se estar à procura de LIs mais “amigos” do ambiente e biocompatíveis, os LIs maioritariamente estudados para o efeito são os derivados do catião imidazólio, combinados com os aniões tetrafluoroborato, cloreto, brometo, alquilsulfatos e alquilcarboxilatos [5]. Recentemente, com o objetivo de superar a toxicidade associada a alguns LIs, o estudo/utilização de LIs menos tóxicos e ambientalmente mais benignos tem vindo a aumentar. Entre estes podem-se destacar o uso de LIs derivados de matérias-primas naturais, tais como os derivados de colínio, aminoácidos, hidratos de carbono, betaína, ácido mandélico, entre outros [27-33]. Há ainda a destacar que, recentemente, alguns investigadores têm realizado esforços no intuito de sintetizar novos LIs com características tampão [28,34,35].

DEMONSTRAÇÃO DA APLICAÇÃO DE SABs CONSTITUÍDOS POR LIs

Os trabalhos pioneiros de aplicação de SABs constituídos por LIs para a extração/purificação de produtos de valor acrescentado, e que comprovam o seu elevado desempenho e possibilidade de manipulação da polaridade das fases, foram realizados com aminoácidos [23,36-43]. Os aminoácidos são compostos importantes em diversos processos biotecnológicos, e o desenvolvimento de métodos para a sua separação e purificação é ainda objeto de uma investigação intensa [41]. Alguns aminoácidos, tais como L-triptofano, L-fenilalanina e L-tirosina, podem ser produzidos por fermentação bacteriana [44]. Neste contexto, a aplicação de SABs compostos por LIs poderá ser uma alternativa promissora para a extração de aminoácidos integrada com uma fermentação contínua. Os aminoácidos mais estudados ao nível da extração com SABs formados por LIs são o L-triptofano [23, 36-43], a L-tirosina [42] e a L-fenilalanina [37], cujas estruturas químicas se encontram descritas na Figura 4.

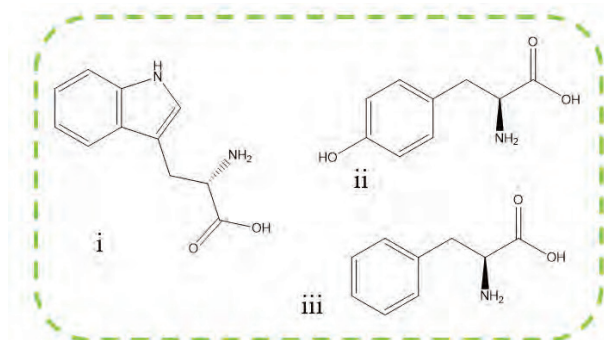


Figura 4 – Estrutura química dos aminoácidos em estudo. (i) L-triptofano; (ii) L-tirosina e (iii) L-fenilalanina

Neves et al. [41] e Ventura et al. [40] estudaram a capacidade de extrair L-triptofano utilizando SABs formados por uma vasta panóplia de LIs e K_3PO_4 . Os autores demonstraram que, dependendo da natureza do LI, os coeficientes de partição variam entre 10 e 120, para a fase rica em LI, sendo que estes valores são significativamente mais elevados do que os obtidos com SABs convencionais formados por polímeros (na ordem de 1-7) [45,46], assim como em comparação com os sistemas formados por LIs hidrofóbicos [47]. Atendendo aos resultados de ambos os trabalhos, a influência do catião, e comparando ainda com resultados obtidos utilizando LIs derivados de fosfónios [36], parece ser mais importante do que a influência do anião em termos de desempenho na extração, onde a presença de grupos benzilo e ligações duplas na cadeia alquílicas é favorável para a extração de aminoácidos para a fase rica em LI. Mais tarde, Pereira et al. [39] estudaram a utilização de LIs como adjuvantes em sistemas aquosos tradicionais formados por combinações de polímero-sal para a extração de L-triptofano. Os resultados obtidos indicaram que a adição de pequenas quantidades de LI aos sistemas tradicionais regula a partição e permite controlar a eficiência de extração dos vários sistemas por uma seleção adequada da estrutura química do LI. Estes sistemas foram propostos

como uma alternativa à abordagem habitual de funcionalização de polímeros [48], muito mais dispendiosa e morosa. Hamzehzadeh et al. [43] realizaram um estudo na mesma linha de investigação sendo que os resultados obtidos vão de encontro aos obtidos por Pereira et al. [39].

Embora os SABs constituídos por LIs-sais inorgânicos tenham sido explorados para extração líquido-líquido de uma grande variedade de (bio)moléculas, a aplicação de sais biodegradáveis e menos tóxicos, em comparação com os sais inorgânicos, tem sido menos estudada. Com este objetivo, mais recentemente, foram estudados SABs constituídos por LIs e citrato de potássio, como um sal orgânico e biodegradável, para a extração de aminoácidos [38,42]. Em todos os sistemas, e tal como nos casos descritos anteriormente, os aminoácidos particionam preferencialmente para a fase rica em LI, com eficiências de extração entre 72% e 99% atingidas num único passo, valores substancialmente superiores aos observados com SABs convencionais formados por polímeros [45, 46]. Na mesma linha e com o intuito de substituir os sais inorgânicos na formação de SABs, Freire et al. [23] estudaram a capacidade de SABs constituídos por LIs e hidratos de carbono para a extração de aminoácidos. Os sistemas estudados permitiram uma eficiência de extração de cerca de 50% para a fase rica em LI num único passo. Visando também o desenvolvimento de processos de extração/separação mais benignos e com controlo de pH do meio, foi proposta recentemente uma nova classe de SABs formada pela combinação de LIs com tampões biológicos orgânicos (*Good buffers*, GBs) para a extração de aminoácidos (L-fenilalanina e L-triptofano) [37]. Contrariamente aos SABs constituídos por LIs e sais, nestes sistemas os aminoácidos migram preferencialmente para a fase rica em GB, obtendo-se eficiências de extração entre 22,4 e 100,0% (extração completa) num único passo. Com base nos resultados obtidos, os autores [37] propuseram a sua utilização para o fracionamento de misturas complexas de aminoácidos através da otimização da composição da mistura e pH das fases coexistentes. Em suma, a gama dos valores de eficiência de extração apresentados pelos vários tipos de sistemas [23,36-43] sugere que a manipulação da partição dos aminoácidos entre as fases coexistentes é facilmente conseguida através da seleção da estrutura química do LI.

Nos últimos anos tem aumentado o interesse por biomoléculas, em particular, por proteínas, na medida em que estas apresentam uma grande aplicabilidade a nível da terapêutica e diagnóstico. Os métodos tradicionais de purificação de proteínas são altamente complexos, demorados e dispendiosos dado que as proteínas sofrem facilmente desnaturação e perda de atividade biológica quando em contacto com solventes orgânicos. Após os trabalhos pioneiros de aplicação de SABs envolvendo LIs na extração de aminoácidos [23,36-43], surgiu um número considerável de estudos sobre extração de proteínas. As proteínas e enzimas maioritariamente estudadas são a albumina, citocromo c, lisozima, mioglobina, tripsina e lipases. Em particular destacam-se os trabalhos que comprovam que as eficiências de extração de proteínas podem ser de cerca de 100% [49], atingidas num único passo, pela manipulação adequada da

estrutura química do LI e composição do sistema. Ruiz-Angel et al. [49] avaliaram a eficiência de extração de SABs constituídos por LIs e polímeros para quatro proteínas (citocromo C, mioglobina, ovalbumina, hemoglobina). Os autores [49] concluíram que os coeficientes de partição utilizando sistemas com LIs são geralmente duas a três ordens de grandeza superiores aos obtidos com SABs do tipo polímero-polímero ou polímero-sal. A proteína mais estudada até ao momento trata-se da albumina de soro bovino, sendo que se obtiveram já extrações completas num único passo utilizando SABs constituídos por LIs e sais [28,50] e LIs ou polímeros [35,51]. Todos estes resultados promissores devem-se à grande diferença de polaridade entre as duas fases e à possibilidade de manipular a afinidade para a fase rica em LI quando se utilizam estes compostos como constituintes de SABs. De salientar que existem alguns trabalhos [28,35] onde se recorreu à síntese de LIs com características tampão de modo a formar SABs e realizar extrações a pH controlado, um requisito essencial para manter a estabilidade de proteínas em solução. A estabilidade das proteínas após o processo extrativo tem vindo a ser avaliada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e dicroísmo circular, onde se comprovou que as proteínas mantêm a sua estrutura secundária na fase rica em LI e após a extração/purificação [35,50]. A aplicação de SABs com LIs pode ser vista também como uma boa opção para a extração de enzimas a partir dos seus meios de produção, bem como o próprio meio para biocatálise. Contudo, quando se consideram enzimas, deve-se ter em conta a sua atividade catalítica no meio rico em LI. Com a utilização de SABs constituídos por LIs derivados de amónios quaternários alcançaram-se eficiências de extração de 90% e verificou-se um aumento da atividade específica, e de até 400%, de duas desidrogenases [52].

Dentro dos produtos de valor acrescentado, destacam-se também alguns trabalhos que utilizaram SABs para a ex-

tração de fármacos, nomeadamente antibióticos. Para tal, foram propostos SABs constituídos por LIs derivados de colínio e sais para a extração de tetraciclina e ciprofloxacina a partir de soluções aquosas [30]. Após a identificação dos LIs mais promissores e adaptação das composições da mistura ternária, os autores [30] demonstraram a extração completa de antibióticos para a fase rica em LI, conseguida num único passo. Estes resultados proeminentes comprovam a potencialidade de aplicação de LIs mais biocompatíveis e ambientalmente benignos em técnicas de extração, merecendo certamente um especial destaque em estudos futuros nos campos de biotecnologia e de química analítica.

Para além da proposta de aplicação de SABs para a extração/purificação de produtos a partir de processos biotecnológicos, nos últimos anos, verificou-se um grande interesse na aplicação destes sistemas para a purificação de produtos oriundos de fontes naturais e vegetais. Estes incluem alcaloides, compostos fenólicos e terpenóides, com propriedades relevantes ao nível farmacológico, de nutrição e de cosmética (antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante, etc.) [53]. A estrutura química dos compostos mais estudados e para os quais se utilizaram SABs constituídos por LIs para a sua extração/purificação encontram-se descritas na Figura 5. Os métodos mais utilizados para a purificação de compostos extraídos a partir de biomassa compreendem extrações líquido-líquido (ELL) recorrendo a solventes orgânicos voláteis ou extrações sólido-líquido (ESL) [54]. Embora a ESP apresente uma boa capacidade de purificação e concentração, esta requer um passo adicional de dessorção do soluto relativamente demorado (e utilizando usualmente solventes orgânicos voláteis) e processos de pré-tratamento. Como técnica alternativa, os SABs constituídos por LIs têm vindo a ser estudados na extração e separação dos seguintes alcaloides: codeína [55], papaverina [55], cafeína [56-58], nicotina [56-58], xantina [58], teofilina [57] e teobromina [57].

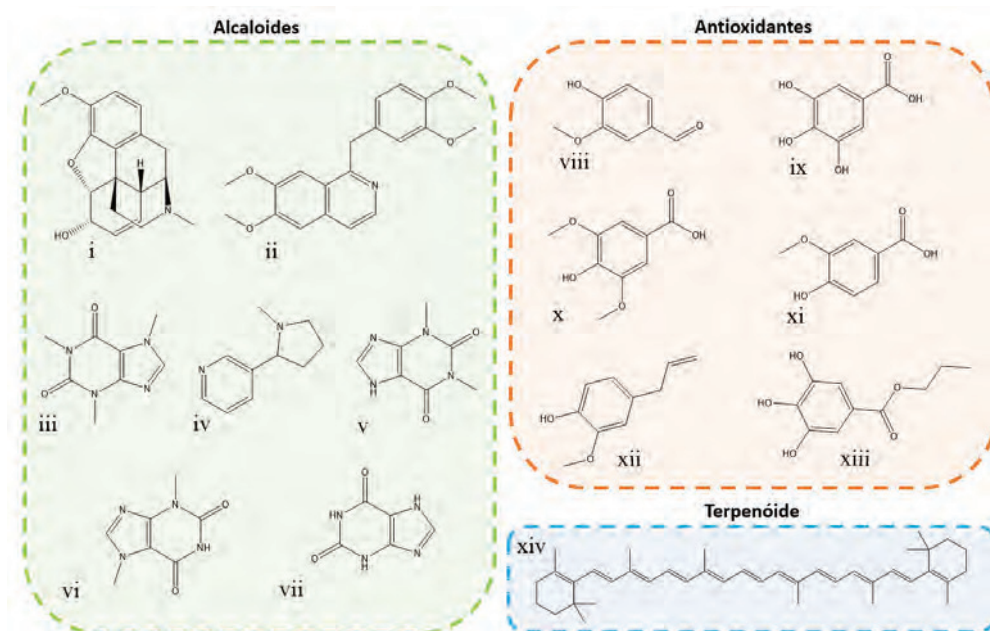


Figura 5 – Estrutura química de exemplos de alcaloides: (i) codeína, (ii) papaverina, (iii) cafeína, (iv) nicotina, (v) teofilina, (vi) teobromina e (vii) xantina; antioxidantes: (viii) vanilina, (ix) ácido gálico, (x) ácido síringico, (xi) ácido vanílico, (xii) eugenol e (xiii) galato de propilo; e terpenóides: (xiv) β -caroteno

A capacidade dos SABs constituídos por LIs e sais inorgânicos [36], hidratos de carbono [23], e aminoácidos [59] já foi amplamente estudada para a extração de cafeína. De um modo geral, as eficiências de extração mais elevadas são obtidas com SABs formados por LIs e sais, graças ao efeito de *salting-out* exercido pelo sal que promove a migração dos alcaloides para a fase oposta – fase rica em LI [56]. Passos et al. [57] estudaram o efeito da variação do tamanho da cadeia alquílica do catião na extração de uma série de alcaloides (nicotina, cafeína, teofilina e teobromina). Mais concretamente, os autores [57] estudaram SABs constituídos por $[C_n\text{mim}]\text{Cl}$, com $n = 4-10$, com citrato de potássio (a pH controlado), e tendo observado um máximo na partição em função da cadeia alquílica do LI. Os autores também concluíram que o pH do meio, e, por conseguinte a especiação dos alcaloides, não alteram o padrão observado [57]. Este máximo foi justificado pela auto-agregação dos LIs de cadeias alquílicas maiores, sendo esta uma das características inerentes a LIs, tal como confirmado por microscopia eletrónica de transmissão [57]. Para além dos SABs constituídos por LIs e sais, Pereira et al. [58] estudaram SABs constituídos por polímeros e LIs para a extração de três alcaloides. Em quase todos os exemplos, foi observada uma migração preferencial de cafeína para a fase rica em polímero, enquanto a nicotina e xantina particionaram para a fase (oposta) rica em LI [58]. Portanto, apesar das semelhanças químicas estruturais dos três alcaloides, estes resultados confirmam a elevada seletividade de SABs com LIs o que pode conduzir a fatores de purificação elevados com extrações realizadas a partir de matrizes complexas.

Dentro dos compostos obtidos a partir de fontes de biomassa, os SABs têm vindo a ser estudados também na extração de uma vasta gama de compostos fenólicos com atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, e com um papel auspicioso na redução do aparecimento de cancro, hipertensão e doenças neurodegenerativas e cardiovasculares [60]. Estes compostos estão presentes em fontes naturais como madeira, cascas, frutas e legumes [61], assim como em resíduos de atividades industriais ou agrícolas [62]. Visando a sua purificação a partir de matrizes reais, encontram-se vários trabalhos de investigação sob a aplicação de SABs com LIs na extração de vanilina [63], ácidos fenólicos, como gálico, vanílico e sirínico [64-67], eugenol [45] e galato de propilo [45].

De forma a evitar a utilização de solventes orgânicos na purificação de extratos contendo antioxidantes, nomeadamente vanilina, Cláudio et al. [63] estudaram a aplicação de SABs envolvendo LIs e sais inorgânicos. Os autores [63] avaliaram o efeito da estrutura química do LI, a temperatura de equilíbrio e a concentração inicial de vanilina na partição deste antioxidante entre as duas fases. Em todas as situações, foi demonstrado que a vanilina migra preferencialmente para a fase rica em LI [63]. Os coeficientes de partição de vanilina a 25°C variaram entre 2,7 e 49,6. Foi também observado um máximo nos SABs constituídos pela série $[C_n\text{mim}]\text{Cl}$ de LIs, estando estes resultados em concordância com os resultados de Passos et al. [57] na extração de alcaloides. Os autores [63] avaliaram por fim a viscosidade e densidade das duas fases aquosas, visando o *scale-up* do processo, verifican-

do que a viscosidade destes sistemas é substancialmente menor do que a observada nos SABs constituídos por polímeros [63].

O potencial de SABs formados por uma grande variedade de LIs e três sais (Na_2SO_4 , K_3PO_4 and $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$), para a extração de ácido gálico, foi avaliado recentemente [67]. De um modo geral, a extração do ácido gálico para a fase de LI diminui na seguinte ordem: Na_2SO_4 (pH 3-8) >> $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (pH 7) > K_3PO_4 (pH 13). Embora o K_3PO_4 seja a espécie mais forte em termos de *salting-out*, os autores [67] demonstraram que o pH do meio aquoso desempenha um papel primordial na partição de antioxidantes, em particular para compostos que exibem baixas constantes de acidez. Em suma, a forma não-carregada de ácido gálico (ou outros compostos fenólicos) migra preferencialmente para a fase rica em LI quando em meio ácido, enquanto a sua base conjugada particiona preferencialmente para a fase rica em sal [67]. Tendo por base a capacidade de LIs para manipular as eficiências de extração, mais recentemente propôs-se a utilização de LIs como aditivos (a 5 ou 10 (m/m) %), de forma a reduzir os custos do processo global de extração/purificação, em SABs formados por polietileno glicol (PEG) e sais, na extração dos ácidos gálico, vanílico e sirínico [65]. Os resultados obtidos revelaram que todos os antioxidantes migram preferencialmente para a fase rica em polímero, que por sua vez corresponde à fase para onde particionam preferencialmente os LIs. Os autores [65] demonstraram que a adição de pequenas quantidades de LI conduz a um aumento de eficiências de extração de todos os ácidos fenólicos estudados, que variam entre 80% e 99%, validando assim a aptidão do LI para ajustar a polaridade/afinidade das fases. Na mesma linha de investigação, a possibilidade de otimizar a eficiência de extração de outros antioxidantes, eugenol e galato de propilo, pela utilização de LIs como aditivos foi também recentemente demonstrada, sendo que se conseguiram resultados de extração completa num único passo [45]. Estes resultados certamente comprovam o elevado potencial de LIs como constituintes de SABs, e que mesmo em pequenas quantidades levam a um melhor desempenho do processo extrativo, permitindo ainda diminuir o custo e o impacto ambiental do método proposto.

Os terpenóides podem ser extraídos de plantas, algas e fungos [68]. O seu interesse deve-se ao facto de apresentarem atividades biológicas contra o cancro, processos de inflamação e malária, justificando assim um grande interesse na extração e purificação destes compostos [68]. Apesar do seu elevado potencial, apenas dois trabalhos avaliaram a capacidade de SABs constituídos por LIs na extração de β -caroteno [23,36]. De um modo geral, os SABs mostraram também um elevado desempenho na extração de solutos muito hidrofóbicos, com uma partição preferencial para a fase rica em LI.

APLICAÇÃO DE SABs COM LIs NA PURIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE VALOR ACRESCENTADO A PARTIR DE MATRIZES REAIS

O trabalho pioneiro na aplicação de SABs a matrizes reais foi reportado por Li et al. [55]. Os autores utilizaram SABs

constituídos por LIs como uma estratégia de pré-tratamento/extração para a análise dos alcaloides de ópio em fluidos humanos (codeína e papaverina). Após a otimização das condições operacionais, os investigadores [55] obtiveram eficiências de extração de 93% para a papaverina e 65% para a codeína utilizando SABs formados por $[C_4\text{mim}]\text{Cl}$ e K_2HPO_4 . Com o intuito de desenvolver métodos de pré-concentração para um controlo de *doping* mais eficiente, Freire et al. [56] demonstraram mais tarde que SABs com LIs permitem a extração completa de alcaloides (cafeína e nicotina) a partir de amostras de urina para a fase rica em LI. A extração completa conseguida pelos autores [56] resulta do estudo de um maior número de LIs. De facto, a grande variedade de LIs disponíveis hoje em dia permite manipular a estrutura química do LI para que melhor se adapte à extração de um composto alvo, permitindo ainda reduzir significativamente o consumo de LIs e sais utilizados. A eficiência da extração de ambos os alcaloides mostrou ser altamente dependente do LI utilizado na formação do SAB, assim como da composição da mistura [56]. A testosterona e epitestosterona, esteroides androgénicos recorrentemente utilizados para aumentar a *performance* atlética, também já foram identificadas e quantificadas em amostras de urina humana após um pré-tratamento com SABs envolvendo LIs [69]. Após a otimização de uma série de condições, conseguiram-se eficiências de extração entre 80-90% num único passo [69].

Visando ultrapassar os limites de deteção dos equipamentos analíticos usualmente utilizados para a quantificação de disruptores endócrinos em fluidos humanos, permitindo a sua monitorização, recentemente foram propostos SABs com LIs como uma técnica de extração e concentração simultânea [70]. Para tal, os autores testaram uma série alargada de LIs e K_3PO_4 na formação de SABs de modo a encontrar sistemas que permitam a extração completa de disruptores endócrinos num único passo. Para além de encontrarem sistemas que permitiram a extração completa, os autores [70] demonstraram ainda serem estes capazes de concentrar até 100 vezes (na fase rica em LI) os disruptores endócrinos presentes na matriz inicial. De fato, é possível concentrar os mais diversos produtos recorrendo a SABs, utilizando-se para o efeito misturas com diferentes composições e ao longo da mesma linha de equilíbrio levando à diminuição do volume da fase rica em LI enquanto se mantém a sua partição. Na Figura 6 apresenta-se uma representação esquemática desta abordagem. Após esta demonstração, já se mostrou que estes sistemas podem

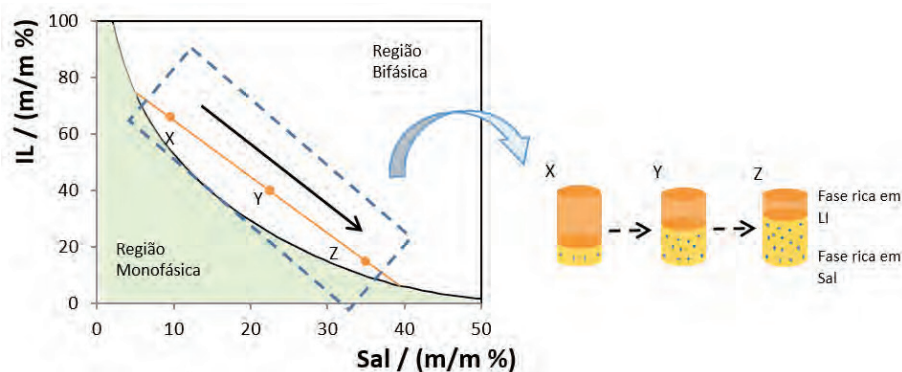
atingir fatores de concentração de até 1000 vezes [71], útil para a monitorização de poluentes persistentes em efluentes aquosos.

O desenvolvimento de tecnologias de recuperação seletivas *in situ* de produtos de valor acrescentado produzidos por vias biotecnológicas tem sido objeto de um estudo intenso na última década. No entanto, o progresso, no que respeita à integração dos processos de produção e purificação, assim como no desenvolvimento de processos em contínuo, é ainda muito escasso. Os SABs podem ser considerados como uma plataforma integrada nos passos de produção e recuperação. No entanto, este campo de investigação está ainda pouco explorado, encontrando-se apenas alguns poucos exemplos que indiciam o seu potencial e sugerem a necessidade de um estudo mais incisivo e multidisciplinar. Os trabalhos apresentados até ao momento contemplam a extração/purificação de tetraciclina [72], penicilina G [73-76], albumina [51], enzimas [77] e imunoglobulinas [34] a partir de meios fermentativos, plasma e frações aquosas de gema de ovo. Todos estes trabalhos confirmam o elevado potencial de SABs com LIs quando aplicados a matrizes reais e complexas.

Pereira et al. [72] demonstraram a aplicação de SABs biocompatíveis constituídos por LIs derivados de colínio e polímeros para a extração/purificação de tetraciclina (um antibiótico) a partir de um meio fermentativo de *Streptomyces aureofaciens*. Os autores [72] conseguiram eficiências de extração entre 60 a 100% para a tetraciclina a partir do meio fermentativo e sugeriram um processo de re-extração que permite a recuperação do antibiótico e a reutilização dos solventes. Na mesma linha de investigação, Liu e colaboradores [73-76] estudaram a purificação de penicilina a partir do meio fermentativo recorrendo a SABs com LIs. Após a otimização de vários parâmetros, os autores mostraram que os SABs conduzem a eficiências de extração de até 90%, demonstrando ainda que esta alternativa não leva à degradação da proteína. A penicilina foi recuperada a partir da fase rica em LI, enquanto as proteínas contaminantes ficaram retidas na fase oposta, permitindo então a purificação do fármaco [73-76].

Atualmente há uma enorme preocupação com o aparecimento de microrganismos resistentes aos antibióticos e, consequentemente, de doenças que não respondem a terapias convencionais, assim como de doenças autoimunes

Figura 6 – Diagrama de fases ternário (representação ortogonal) para um sistema hipotético constituído por LI + sal + H_2O . Representação esquemática de vários pontos de mistura (X, Y e Z) ao longo da mesma TL e que correspondem a um aumento dos fatores de concentração na fase rica em LI



que têm sido reportadas como cada vez mais frequentes. Para contornar esta situação, tem subsistido uma forte investigação no desenvolvimento de fármacos alternativos,

(Figura 7): uma que inclui uma etapa de pré-purificação (i); e outra sem qualquer etapa de pré-purificação (ii). Os fatores de purificação obtidos mais elevados correspondem

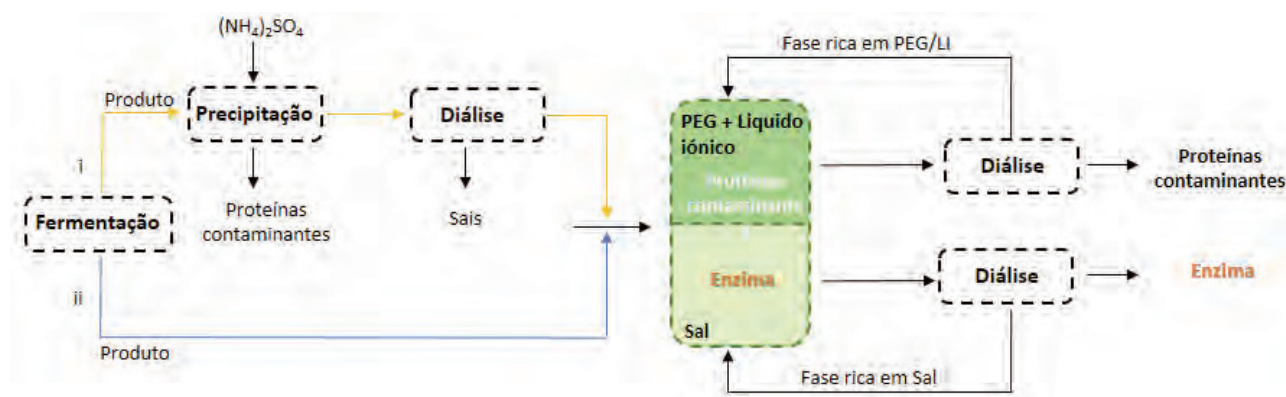


Figura 7 – Fluxograma para a produção e purificação de lipase produzida em meio fermentativo por duas vias [80]: (i) inclui pré-purificação, incluindo precipitação e diálise; (ii) sem qualquer etapa de pré-purificação. A reutilização dos solventes é proposta num processo integrado

nomeadamente de biofármacos que podem ser utilizados em imunoterapia passiva, e entre os quais se encontram os anticorpos. Recentemente demonstrou-se a aplicação de SABs biocompatíveis formados por LIs e polímeros para a extração e purificação de imunoglobulina Y (IgY) a partir da gema de ovo [34]. Os autores sintetizaram uma série de novos LIs oriundos de fontes naturais e com características de tampão que foram posteriormente testados para a formação de SABs e purificação de IgY. Com estes sistemas, foram alcançadas eficiências de extração entre 79 e 94% num único passo, demonstrando ainda a elevada seletividade destes sistemas para o anticorpo, o que permitirá a sua purificação [34].

Para além de compostos com aplicações farmacêuticas, os SABs com LIs já foram estudados na extração/purificação de outras proteínas e enzimas a partir de matrizes reais, nomeadamente a partir de soro bovino [51] e meios extracelulares [77]. Os métodos tradicionais para purificar proteínas e enzimas envolvem vários passos, como precipitação com sais, diálise, cromatografia iónica e de afinidade ou electroforese [78]. Estas técnicas conduzem muitas vezes à perda de estabilidade das proteínas e são difíceis de implementar à escala industrial. Como alternativa, já foi demonstrada a extração completa de albumina a partir de soro bovino, sem qualquer perda de proteína, utilizando SABs biocompatíveis constituídos por polímeros e LIs derivados de colínio [51]. No que respeita a enzimas, já foi estudada a purificação de lipase produzida por *Bacillus* sp. ITP-001 com SABs constituídos por LIs [77]. Os autores conseguiram fatores de purificação de lipase entre 26 e 51 e fatores de recuperação entre 91 e 96%, muito superiores aos alcançados com SABs formados por polímeros [79]. Mais tarde [80], demonstrou-se que SABs contendo LIs como adjuvantes levam a fatores de purificação ainda mais elevados, como resultado de uma partição preferencial das proteínas contaminantes para a fase superior do sistema (rica em polímero), enquanto a enzima a purificar migra preferencialmente para fase inferior (rica em sal). Após otimização das condições de extração, os autores [80] propuseram a purificação de lipase por duas vias distintas

a 103,5 e 245,0 para a etapa (ii) e (i), respetivamente. Embora se tenha observado um decréscimo na purificação da lipase com a etapa (ii), como esta não requer uma etapa de pré-purificação, esta abordagem permite diminuir significativamente os custos do processo de purificação satisfazendo no entanto os fatores de purificação exigidos pelos sectores industriais, sendo portanto uma alternativa viável. Com o mesmo propósito, Dryer e Kragl [52] demonstraram a aplicação de SABs para a purificação de duas desidrogenases a partir de extratos celulares de *Escherichia coli*, *Lactobacillus brevis* e *Thermophilic bacterium*. Para além da extração, os autores [52] acabaram por demonstrar um aumento de atividade das enzimas de até 400% na presença de LI. Em suma, estes últimos trabalhos suportam o elevado potencial de SABs formados por LIs para a purificação de enzimas a partir de matrizes reais.

A extração de produtos de valor acrescentado a partir de biomassa leva à obtenção de extratos ricos nos mais variados compostos e produtos, exigindo passos de purificação para os produtos alvo. Para este efeito foram já estudados alguns SABs constituídos por LIs para a extração e purificação de compostos com potencial farmacêutico, nomeadamente antraquinonas, derivados de polissacarídeos, saponinas e polifenóis. Tan *et al.* [11,12] estudaram a extração/purificação de compostos de valor acrescentado a partir de *Aloe vera* L. (família: *Liliaceae*) utilizando SABs com LIs. O *Aloe vera* L. contém duas famílias principais de compostos com elevado interesse: polissacarídeos, presentes na polpa, e antraquinonas, existentes nas folhas [14]. Os polissacarídeos presentes no *Aloe vera* são responsáveis pelas suas atividades anti-inflamatória e dermoregenerativas, enquanto as antraquinonas apresentam um efeito laxativo, antibacteriano e anti-inflamatório [14,15]. Os autores conseguiram eficiências de extração na ordem de 88% para as antraquinonas e de 90% para os polissacarídeos [11,12]. Curiosamente, enquanto as antraquinonas migram preferencialmente para a fase rica em LI, e foram posteriormente recuperadas por um ajuste de pH do meio, os polissacarídeos migram primordialmente para a fase rica em sal, removendo assim a maioria das proteínas contaminantes

existentes no meio. Com o fim de avaliar o potencial dos SABs com LIs, os autores [11,12] também estudaram outros SABs constituídos por polímeros e sais, onde comprovaram a elevada *performance* dos novos sistemas com LIs em termos de eficiência de extração e fatores de purificação. Embora os autores [11,12] não tenham proposto uma técnica de extração/purificação integrada, os resultados obtidos indicam que tal abordagem deverá ser possível. A extração de saponinas e polifenóis de folhas de chá-mate e posterior purificação com SABs envolvendo LIs também já foi sugerida [16]. Os autores realizaram a extração direta dos compostos desejados a partir de folhas secas do chá com soluções aquosas de LIs. Sob as condições testadas, a maioria das soluções aquosas dos LIs conduziu a eficiências de extração mais elevadas do que o método usado tradicionalmente (solução aquosa de 30% em etanol) no que respeita à extração de saponinas e polifenóis a partir da biomassa em causa [16]. Após esta etapa de extração, os autores [16] utilizaram as soluções aquosas contendo os extratos e concentraram as saponinas e compostos fenólicos pela formação de SABs pela adição de sais. Finalmente, e tirando partido da miscibilidade completa da maioria das LIs, as saponinas e os compostos fenólicos existentes na fase de IL foram recuperados pela adição de um segundo LI imiscível em água, levando à recuperação dos compostos de interesse em meio aquoso [16].

RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS DE VALOR ACRESCENTADO E REUTILIZAÇÃO DOS LIs

Para além do elevado número de publicações que reportam a utilização de SABs como alternativas promissoras na ex-

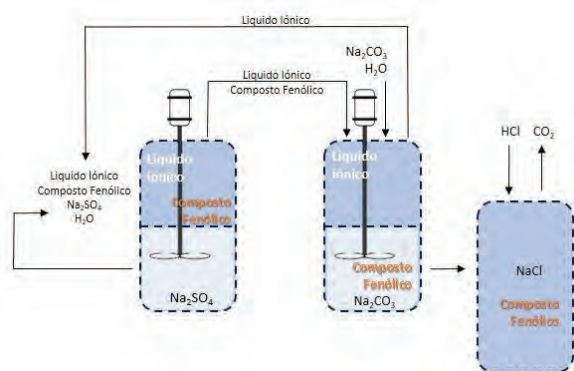


Figura 8 – Esquema de extração/purificação integrado com posterior reutilização de solventes [66]

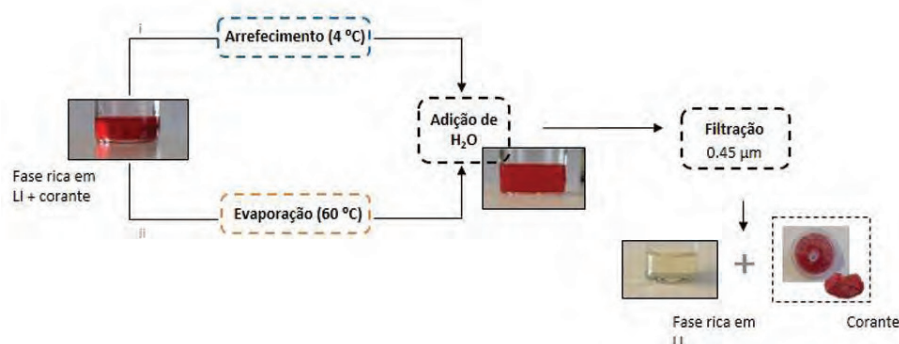


Figura 9 – Esquema do processo utilizado na recuperação dos corantes e reutilização das fases ricas em LI por duas vias [25]

tração e purificação dos mais variados compostos, o estudo de técnicas para a recuperação destes compostos a partir da fase aquosa e sua reutilização, tem sido escassamente abordada. Como alguns exemplos, destacam-se o trabalho de Cláudio et al. [66], onde se demonstrou a recuperação de antioxidantes a partir de soluções aquosas de LIs por etapas de re-extração e a viabilidade destas soluções serem recuperadas e reutilizadas sem perdas nas eficiências de extração. De um modo geral, os autores conseguiram eficiências de extração de ácidos fenólicos que variam entre os 73% e 99% para quatro ciclos de separação sequenciais, e que permitiram a regeneração de 94-95% do LI [66]. A abordagem utilizada pelos autores encontra-se sumariada na Figura 8. Com o mesmo intuito, e tirando partido das características hidrotrópicas recentemente demonstradas para LIs [81], grande parte dos solutos extraídos podem ser recuperados por uma simples diluição com água o que faz reduzir dramaticamente a sua solubilidade, levando à sua precipitação. De fato, esta abordagem já foi utilizada na recuperação de uma série de corantes utilizados pela indústria têxtil e extraídos com SABs com LIs, tal como se mostra na Figura 9.

Tirando partido da elevada massa molecular das proteínas, recentemente demonstrou-se que a recuperação de proteínas a partir da fase rica em LI pode ser feita por diálise, permitindo a reutilização do LI sem perdas na eficiência de extração [50]. Outras abordagens propostas para a recuperação de LIs contemplam processos de destilação, adsorção, nanofiltração, troca iónica e passos de re-extração [82]. Todas estas estratégias suportam a possibilidade de recuperação e reutilização dos solventes envolvidos na formação de SABs, pelo que após o cumprimento destes requisitos, os SABs constituídos por LIs poderão ser considerados plataformas de purificação eficientes, mais benignas e de baixo custo.

CONCLUSÕES

Nos últimos anos tem-se observado um interesse crescente na utilização de LIs como solventes alternativos, especialmente devido à sua não-volatilidade, não-inflamabilidade e possibilidade de manipular as suas características estruturais que permitem afinar o seu desempenho nas mais diversas aplicações. Em particular, os SABs constituídos por LIs têm sido alvo de um grande destaque, conduzindo a fatores de purificação e recuperação elevados dos mais

diversos produtos de valor acrescentado. Estas extrações com sistemas aquosos são vantajosas face às que requerem a utilização de solventes orgânicos voláteis com efeitos adversos para o ambiente e seres humanos, apresentam uma baixa viscosidade e uma rápida separação de fases. Até ao momento já se avaliou o potencial de SABs com LIs para a extração/purificação de aminoácidos, proteínas, fármacos e produtos oriundos de fontes de biomassa. No entanto, e face aos resultados promissores resumidos neste trabalho, a potencialidade de aplicação destes sistemas é muito vasta e merece ser explorada mais intensamente num futuro próximo.

Apesar dos LIs serem designados, por vezes, como “solventes verdes”, isto nem sempre se verifica se considerarmos a biodegradabilidade, biocompatibilidade e toxicidade de alguns destes compostos. Neste sentido, e antes de qualquer aplicação, é necessário fazer uma escolha criteriosa dos solventes a adotar. Nos últimos anos, tem-se observado um número crescente de novas publicações reportando a síntese de LIs oriundos de fontes naturais, e portanto com características mais benignas.

A grande desvantagem dos LIs face aos solventes orgânicos tradicionais prende-se com o seu elevado custo atual. Após aos processos de extração e purificação, o passo crucial consiste na recuperação dos produtos de valor acrescentado e na reutilização dos solventes utilizados visando o desenvolvimento de processos sustentáveis. Apesar de ser uma grande vantagem em termos ambientais, a não-volatilidade dos LIs é maior obstáculo na recuperação dos compostos alvo e posterior reciclagem dos solventes. Nos últimos anos tem-se verificado a proposta de algumas técnicas para o efeito, nomeadamente pela adição de anti-solventes, adsorção e re-extração. No entanto, esta é a maior lacuna nos estudos apresentados até ao momento e que merece um estudo mais detalhado. Apenas após o desenvolvimento de técnicas de recuperação adequadas, os LIs podem ser integrados em técnicas de separação sustentáveis.

AGRADECIMENTOS

O trabalho apresentado foi desenvolvido no âmbito do projeto CICECO-Instituto de Materiais de Aveiro, Ref. FCT UID/CTM/50011/2013, financiado por fundos nacionais FCT/MEC e FEDER/PT2020. A. M. Ferreira agradece a bolsa de doutoramento SFRH/BD/92200/2013 atribuída pela FCT.

REFERÊNCIAS

- [1] M. Martínez-Aragón, S. Burghoff, E.L.V. Goetheer, A.B. de Haan, *Sep. Purif. Technol.* **65** (2009) 65-72
- [2] H. Zhao, S. Xia, and P. Ma, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **80** (2005) 1089-1096
- [3] J. Rydberg, C. Musikas, G.R. Choppin (eds), "Principles and Practices of Solvent Extraction", Marcel Dekker, New York, 1992
- [4] P.A. Albertsson, *Nature* **182** (1958) 709-711
- [5] M.G. Freire, A.F. Claudio, J.M. Araujo, J.A. Coutinho, I.M. Marrucho, J.N. Canongia Lopes, L.P. Rebelo, *Chem. Soc. Rev.* **41** (2012) 4966-4995
- [6] K.S.M.S. Raghavarao, T.V. Ranganathan, N.D. Srinivas, R.S. Barhate, *Clean Technol. Envir.* **5** (2003) 136-141
- [7] K.N. Marsh, J.A. Boxall, R. Lichtenthaler, *Fluid Phase Equilib.* **219** (2004) 93-98
- [8] P. Walden, *Bull. Russ. Acad. Sci.* **8** (1914) 405-422
- [9] C. Graenacher, *Cellulose solution*, 1934, United States
- [10] F.H. Hurley, *Electrodeposition of aluminum*, 1948, United States
- [11] T.P. Wier, F.H. Hurley, *Electrodeposition of aluminum*, 1948: United States
- [12] J.S. Wilkes, M.J. Zaworotko, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **13** (1992) 965-967
- [13] M.J. Earle, J.M.S.S. Esperanca, M.A. Gilea, J.N. Canongia Lopes, L.P.N. Rebelo, J.W. Magee, K.R. Seddon, and J.A. Widegren, *Nature* **439** (2006) 831-834
- [14] R.D. Rogers, K.R. Seddon, *Science* **302** (2003) 792-793
- [15] J.P. Hallett, T. Welton, *Chem. Rev.* **111** (2011) 3508-3576
- [16] J. Ranke, S. Stolte, R. Stormann, J. Arning, B. Jastorff, *Chem. Rev.* **107** (2007) 2183-2206
- [17] N.V. Plechkova, K.R. Seddon, *Chem. Soc. Rev.* **37** (2008) 123-150
- [18] H.-t. Wong, C.J. Pink, F.C. Ferreira, A.G. Livingston, *Green Chem.* **8** (2006) 373-379
- [19] Z. Li, Z. Jia, Y. Luan, and T. Mu, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **12** (2008) 1-8
- [20] S.G. Cull, J.D. Holbrey, V. Vargas-Mora, K.R. Seddon, G.J. Lye, *Biotechnol. Bioeng.* **69** (2000) 227-233
- [21] M. Suleman, Y. Kumar, S.A. Hashmi, *J. Phys. Chem. B.* **117** (2013) 7436-7443
- [22] J. Ding, T. Welton, D.W. Armstrong, *Anal. Chem.* **76** (2004) 6819-6822
- [23] M.G. Freire, C.L.S. Louros, L.P.N. Rebelo, J.A.P. Coutinho, *Green Chem.* **13** (2011) 1536-1545
- [24] K.E. Gutowski, G.A. Broker, H.D. Willauer, J.G. Huddleston, R.P. Swatloski, J.D. Holbrey, R.D. Rogers, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 6632-6633
- [25] A.M. Ferreira, J.A.P. Coutinho, A.M. Fernandes, M.G. Freire, *Sep. Purif. Technol.* **128** (2014) 58-66
- [26] R. Hatti-Kaul, *Aqueous Two-Phase Systems*, in *Aqueous Two-Phase Systems: Methods and Protocols*, R. Hatti-Kaul, Editor, Humana Press, 2000, 1-10
- [27] I. Khan, K.A. Kurnia, T.E. Sintra, J.A. Saraiva, S.P. Pinho, J.A.P. Coutinho, *Fluid Phase Equilib.* **361** (2014) 16-22
- [28] M. Taha, F.A. e Silva, M.V. Quental, S.P.M. Ventura, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Green Chem.* **16** (2014) 3149-3159
- [29] B. Yang, Q. Zhang, Y. Fei, F. Zhou, P. Wang, Y. Deng, *Green Chem.* **17** (2015) 3798-3805
- [30] S. Shahriari, L.C. Tome, J.M.M. Araujo, L.P.N. Rebelo, J.A.P. Coutinho, I.M. Marrucho, M.G. Freire, *RSC Adv.* **3** (2013) 1835-1843

- [31] V. Kumar, C. Pei, C.E. Olsen, S.J.C. Schäffer, V.S. Parmar, S.V. Malhotra, *Tetrahedron: Asymmetry*. **19** (2008) 664-671
- [32] H. Ohno, K. Fukumoto, *Acc. Chem. Res.* **40** (2007) 1122-1129
- [33] S.P.M. Ventura, M. Gurbisz, M. Ghavre, F.M.M. Ferreira, F. Gonçalves, I. Beadham, B. Quilty, J.A.P. Coutinho, N. Gathergood, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **1** (2013) 393-402
- [34] M. Taha, M.R. Almeida, F.A. Silva, P. Domingues, S.P. Ventura, J.A. Coutinho, M.G. Freire, *Chemistry* **21** (2015) 4781-4788
- [35] M. Taha, M.V. Quental, I. Correia, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Process Biochem.* **50** (2015) 1158-1166
- [36] C.L.S. Louros, A.F.M. Claudio, C.M.S.S. Neves, M.G. Freire, I.M. Marrucho, J. Pauly, J.A.P. Coutinho, *Int. J. Mol. Sci.* **11** (2010) 1777-1791
- [37] A. Luís, T.B.V. Dinis, H. Passos, M. Taha, M.G. Freire, *Biochem. Eng. J.* **101** (2015) 142-149
- [38] H. Passos, A.R. Ferreira, A.F.M. Cláudio, J.A.P. Coutinho, M.G. Freire, *Biochem. Eng. J.* **67** (2012) 68-76
- [39] J.F.B. Pereira, A.S. Lima, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Green Chem.* **12** (2010) 1661-1669
- [40] S.P.M. Ventura, C.M.S.S. Neves, M.G. Freire, I.M. Marrucho, J. Oliveira, J.A.P. Coutinho, *J. Phys. Chem. B* **113** (2009) 9304-9310
- [41] C.M.S.S. Neves, S.P.M. Ventura, M.G. Freire, I.M. Marrucho, J.A.P. Coutinho, *J. Phys. Chem. B* **113** (2009) 5194-5199
- [42] M.T. Zafarani-Moattar, S. Hamzehzadeh, S. Nasiri, *Biotechnol. Progr.* **28** (2012) 146-156
- [43] S. Hamzehzadeh and M. Vasires, *Fluid Phase Equilib.* **382** (2014) 80-88
- [44] M. Ikeda, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **69** (2006) 615-626
- [45] J.H. Santos, F.A. e Silva, S.P. Ventura, J.A. Coutinho, R.L. de Souza, C.M. Soares, A.S. Lima, *Biotechnol. Progr.* **31** (2015) 70-77
- [46] M. Lu and F. Tjerneld, *J. Chromatogr. A* **766** (1997) 99-108
- [47] L.I.N. Tomé, V.R. Catambas, A.R.R. Teles, M.G. Freire, I.M. Marrucho, J.A.P. Coutinho, *Sep. Purif. Technol.* **72** (2010) 167-173
- [48] J. Li, W.J. Kao, *Biomacromolecules* **4** (2003) 1055-1067
- [49] M.J. Ruiz-Angel, V. Pino, S. Carda-Broch, A. Berthod, *J. Chromatogr. A* **1** (2007) 1-2
- [50] M.M. Pereira, S.N. Pedro, M.V. Quental, A.S. Lima, J.A. Coutinho, M.G. Freire, *J. Biotechnol.* **206** (2015) 17-25
- [51] M.V. Quental, M. Caban, M.M. Pereira, P. Stepnowski, J.A.P. Coutinho, M.G. Freire, *Biotechnol. J.* **10** (2015) 1457-1466
- [52] S. Dreyer, U. Kragl, *Biotechnol. Bioeng.* **99** (2008) 1416-1424
- [53] P. Williams, *J. Nat. Prod.* **75** (2012) 1261-1261
- [54] B. Tang, W. Bi, M. Tian, K.H. Row, *J. Chromatogr. B* **904** (2012) 1-21
- [55] S. Li, C. He, H. Liu, K. Li, F. Liu, *J. Chromatogr. B* **826** (2005) 58-62
- [56] M.G. Freire, C.M.S.S. Neves, I.M. Marrucho, J.N. Canon-gia Lopes, L.P.N. Rebelo, J.A.P. Coutinho, *Green Chem.* **12** (2010) 1715-1718
- [57] H. Passos, M.P. Trindade, T.S.M. Vaz, L.P. da Costa, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Sep. Purif. Technol.* **108** (2013) 174-180
- [58] J.F.B. Pereira, S.P.M. Ventura, F.A. e Silva, S. Shahriari, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Sep. Purif. Technol.* **113** (2013) 83-89
- [59] M. Domínguez-Pérez, L.I.N. Tomé, M.G. Freire, I.M. Marrucho, O. Cabeza, J.A.P. Coutinho, *Sep. Purif. Technol.* **72** (2010) 85-91
- [60] J. Teixeira, A. Gaspar, E.M. Garrido, J. Garrido, F. Borges, *Biomed Res. Int.* **2013** (2013) 251754
- [61] M.D. Sanza, I.N. Domínguez, L.M.C. Carcel, L.N. Gracia, *Anal. Chim. Acta.* **513** (2004) 229-237
- [62] A.F. Sousa, P.C.R.O. Pinto, A.J.D. Silvestre, C. Pascoal Neto, *J. Agric. Food. Chem.* **54** (2006) 6888-6893
- [63] A.F.M. Cláudio, M.G. Freire, C.S.R. Freire, A.J.D. Silvestre, J.A.P. Coutinho, *Sep. Purif. Technol.* **75** (2010) 39-47
- [64] A.F.M. Cláudio, A.M. Ferreira, S. Shahriari, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *J. Phys. Chem. B* **115** (2011) 11145-11153
- [65] M.R. Almeida, H. Passos, M.M. Pereira, Á.S. Lima, J.A.P. Coutinho, M.G. Freire, *Sep. Purif. Technol.* **128** (2014) 1-10
- [66] A.F.M. Cláudio, C.F.C. Marques, I. Boal-Palheiros, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Green Chem.* **16** (2014) 259-268
- [67] A.F.M. Cláudio, A.M. Ferreira, C.S.R. Freire, A.J.D. Silvestre, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Sep. Purif. Technol.* **97** (2012) 142-149
- [68] P.K. Ajikumar, K. Tyo, S. Carlsen, O. Mucha, T.H. Phon, G. Stephanopoulos, *Mol. Pharmacol.* **5** (2008) 167-190
- [69] C. He, S. Li, H. Liu, K. Li, F. Liu, *J. Chromatogr. A* **1082** (2005) 143-149
- [70] H. Passos, A.C.A. Sousa, M.R. Pastorinho, A.J.A. Nogueira, L.P.N. Rebelo, J.A.P. Coutinho, M.G. Freire, *Anal. Methods.* **4** (2012) 2664-2667
- [71] T.B.V. Dinis, H. Passos, D.L.D. Lima, V.I. Esteves, J.A.P. Coutinho, M.G. Freire, *Green Chem.* **17** (2015) 2570-2579
- [72] J.F.B. Pereira, F. Vicente, V.C. Santos-Ebinuma, J.M. Araújo, A. Pessoa, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Process Biochem.* **48** (2013) 716-722
- [73] L. Qingfen, H. Xuesheng, W. Yuhong, Y. Ping, X. Hansong, Y. Jiang, L. Huizhou, *Chinese Sci. Bull.* **50** (2005) 1582-1585
- [74] Q. Liu, J. Yu, W. Li, X. Hu, H. Xia, H. Liu, P. Yang, *Sep. Sci. Technol.* **41** (2006) 2849-2858
- [75] Y. Jiang, H. Xia, C. Guo, I. Mahmood, H. Liu, *Ind. Eng. Chem. Res.* **46** (2007) 6303-6312
- [76] Y. Jiang, H. Xia, C. Guo, I. Mahmood, H. Liu, *Biotechnol. Progr.* **23** (2007) 829-835
- [77] S.P.M. Ventura, R.L.F. de Barros, J.M. de Pinho Barbosa, C.M.F. Soares, A.S. Lima, J.A.P. Coutinho, *Green Chem.* **14** (2012) 734-740

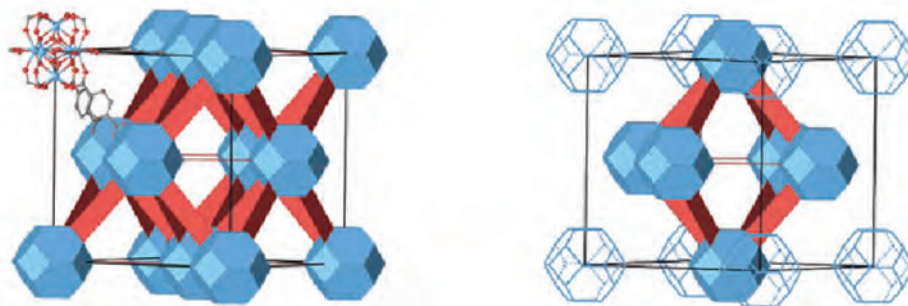
- [78] S. Graslund, P. Nordlund, J. Weigelt, B.M. Hallberg, J. Bray, et al., *Nat. Methods*. **5** (2008) 135-146
- [79] J.M.P. Barbosa, R.L. Souza, A.T. Fricks, G.M. Zanin, C.M.F. Soares, Á.S. Lima, *J. Chromatogr. B* **879** (2011) 3853-3858
- [80] R.L. Souza, R.A. Lima, J.A.P. Coutinho, C.M.F. Soares, Á.S. Lima, *Sep. Purif. Technol.* (2015) doi:10.1016/j.seppur.2015.05.021
- [81] A.F.M. Cláudio, M.C. Neves, K. Shimizu, J.N. Canon-gia Lopes, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, *Green Chem.* **17** (2015) 3948-3963
- [82] M.M. Pereira, J.A.P. Coutinho, and M.G. Freire, "Ionic Liquids as Efficient Tools for the Purification of Biomolecules and Bioproducts from Natural Sources, in Ionic Liquids in the Biorefinery Concept: Challenges and Perspectives", *CHAPTER 8*, The Royal Society of Chemistry, 2016, 227-257

ACTUALIDADES CIENTÍFICAS

MOF COM DEFEITOS COM PROPRIEDADES SURPREENDENTES

Investigadores do Reino Unido e França ajustaram as propriedades de um MOF (*Metal-Organic-Framework*) por inclusão deliberada de defeitos na sua estrutura.

A maioria dos sólidos expande com o aquecimento. Andrew Goodwin, da Universidade de Oxford, e colegas obtiveram MOFs que exibem o efeito contrário. Este efeito foi conseguido introduzindo deliberadamente defeitos na estrutura do MOF UiO-66(Hf), através da criação de lacunas, que reduziram a conectividade da rede. Foi estudado o efeito da concentração dos defeitos nas propriedades termomecânicas dos MOFs obtidos, tendo um deles revelado uma expansão térmica negativa dez vezes superior à observada no material de referência com esta propriedade (ZrW_2O_8).



Segundo os autores, o trabalho mostrou pela primeira vez que as propriedades termomecânicas de um MOF podem ser sistematicamente alteradas através do controlo da incorporação de defeitos na sua estrutura. As propriedades termomecânicas observadas nos MOFs UiO-66(Hf) com defeitos são raras e a expansão térmica negativa observada para um deles é a maior observada até agora para um MOF. Os autores referem ainda que estes materiais poderão ser usados para contrabalançar o efeito da expansão térmica positiva que é comum nos materiais correntes usados, por exemplo, em engenharia civil, instrumentos de precisão e dispositivos electrónicos. Além disso, o estudo sistemático da inclusão de defeitos pode desempenhar um papel fundamental na concepção de novas classes de MOFs funcionais.

(Fontes: "Defective by design", <http://www.rsc.org/chemistryworld/2015/04/mof-defective-design-negative-thermal-expansion> e M.J. Cliffe, J.A. Hill, C.A. Murray, F.-X. Coudert, A.L. Goodwin. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **17** (2015) 11586-11592 - DOI: 10.1039/c5cp01307k)

Paulo Mendes
(pjgm@uevora.pt)

