



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**Leonardo Hadlich de Oliveira**

**Propriedades Termofísicas, Equilíbrio de Fases e Partição  
de Biomoléculas em Sistemas Aquosos Bifásicos Formados  
por Polímero Sintético e Sal**

**Campinas – SP**

**2017**

**Leonardo Hadlich de Oliveira**

**Propriedades Termofísicas, Equilíbrio de Fases e Partição de Biomoléculas em Sistemas Aquosos Bifásicos Formados por Polímero Sintético e Sal**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

**Orientadora: Prof. Dra. Maria Alvina Krähenbühl**

**Coorientador: Prof. Dr. Elias de Souza Monteiro Filho**

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pelo aluno Leonardo Hadlich de Oliveira, orientada pela Profa. Dra. Maria Alvina Krähenbühl e coorientada pelo Prof. Dr. Elias de Souza Monteiro Filho

**Campinas – SP**

**2017**

**Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s):** CNPq, 143083/2009-0

**ORCID:** 0000-0002-1793-4075

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura  
Luciana Pietrosanto Milla - CRB 8/8129

OL4p Oliveira, Leonardo Hadlich de, 1983-  
Propriedades termofísicas, equilíbrio de fases e partição de biomoléculas em sistemas aquosos bifásicos formados por polímero sintético e sal / Leonardo Hadlich de Oliveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Maria Alvina Krähenbühl.

Coorientador: Elias de Souza Monteiro Filho.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Sistemas aquosos bifásicos. 2. Propriedades termofísicas. 3. Biomoléculas. I. Krähenbühl, Maria Alvina, 1960-. II. Monteiro Filho, Elias de Souza. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

#### Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Thermophysical properties, phase equilibria and partition of biomolecules in aqueous biphasic systems formed by synthetic polymer and salt

**Palavras-chave em inglês:**

Aqueous biphasic systems

Thermophysical properties

Biomolecules

**Área de concentração:** Desenvolvimento de Processos Químicos

**Titulação:** Doutor em Engenharia Química

**Banca examinadora:**

Maria Alvina Krähenbühl [Orientador]

Pedro de Alcântara Pessoa Filho

Marlus Pinheiro Rolemberg

Domingos Sávio Giordani

Eduardo Augusto Caldas Batista

**Data de defesa:** 24-11-2017

**Programa de Pós-Graduação:** Engenharia Química

Tese de Doutorado defendida por Leonardo Hadlich de Oliveira e aprovada em 24 de Novembro de 2017 pela Comissão Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Prof. Dra. Maria Alvina Krähenbühl (orientadora)

Prof. Dr. Marlus Pinheiro Rolemberg

Prof. Dr. Domingos Sávio Giordani

Prof. Dr. Pedro de Alcântara Pessoa Filho

Prof. Dr. Eduardo Augusto Caldas Batista

A Ata da Defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora consta no processo de vida acadêmica do aluno.

## **DEDICATÓRIA**

Esta Tese de Doutorado é dedicada  
a todos profissionais sérios e persistentes  
que exercem suas atividades  
à luz da Engenharia Química.

## AGRADECIMENTOS

Para começar, agradeço, em memória, àquele que foi meu orientador por mais de oito anos e primeiro orientador deste trabalho, Prof. Dr. Martín Aznar. Para sempre serei lisonjeado por ter sido aluno e colega de pesquisa de um Engenheiro Químico respeitadíssimo na área da Termodinâmica do Equilíbrio de Fases.

Em segundo lugar, agradeço à Profa. Dra. Maria Alvina Krähenbühl, que prontamente aceitou orientar este trabalho até a sua finalização e que esteve presente em momentos decisivos de minha carreira acadêmica como membro integrante de minhas qualificação e defesa de mestrado e pré-defesa de doutorado.

Agradeço ao Prof. Dr. Elias Elias de Souza Monteiro Filho, que acompanhou e coorientou esta pesquisa, ajudando em diversas atividades como, por exemplo, a implementação da modelagem dos dados ternários, a discussão dos resultados e revisão do texto.

Aos Profs. Drs. Gustavo Paim Valença e Artur Zaghini Francesconi por aceitarem me supervisionar, até mais de uma vez no caso do Prof. Gustavo, como aluno do Programa de Estágio Docente (PED) na disciplina de Termodinâmica I. Tal experiência aumentou o meu conhecimento em termodinâmica clássica aplicada à Engenharia Química por meio do esclarecimento de dúvidas de alunos da graduação e implementação de cálculos de equilíbrio de fases e estimação de propriedades termofísicas utilizando os pacotes computacionais Mathematica 6.0® e Excel® 2010.

Agradeço ao Prof. Dr. Pedro Augusto Arroyo, meu atual coordenador e colega de equipe no Laboratório de Adsorção e Troca Iônica da Universidade Estadual de Maringá. Sou grato pela flexibilidade de tempo que me forneceu para que pudesse desenvolver este trabalho concomitantemente com o cumprimento das atividades de um complexo Projeto Petrobras baseado na Adsorção em Fase Gasosa.

À Profa. Dra. Aline Carvalho da Costa por ter feito o que estava ao seu alcance para me ajudar a marcar a defesa deste trabalho.

À minha mãe, Cleuza Maria Hadlich de Oliveira, e minha irmã, Me. Josiana Hadlich de Oliveira, por terem provido a força de longa distância, a recarga de energia e o conselho sincero e amigável, atuantes constantemente durante todo o tempo desde que deixei os pagos à margem leste do Rio Uruguai.

Aos colegas e pesquisadores que desenvolveram atividades no Laboratório de Equilíbrio de Fases (LEF), Me. Julio Lopes da Silva Jr., Dr. Víctor Hugo Alvarez Alvarez, Dra.

Mariana Ricken Barbosa, Dra. Rafaela Rocha Pinto, Dr. Enio Gomes de Azevedo Rocha, Me. Amanda Cristina de Oliveira, Dr. Luis Alberto Follegatti Romero, Dra. Irede Dalmolin, Dr. Alex Barreto Machado, Dra. Ana Cláudia Ueda, Melissa Carvalho Battistel, Thiago de Castro Alves, Talita Regina Guadagnini, Bruno Fernandes de Almeida, Thiago Melozo Waldrigui, Lucas Domingues e Phylipe Andrian Cussolim. Agradeço por me ajudarem a desenvolver a parte experimental deste trabalho, a melhorar o entendimento do equilíbrio de fases de diversos sistemas ternários e de processos de extração líquida, a construir novas ideias de pesquisa entre um café e outro e a realizar um total de nove artigos científicos.

Aos grandes amigos e companheiros de morada que fiz em Campinas, Me. André Vieira da Silva e Me. Thisien Gabriel Montes. Agradeço por me inspirarem a nunca desistir deste trabalho por meio de seus exemplos de dedicação aos estudos, ao trabalho, aos investimentos e, principalmente, à nossa amizade.

Ao meu amigo, Me. Bruno Klein, pelas visitas ao LEF para tomar um mate e discutir os últimos acontecimentos desta pesquisa, bem como os últimos achados da ciência e, também, os últimos álbuns lançados pelas grandes bandas de metal (m/).

A todos os meus amigos em todo o Brasil que torceram (e me encheram o saco) para esta pesquisa ser realizada e finalizada fazendo uma pergunta que se tornou clássica: “E o teu doutorado?”.

Agradeço também a todas as pessoas que me deram caronas e ajudaram a evitar eu perder os ônibus que fizeram/fazem o trecho de ida e volta entre Campinas e Maringá. Sem as mesmas, esta pesquisa poderia ter sido comprometida em algum momento.

E finalmente, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo benefício da bolsa de doutorado, processo número 143083/2009-0, no período de Setembro de 2009 a Julho de 2012.

## RESUMO

Este trabalho é um estudo sobre sistemas aquosos bifásicos formados por polímero e sal e seus subsistemas, e apresenta as etapas: i) medição de propriedades termofísicas, ii) determinação de pontos de névoa, iii) obtenção dos dados de equilíbrio de fases e partição de biomoléculas. As propriedades mensuradas foram densidade de sólidos e misturas líquidas, bem como índice de refração e pH destas. Pontos de névoa foram determinados para sistemas com polímero + água e polímero + sal + água. Dados de equilíbrio líquido-líquido (ELL) para polímero + sal + água e partição de biomoléculas em polímero + sal + água + biomolécula foram obtidos. Utilizou-se os polímeros polietileno glicol (PEG<sub>1000</sub>, PEG<sub>600</sub> e PEG<sub>400</sub>), polipropileno glicol (PPG<sub>400</sub>), copolímero bloco (L35 e L64) e copolímero randômico (EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>). Os sais empregados foram sulfato de sódio (NaSulf), tartarato dissódico dihidratado (NaTart) e citrato de sódio dibásico sesquihidrato (NaCit). Albumina de soro bovino (BSA) e lisozima da clara do ovo (LIS) foram as biomoléculas utilizadas. Dentre as técnicas experimentais, foram usadas densimetria, refratometria, medição de pH e espectrofotometria. As propriedades termofísicas foram correlacionadas pelos modelos de Redlich-Kister e Redlich-Meyer. Os dados de ELL foram ajustados com NRTL em frações mássicas. Os resultados indicam que as densidades dos sólidos têm as seguintes ordens: NaSulf > NaTart > NaCit e LIS > BSA. Para polímero + água, a densidade diminui na seguinte ordem: PEG<sub>400</sub> > PEG<sub>1000</sub> ≈ PEG<sub>600</sub> > L35 > L64 > EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> > PPG<sub>400</sub>. O índice de refração independe do polímero até frações mássicas de ≈ 40%. A variação do pH apresenta um ponto de mínimo. Sistemas sal + água são mais densos para NaSulf e seus índices de refração não variam até ≈ 5% de sal em água. Os valores de pH dessas soluções apresentam a seguinte ordem: NaTart > NaSulf > NaCit. A medição da densidade dos sistemas ternários foi realizada para os dados da curva binodal e apresentou valores intermediários aos de sal + água e polímero + água. Para os pontos de névoa de polímero + água, o sistema com EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> forma duas fases abaixo de 25 °C. PPG<sub>400</sub> e L35 apresentam pontos de névoa acima de 47 e 79 °C, respectivamente. Curvas bimodais e dados de ELL foram obtidos para {PEG<sub>1000</sub> ou PEG<sub>400</sub> ou PPG<sub>400</sub> ou L35} + NaSulf + água, {PPG<sub>400</sub> ou L35} + {NaTart ou NaCit} + água, a 20 °C, exceto para o sistema com PEG<sub>1000</sub>, realizado a 25 °C. O sistema com maior região heterogênea foi L35 + NaSulf + água. A partição das biomoléculas foi realizada com {PPG<sub>400</sub> ou L35} + {NaSulf ou NaTart ou NaCit} + água a 20 °C e verificou-se, para sistemas com PPG<sub>400</sub>, que BSA e LIS particionam para a fase rica em sal. Os coeficientes de partição apresentaram, de forma geral, um ponto de mínimo na faixa de composição estudada.



## ABSTRACT

This work is a study about aqueous biphasic systems formed by polymer and salt and its subsystems, and presents the stages: i) measurement of thermophysical properties, ii) determination of cloud points, iii) realization of phase equilibrium data and partition of biomolecules. Properties measured were density of solids and liquid mixtures, as well as their refractive index and pH. Cloud points were determined for systems with polymer + water and polymer + salt + water. Liquid-liquid equilibrium (LLE) data for polymer + salt + water and partition of biomolecules in polymer + salt + water + biomolecule were obtained. Polymers polyethylene glycol (PEG<sub>1000</sub>, PEG<sub>600</sub> and PEG<sub>400</sub>), polypropylene glycol (PPG<sub>400</sub>), block copolymer (L35 and L64), and random copolymer (EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>) were utilized. Salts employed were sodium sulfate (NaSulf), disodium tartrate dihydrate (NaTart), sodium citrate dibasic sesquihydrate (NaCit). Bovine serum albumin (BSA) and lysozyme from hen egg (LIS) WERE the biomolecules utilized. Among the experimental techniques, densimetry, refractometry, pHmetry and spectrophotometry were used. Thermophysical properties were correlated by Redlich-Kister and Redlich-Meyer models. LLE data were fitted by NRTL model in mass fractions. Results indicate density of the solids has the following orders: NaSulf > NaTart > NaCit and LIS > BSA. For polymer + water, density decreases in the order: PEG<sub>400</sub> > PEG<sub>1000</sub> ≈ PEG<sub>600</sub> > L35 > L64 > EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> > PPG<sub>400</sub>. Refractive index is independent of polymer type until mass fractions near to 40%. pH variation presents a point of minimum. Salt + water systems are denser for NaSulf and their refractive index do not vary until approximately ≈ 5% salt in water. pH values of these solutions present the following order: NaTart > NaSulf > NaCit. Measurement ternary systems density was realized for binodal curve data and presented intermediary values between those obtained for salt + water and polymer + water. For binary cloud points of polymer + water, system with EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> forms two phases below 25 °C. PPG<sub>400</sub> and L35 present cloud points higher than 47 and 79 °C, respectively. Binodal curves and LLE data were obtained for {PEG<sub>1000</sub> or PEG<sub>400</sub> or PPG<sub>400</sub> or L35} + NaSulf + water, {PPG<sub>400</sub> or L35} + {NaTart or NaCit} + water, at 20 °C, except for the system with PEG<sub>1000</sub>, determined at 25 °C. System that presented the greatest heterogeneous region was L35 + NaSulf + water. Partition of biomolecules was conducted with {PPG<sub>400</sub> or L35} + {NaSulf or NaTart or NaCit} + water at 20 °C, and it was verified for PPG<sub>400</sub> systems that BSA and LIS distribute to salt rich phase. Distribution coefficients presented in general a minimum in the composition range studied.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1. Estrutura do PEG.	28
Figura 2.2. Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam PEG.	29
Figura 2.3. Estrutura do PPG.	29
Figura 2.4. Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam PPG.	30
Figura 2.5. Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam EOPOs.	31
Figura 2.6. Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam copolímeros bloco.	32
Figura 2.7. Total de artigos publicados ao longo dos anos para SABs que utilizam PEGs, PPGs, EOPOs, copolímeros bloco.	33
Figura 2.8. Esquema de diagrama de fases em SABs.	34
Figura 2.9. Efeito do pH no coeficiente de partição de BSA – SABs com PEG <sub>8000</sub> + HPS ou PEG <sub>1000</sub> + HPS. (Fonte: ALMEIDA <i>et al.</i> , 1998.)	38
Figura 2.10. Porcentagem de trabalhos sobre SABs presentes na literatura sem medição de propriedades (área branca) e com a medição (área cinza).	41
Figura 3.1. Medidor de pH Quimis, modelo Q-400a, com eletrodo de Ag combinado.	45
Figura 3.2. Espectrofotômetro UV-visível, modelo UV-mini 1240.	45
Figura 3.3. Balança de suspensão magnética Rubotherm.	46
Figura 3.4. Esquema do método dos pontos de névoa aplicado nesta pesquisa.	51
Figura 5.1. Variação da massa experimental ( $m_{exp}$ ) com a densidade de cada sistema.	60
Figura 5.2. Densidade experimental (■), ideal (- - -) e calculada por Redlich-Kister (—) para misturas de polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho a 20 °C.	66
Figura 5.3. Comparação entre densidades e desvios da densidade para os sistemas polímero (1) + água (2) estudados neste trabalho a 20 °C: símbolos, experimental; linhas, Redlich-Kister.	68

- Figura 5.4. Índice de refração experimental (■), ideal (- - -) e calculado por Redlich-Kister (—) para misturas de polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho a 20 °C. 69
- Figura 5.5. Comparação entre índices de refração e desvios do índice de refração para os sistemas polímero (1) + água (2) estudados neste trabalho a 20 °C: símbolos, experimental; linhas, Redlich-Kister. 70
- Figura 5.6. pH para misturas polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho a 20 °C. 70
- Figura 5.7. Pontos de névoa para misturas polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho: \*, PPG<sub>400</sub>; ▲, L35; ■, EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>; □, pontos de límpido para EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>. As linhas somente conectam os pontos para facilitar a visualização. 71
- Figura 5.8. Variação da densidade (a) e expansividade térmica (b) para misturas de {EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> ou PEG<sub>400</sub> ou PPG<sub>400</sub>} (1) + água (2). 77
- Figura 5.9. Densidade, ao longo fração mássica, e volume molal aparente, ao longo da molalidade, para misturas sal (1) + água (2) estudadas a 20 °C. 82
- Figura 5.10. Índice de refração, ao longo fração mássica, e refratividade molar, ao longo da fração molar, para misturas sal (1) + água (2) estudadas a 20 °C. 82
- Figura 5.11. pH para misturas sal (1) + água (2) estudadas à temperatura ambiente. As linhas somente conectam os pontos para facilitar a visualização. 84
- Figura 5.12. Densidade (a) e expansividade térmica (b) para misturas de {NaSulf ou NaTart ou NaCit} (1) + água (2). 85
- Figura 5.13. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PEG<sub>1000</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 25 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; —▲—, linhas de amarração. NRTL: —◇—, linhas de amarração. Snyder *et al.* (1992): ○, alimentações; —Δ—, linhas de amarração. 95
- Figura 5.14. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PEG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; —▲—, linhas de amarração. NRTL: —◇—, linhas de amarração. 95
- Figura 5.15. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; —▲—, linhas de amarração. 96

- Figura 5.16. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração. NRTL: –◇–, linhas de amarração. 96
- Figura 5.17. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração. 97
- Figura 5.18. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásicos L35 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração. 97
- Figura 5.19. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração. 98
- Figura 5.20. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração. 98
- Figura 5.21. Curvas binodais para polímeros + sal + água a 20 °C: (a) NaSulf, (b) NaTart e (c) NaCit. 105
- Figura 5.22. Curvas binodais para polímero + sais + água a 20 °C: (a) PPG<sub>400</sub>, (b) L35. 105
- Figura 5.23. Densidade *versus* fração mássica de água para os sistemas estudados: ■, polímero + água; ●, sal + água; ▲, curva binodal. 107
- Figura 5.24. Índice de refração *versus* fração mássica de água para os sistemas estudados: □, polímero + sal; ○, sal + água; Δ, curva binodal. 108
- Figura 5.25. Curvas de calibração obtidas para BSA (■) e LIS (□). 112
- Figura 5.26. Coeficientes de partição para BSA e LIS para os sistemas estudados com PPG<sub>400</sub>: ■, 1 mg·g<sup>-1</sup>; ●, 5 mg·g<sup>-1</sup>; ▲, 10 mg·g<sup>-1</sup>; □, ponto crítico. 120
- Figura 5.27. Coeficientes de partição para BSA e LIS para os sistemas estudados com L35: ■, 1 mg·g<sup>-1</sup>; ●, 5 mg·g<sup>-1</sup>; ▲, 10 mg·g<sup>-1</sup>; □, ponto crítico. 121

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Lista de trabalhos com partição de biomoléculas usando SABs	36
Tabela 3.1. Compostos utilizados, sigla empregada, densidade e índice de refração a 20 °C, pureza e fornecedor.	44
Tabela 5.1. Resultados dos experimentos realizados para obtenção das densidades dos sólidos utilizados neste trabalho.	61
Tabela 5.2. Propriedades abordadas no estudo das misturas binárias de polímero + água	62
Tabela 5.3. Densidade, índice de refração e pH para EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub> (1) + água (2) a 20 °C.	63
Tabela 5.4. Densidade, índice de refração e pH para PEG <sub>1000</sub> (1) + água (2) a 20 °C.	63
Tabela 5.5. Densidade, índice de refração e pH para PEG <sub>600</sub> (1) + água (2) a 20 °C.	64
Tabela 5.6. Densidade, índice de refração e pH para PEG <sub>400</sub> (1) + água (2) a 20 °C.	64
Tabela 5.7. Densidade, índice de refração e pH para PPG <sub>400</sub> (1) + água (2) a 20 °C.	65
Tabela 5.8. Densidade, índice de refração e pH para L35 (1) + água (2) a 20 °C.	65
Tabela 5.9. Densidade, índice de refração e pH para L64 (1) + água (2) a 20 °C.	65
Tabela 5.10. Parâmetros da equação de Redlich-Kister para os desvios de densidade e índice de refração de sistemas polímero + água estudados neste trabalho.	67
Tabela 5.11. Pontos de névoas para as misturas EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub> (1) + água (2) estudadas neste trabalho.	71
Tabela 5.12. Pontos de névoas para as misturas PPG <sub>400</sub> (1) + água (2) estudadas neste trabalho.	72
Tabela 5.13. Pontos de névoas para as misturas L35 (1) + água (2) estudadas neste trabalho.	72
Tabela 5.14. Densidade e expansividade térmica para mistura de EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub> + água.	74
Tabela 5.15. Densidade e expansividade térmica para mistura de PEG <sub>400</sub> + água.	75
Tabela 5.16. Densidade e expansividade térmica para mistura de PPG <sub>400</sub> + água.	76
Tabela 5.17. Propriedades abordadas no estudo das misturas binárias de sal + água	78
Tabela 5.18. Densidade, índice de refração, pH, molalidade, volume molal aparente, fração molar e refratividade molar para o sistema binário NaSulf (1) + água (2) estudado neste trabalho a 20 °C.	79

Tabela 5.19. Densidade, índice de refração, pH, molalidade, volume molal aparente, fração molar e refratividade molar para o sistema binário NaTart (1) + água (2) estudado neste trabalho a 20 °C.	80
Tabela 5.20. Densidade, índice de refração, pH, molalidade, volume molal aparente, fração molar e refratividade molar para o sistema binário NaCit (1) + água (2) estudado neste trabalho a 20 °C.	81
Tabela 5.21. Parâmetros das retas utilizadas na regressão dos dados de densidade e índice de refração para cada sistema sal + água a 20 °C.	82
Tabela 5.22. Parâmetros da equação de Redlich-Meyer obtidos para cada sistema sal + água.	83
Tabela 5.23. Parâmetros das retas utilizadas na regressão dos dados de refratividade molar para cada sistema sal + água a 20 °C.	83
Tabela 5.24. Densidade e expansividade térmica para mistura de NaSulf (1) + água (2).	86
Tabela 5.25. Densidade e expansividade térmica para mistura de NaTart (1) + água (2).	87
Tabela 5.26. Densidade e expansividade térmica para mistura de NaTart (1) + água (2).	88
Tabela 5.27. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PEG <sub>1000</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 25 °C estudados neste trabalho.	90
Tabela 5.28. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PEG <sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.	90
Tabela 5.29. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PPG <sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.	91
Tabela 5.30. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema L35 (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.	91
Tabela 5.31. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PPG <sub>400</sub> (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.	92
Tabela 5.32. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema L35 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.	93
Tabela 5.33. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PPG <sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.	94

Tabela 5.34. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema L35 (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.	94
Tabela 5.35. Correlações obtidas para cada sistema.	99
Tabela 5.36. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PEG <sub>1000</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 25 °C.	100
Tabela 5.37. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PEG <sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C.	100
Tabela 5.38. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PPG <sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C.	100
Tabela 5.39. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C.	101
Tabela 5.40. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PPG <sub>400</sub> (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C.	101
Tabela 5.41. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C.	101
Tabela 5.42. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PPG <sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C.	102
Tabela 5.43. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C.	102
Tabela 5.44. Parâmetros do NRTL em frações mássicas obtidos para os sistemas em que foi possível realizar a modelagem.	109
Tabela 5.45. Concentrações de biomolécula e valores médios de absorvância obtidos para soluções aquosas de BSA e LIS.	111
Tabela 5.46. Partição de biomoléculas e propriedades físicas de cada fase.	112
Tabela 5.47. Concentração de aminoácidos em BSA e LIS.*	112
Tabela 5.48. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema PPG <sub>400</sub> + NaSulf + água a 20 °C.	114
Tabela 5.49. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema PPG <sub>400</sub> + NaTart + água a 20 °C.	115

Tabela 5.50. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema PPG <sub>400</sub> + NaCit + água a 20 °C.	116
Tabela 5.51. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema L35 + NaSulf + água a 20 °C.	117
Tabela 5.52. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema L35 + NaTart + água a 20 °C.	118
Tabela 5.53. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema L35 + NaCit + água a 20 °C.	119



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BSA	albumina de soro bovino
BSM	balança de suspensão magnética
CLA	comprimento da linha de amarração
ELL	equilíbrio líquido-líquido
EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub>	copolímero randômico Ultraric® PE 62
ILA	inclinação da linha de amarração
L35	copolímero bloco Pluronic® L35
L64	copolímero bloco Pluronic® L64
LIS	lisozima da clara do ovo
NaCit	citrato de sódio dibásico sesquihidrato
NaSulf	sulfato de sódio
NaTart	tartarato dissódico dihidratado
PEG	polietileno glicol
PPG	polipropileno glicol
SAB	sistema aquoso bifásico
TCIS	temperatura consoluta inferior da solução (°C)

## LISTA DE SÍMBOLOS

### *Algarismos arábicos*

$a_b^\alpha$	atividade da biomolécula na fase 1 ( $U \cdot mg^{-1}$ )
$a_b^\beta$	atividade da biomolécula na fase 2 ( $U \cdot mg^{-1}$ )
$A_\rho$	coeficiente linear da Equação 3.6 ( $g \cdot cm^{-3}$ )
$A_n$	coeficiente linear da Equação 3.7
$A_p$	parâmetros da equação de Redlich-Kister
$A_{Rm}$	coeficiente linear da Equação 3.8
$A_{UV}$	absorbância na região do ultravioleta
$B_\rho$	coeficiente angular da Equação 3.6 ( $g \cdot cm^{-3}$ )
$B_n$	coeficiente angular da Equação 3.7
$B_{Rm}$	coeficiente angular da Equação 3.8
$b_v$	parâmetro empírico de Redlich-Meyer ( $kg \cdot cm^3 \cdot mol^{-2}$ )
$C_0$	concentração inicial de biomolécula em água ( $mg \cdot g^{-1}$ )
$C_b$	concentração de biomolécula ( $mg \cdot g^{-1}$ )
$C_k$	número componentes em cada sistema $k$
$C_{FI}$	concentração de biomolécula da fase inferior ( $mg \cdot g^{-1}$ )
$C_{FS}$	concentração de biomolécula da fase superior ( $mg \cdot g^{-1}$ )
$D$	número total de sistemas
$f_{w_1}$	equação obtida a partir dos pontos de névoa para a fração do componente 1 em função da densidade e/ou índice de refração
$f_{w_2}$	equação obtida a partir dos pontos de névoa para a fração do componente 2 em função da densidade e/ou índice de refração
$f_i^\alpha$	fugacidade do componente $i$ na fase $\alpha$ (bar)
$f_i^\beta$	fugacidade do componente $i$ na fase $\beta$ (bar)
$F$	função objetivo baseada no princípio da Máxima Verossimilhança
$g_{w_2}$	equação obtida a partir dos pontos de névoa para a fração do componente 2 em função da fração mássica do componente 1
$I$	inclinação da curva obtida pelo ajuste linear ( $g \cdot mg^{-1}$ ) da Equação 3.14
$K_{BSA}$	coeficiente de partição da BSA
$K_{LIS}$	coeficiente de partição da LIS

$K_e$	coeficiente de partição baseado na atividade
$K_p$	coeficiente de partição baseado na concentração
$m$	molalidade da solução ( $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
$m_a$	massa de gás adsorvida na amostra de material sólido (g)
$m_{exp}$	massa experimental mostrada pelo display da balança de suspensão magnética (g)
$M_i$	massa molar do componente $i$ na solução ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$m_s$	massa de material sólido determinada após a etapa de ativação (g)
$M_{sal}$	massa molar do sal ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$m_{sc}$	massa do suporte para amostra sólida (g)
$M_1$	parâmetro de ajuste da Equação 3.10
$M_2$	parâmetro de ajuste da Equação 3.10
$M_3$	parâmetro de ajuste da Equação 3.10
$n$	índice de refração
$n_1$	índice de refração do componente 1
$n_2$	índice de refração do componente 2
$n_{comp}$	número de componentes no sistema
$N_k$	número de linhas de amarração em cada sistema $k$
$p$	expoente da equação de Redlich-Kister
$P$	pressão (bar)
$pI$	ponto isoelétrico
$R$	constante universal dos gases ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ )
$R_m$	refratividade molar ( $\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$S_v$	parâmetro de Redlich-Meyer que está relacionado com a carga dos íons salinos ( $\text{kg}^{0,5}\text{ cm}^3\cdot\text{mol}^{-1,5}$ )
$T$	temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_{jk}^{calc}$	temperatura calculada para a linha de amarração $j$ no sistema $k$ (K)
$T_{jk}^{exp}$	temperatura experimental para a linha de amarração $j$ no sistema $k$ (K)
$T_{límpido}$	temperatura de formação da fase límpida ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_{névoa,1}$	temperatura de formação do primeiro ponto de névoa ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_{névoa,2}$	temperatura de formação do segundo ponto de névoa ( $^{\circ}\text{C}$ )
$V_a$	volume da fase adsorvida no material sólido ( $\text{cm}^3$ )
$V_{ap}$	volume molar aparente ( $\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$V_{ap}^0$	volume molar aparente à diluição infinita ( $\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ )

$V_s$	volume do sólido adsorvente (cm <sup>3</sup> )
$V_{sc}$	volume do suporte para amostra de sólido (cm <sup>3</sup> )
$w_0$	parâmetro de ajuste da Equação 3.9
$w_1$	fração mássica de polímero nas Equações 3.10 e 3.12
$w_{1,\rho}$	fração mássica de sal na saturação estimada pela densidade
$w_{1,n}$	fração mássica de sal na saturação estimada pelo índice de refração
$w_2$	fração mássica de sal nas Equações 3.12 e 3.13
$w_i$	fração mássica do componente $i$
$w_{pol}$	fração mássica de polímero na solução
$w_{sal}$	fração mássica de sal na solução
$w_{ijk}^{\alpha,calc}$	fração mássica calculada do componente $i$ , na fase $\alpha$ , na linha de amarração $j$ , no sistema $k$
$w_{ijk}^{\beta,calc}$	fração mássica calculada do componente $i$ , na fase $\beta$ , na linha de amarração $j$ , no sistema $k$
$w_{ijk}^{\alpha,exp}$	fração mássica experimental do componente $i$ , na fase $\alpha$ , na linha de amarração $j$ , no sistema $k$
$w_{ijk}^{\beta,exp}$	fração mássica experimental do componente $i$ , na fase $\beta$ , na linha de amarração $j$ , no sistema $k$
$w_1^{FI}$	fração mássica do componente 1 na fase inferior
$w_1^{FS}$	fração mássica do componente 1 na fase superior
$w_2^{FI}$	fração mássica do componente 2 na fase inferior
$w_2^{FS}$	fração mássica do componente 2 na fase superior
$w_b^\alpha$	fração mássica da biomolécula na fase 1
$w_b^\beta$	fração mássica da biomolécula na fase 1
$x_0$	parâmetro de ajuste da Equação 3.9
$x_i$	fração molar do componente $i$
$x_i^\alpha$	fração molar do componente $i$ na fase $\alpha$
$x_i^\beta$	fração molar do componente $i$ na fase $\beta$
$y_0$	parâmetro de ajuste da Equação 3.9
$z_0$	parâmetro de ajuste da Equação 3.9

### *Algarismos gregos*

$\alpha_{ij}$	parâmetro relacionado com o grau de ordem (ou não aleatoriedade) do sistema
$\alpha_T$	expansividade térmica ( $^{\circ}\text{C}^{-1}$ )
$\gamma_i^{\alpha}$	coeficiente de fugacidade do componente $i$ na fase $\alpha$
$\gamma_i^{\beta}$	coeficiente de fugacidade do componente $i$ na fase $\beta$
$\Delta g_{ij}$	parâmetro relacionado à energia característica da interação entre moléculas $i$ e $j$ ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$\Delta n$	desvio do índice de refração
$\Delta w$	desvio médio quadrático
$\Delta \theta$	desvio da propriedade termofísica
$\Delta \rho$	desvio da densidade ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )
$\theta$	propriedade termofísica
$\theta_i$	propriedade termofísica do componente $i$ puro
$\rho$	densidade do sistema ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )
$\rho_1$	densidade do componente 1 puro ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )
$\rho_2$	densidade do componente 2 puro ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )
$\rho_g$	densidade do gás determinada por meio de uma equação de estado ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )
$\rho_s$	densidade do solvente ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )
$\sigma_{Tjk}$	desvio padrão observado para a temperatura (K)
$\sigma_{wijk}^{\alpha}$	desvio padrão observado para as frações mássicas da fase $\alpha$
$\sigma_{wijk}^{\beta}$	desvio padrão observado para as frações mássicas da fase $\beta$

## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA</b>	v
<b>AGRADECIMENTOS</b>	vi
<b>RESUMO</b>	viii
<b>ABSTRACT</b>	ix
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b>	x
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xiii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	xvii
<b>LISTA DE SÍMBOLOS</b>	xviii
<b>SUMÁRIO</b>	xxii
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	25
<b>1.1. OBJETIVO</b>	26
<b>1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	26
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	27
<b>2.1. SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS</b>	27
<b>2.1.1. Polietilenoglicol</b>	27
<b>2.1.2. Polipropilenoglicol</b>	29
<b>2.1.3. Copolímeros randômicos de EO e PO</b>	30
<b>2.1.4. Copolímeros bloco de EO e PO</b>	31
<b>2.1.5. Características do diagrama de fases de SABs</b>	33
<b>2.2. PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS</b>	34
<b>2.2.1. Efeito do polímero</b>	35
<b>2.2.2. Efeito do sal</b>	36
<b>2.2.3. Efeito da biomolécula</b>	37
<b>2.2.4. Efeito do pH</b>	38
<b>2.2.5. Efeito da temperatura</b>	39
<b>2.2.6. Biomoléculas estudadas neste trabalho</b>	39

2.2.6.1. Albumina de soro bovino	39
2.2.6.2. Lisozima	40
<b>2.3. PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS RELACIONADAS A SABs</b>	<b>40</b>
<b>3. EXPERIMENTAL</b>	<b>43</b>
<b>3.1. COMPOSTOS UTILIZADOS</b>	<b>43</b>
<b>3.2. EQUIPAMENTOS</b>	<b>43</b>
3.2.1. Densímetro	43
3.2.2. Refratômetro	43
3.2.3. Medidor de pH	43
3.2.4. Espectrofotômetro UV-visível	45
3.2.5. Balança de suspensão magnética	45
<b>3.3. METODOLOGIA</b>	<b>46</b>
<b>3.3.1. Propriedades termofísicas</b>	<b>47</b>
3.3.1.1. Densidade de sólidos	47
3.3.1.2. Propriedades de misturas binárias: polímero + água	48
3.3.1.3. Propriedades de misturas binárias: sal + água	49
<b>3.3.2. Pontos de névoa</b>	<b>50</b>
3.3.2.1. Sistemas binários polímero + água	50
3.3.2.2. Sistemas ternários polímero + sal + água	50
<b>3.3.3. Equilíbrio de fases</b>	<b>52</b>
3.3.3.1. Equilíbrio líquido-líquido	52
3.3.3.2. Partição de biomoléculas	53
<b>4. MODELAGEM</b>	<b>55</b>
<b>4.1. MODELO DE REDLICH-KISTER</b>	<b>55</b>
<b>4.2. MODELO DE REDLICH-MEYER</b>	<b>55</b>
<b>4.3. MODELO NRTL EM FRAÇÃO MÁSSICA</b>	<b>56</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>59</b>

<b>5.1. SISTEMAS MONOCOMPONENTE</b>	59
<b>5.2. SISTEMAS BINÁRIOS</b>	61
<b>5.2.1. Polímero + água</b>	62
5.2.1.1. <i>Parte 1: <math>\rho</math>, <math>n</math> e <math>pH</math> versus fração mássica</i>	62
5.2.1.2. <i>Parte 2: pontos de névoa</i>	71
5.2.1.3. <i>Parte 3: Expansividade térmica</i>	73
<b>5.2.2. Sal + água</b>	78
5.2.2.1. <i>Parte 1: <math>\rho</math>, <math>n</math> e <math>pH</math> versus fração mássica</i>	78
5.2.2.2. <i>Parte 3: Expansividade térmica</i>	84
<b>5.3. SISTEMAS TERNÁRIOS</b>	89
<b>5.3.1. Curvas Binodais</b>	89
<b>5.3.2. Linhas de amarração</b>	99
<b>5.3.3. Propriedades termofísicas nos SABs</b>	106
<b>5.3.4. Modelagem com NRTL em frações mássicas</b>	109
<b>5.4. SISTEMAS QUATERNÁRIOS – PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS</b>	111
<b>6. CONCLUSÕES</b>	122
<b>7. SUGESTÕES FUTURAS</b>	124
<b>REFERÊNCIAS</b>	125



## 1. INTRODUÇÃO

Polímeros solúveis em água têm muitas aplicações industriais, em especial a extração e purificação de biomoléculas, organelas celulares e vírus utilizando um sistema aquoso bifásico (SAB) (WALTER *et al.*, 1985; ALBERTSSON, 1986; ZASLAVSKY, 1995). SABs podem ocorrer quando dois polímeros, ou dois sais, ou um polímero e um sal, mutuamente imiscíveis, são dissolvidos em água acima de uma concentração crítica, formando uma solução líquida heterogênea com duas fases (SU e CHIANG, 2006; TUBÍO *et al.*, 2009; MONTEIRO FILHO, 2009). O alto teor de água em ambas as fases em equilíbrio (70–90 % em massa na maioria dos casos) possibilita a formação de um ambiente de baixa tensão interfacial com grande compatibilidade para biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos, vírus, entre outras. Assim, a técnica de extração líquida usando SAB permite a separação e purificação de biomoléculas sem prejudicar sua atividade e estrutura (PEREIRA *et al.*, 2003; SU e CHIANG, 2006; TUBÍO *et al.*, 2009). No início da década passada, Xu *et al.*, (2004) reportaram SABs com separação de fases induzida pela mudança de temperatura, ou termosseparação, uma vez que, segundo os autores, isto oferece uma solução efetiva para os problemas de remoção e reuso dos polímeros.

Em escala de laboratório as misturas formadoras de fases num SAB mais usadas são polietileno glicol (PEG) + dextrana, enquanto que em escala industrial são usados sistemas PEG + sal. Considerando sistemas formados por um polímero e um sal, até 2004 os sistemas PEG + sal eram os únicos utilizados industrialmente (SELBER *et al.*, 2004). Segundo Persson *et al.* (2000), SABs com PEG + dextrana se formam devido a uma incompatibilidade polímero-polímero, enquanto que os sistemas com PEG + sal ocorrem por efeito *salting out* do polímero com sulfatos ou fosfatos.

Neste trabalho foram obtidas propriedades termofísicas de compostos puros, soluções binárias e ternárias, dados de equilíbrio de fases ternários e estudou-se a partição de duas biomoléculas em SABs formados por polímero + sal a 20 °C. Os dados obtidos foram objeto de modelagem termodinâmica com os modelos Redlich-Kister, Redlich-Meyer e NRTL. Os polímeros utilizados foram PEG, polipropileno glicol (PPG), copolímeros bloco Pluronic® (L35 e L64) e copolímero randômico Ultraric® PE 62 (EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>). Os sais utilizados foram sais de sódio, entre eles, sais biodegradáveis, uma vez que estudos prévios demonstraram que a troca de sais poluentes por sais orgânicos e não tóxicos, como os citratos, é atrativa do ponto de vista ambiental (MURUGESAN e PERUMALSAMY, 2005; TUBÍO *et al.* 2009). As biomoléculas utilizadas foram: albumina de soro bovino (BSA) e lisozima da clara do ovo (LIS).

## 1.1. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi determinar propriedades termofísicas e dados de equilíbrio de fases em sistemas aquosos bifásicos ternários formados por polímero + sal dissódico + água a 20 °C e em seus subsistemas binários formados por {polímero ou sal} + água, bem como a partição de biomoléculas em SABs.

## 1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho foram determinar e avaliar:

- a) a densidade e/ou o índice de refração dos compostos puros utilizados neste trabalho (polímeros, sais e biomoléculas);
- b) o perfil da densidade, do índice de refração e do pH nas soluções binárias formadas por {polímero ou sal} + água a 20 °C;
- c) a expansividade térmica, a pressão e concentração constantes, para sistemas {polímero ou sal} + água;
- d) pontos de névoa para sistemas ternários formados por polímero + sal + água a 20 °C e obter o perfil de densidade e índice de refração ao longo da curva binodal;
- e) dados de equilíbrio líquido-líquido para sistemas ternários formados por polímero + sal + água a 20 °C e avaliar suas propriedades termofísicas, bem como realizar a modelagem termodinâmica dos mesmos;
- f) o coeficiente de partição de BSA e LIS em SABs formados por {PPG<sub>400</sub> ou L35} + sais dissódicos + água a 20 °C e avaliar o comportamento da distribuição das biomoléculas com a composição da alimentação e a densidade das fases em equilíbrio.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS**

Um SAB é uma mistura ternária heterogênea formada por duas fases líquidas imiscíveis em equilíbrio, sendo a água o componente predominante em cada fase. Estes sistemas ocorrem em misturas aquosas compostas por um polímero e um sal, por dois polímeros de estrutura diferente, ou por dois diferentes sais, todos solúveis em água (HO-GUTIERREZ *et al.*, 1994; ZASLAVSKY, 1995; PEI *et al.*, 2007).

SABs são utilizados no estudo da separação e purificação de bioprodutos, como proteínas e enzimas, das misturas complexas em que estes são produzidos, uma vez que, comparado com outras técnicas de separação, este método é mais vantajoso, pois apresenta menor tempo de processamento, menor consumo de energia, ambiente biocompatível e relativa facilidade de *scaling-up* (ALBERTSSON, 1986).

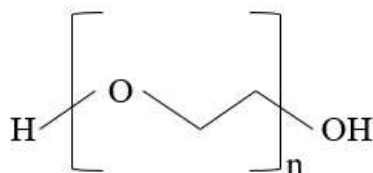
Dados de equilíbrio líquido-líquido em SABs são necessários para o projeto de um processo de purificação dessas biomoléculas baseado na extração líquida e para o desenvolvimento de modelos que possam prever o comportamento da partição em duas fases (SNYDER *et al.*, 1992).

Diversos trabalhos sobre SABs estão reportados na literatura, de maneira que foi possível, nesta pesquisa, a realização de uma prospecção científica, com um total de 154 artigos publicados até 2017, para quatro tipos de polímero, utilizando as bases de busca das principais editoras como *ACS Publications*, *ScienceDirect*, *RSC Publishing*, *Taylor & Francis Online*, *Wiley Online Library*, *Springer* etc., utilizando as palavras-chave para a busca em títulos e resumos de trabalhos: *aqueous biphasic system(s)*, *aqueous two-phase system(s)*, *thermophysical property(ies)*, *protein partition*, *enzyme partition*, *polymer*, *salt*, *density*, *refractive index*, *viscosity*, *binodal curve*, *cloud point data*, *liquid-liquid equilibrium*, dentre outras. Alguns destes trabalhos estão brevemente comentados nas seções a seguir, de acordo com o tipo de polímero utilizado e, no fim de cada seção, o resultado desta prospecção é apresentado.

#### **2.1.1. Polietilenoglicol**

O polietileno glicol é o tipo de polímero mais utilizado em SABs. O composto possui aplicações interessantes, como na formulação de medicamentos contra a constipação

intestinal, agente antimicrobiano, encapsulante de drogas, solventes para cristalografia e moduladores de pressão osmótica (GOMES *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2008). Sua estrutura consiste de monômeros de etileno glicol, conforme mostrado na Figura 2.1.



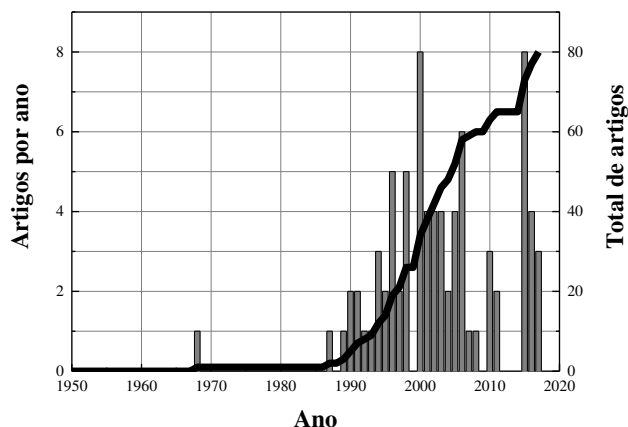
**Figura 2.1. Estrutura do PEG.**

De acordo com a massa molar o PEG pode estar no estado sólido ou líquido a temperatura ambiente, por exemplo, PEGs com massas molares de 400 e 600  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  são líquidos e PEG com massa molar igual 1000  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  é um sólido pastoso (CLARIANT, 2016).

Abordando trabalhos com polietilenoglicol de variada massa molar em SABS, Lei *et al.* (1990) obtiveram dados para o sistema PEG + fosfato de potássio + água a 4 °C; Stewart e Todd (1992) estudaram o sistema PEG + cloreto de sódio + água a 60 °C; Snyder *et al.* (1992) mediram dados dos sistemas PEG + {sulfato de magnésio, ou sulfato de sódio, ou carbonato de sódio, ou sulfato de amônio, ou fosfato de potássio} + água a 25 °C; Voros *et al.* (1993) estudaram os sistemas PEG + {sulfato de amônio ou carbonato de sódio} + água a 20, 30 e 40 °C; Ho-Gutierrez *et al.* (1994) obtiveram dados para os sistemas PEG + {sulfato de sódio ou cloreto de sódio} + água a 28 °C; Hammer *et al.* (1994) determinaram o sistema PEG + sulfato de sódio + água a 20 °C; Silva *et al.* (1997) analisaram o sistema PEG + fosfato de potássio + água a 4, 25 e 40 °C; Merchuk *et al.* (1998) determinaram o sistema PEG + fosfato de sódio + água a 20 °C; Sé e Aznar (2002a) mediram dados para o sistema PEG + fosfato de potássio + água a 10, 15, 20 e 30 °C; Zafarani-Moattar e Gasemi (2002) apresentaram dados para o sistema PEG + fosfato de amônio + água a 25, 35 e 45 °C; e Zafarani-Moattar e Hamidi (2003) estudaram o sistema PEG + citrato de potássio + água a 25, 30 e 35 °C.

Esses trabalhos, que pertencem a um total de 80, formaram o banco de dados para a etapa da prospecção científica realizada com PEGs. Nesta prospecção foram levantados trabalhos que utilizaram este polímero como um dos formadores de fase de SABS, ou simplesmente estudaram a separação de biomoléculas em SABS que este composto está presente. A prospecção com PEGs resultou no gráfico mostrado na Figura 2.2, o qual mostra o

número de artigos publicados por ano e o total de artigos presentes na literatura, de maneira acumulada, até aquele ano.

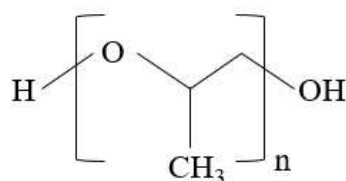


**Figura 2.2. Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam PEG.**

Verifica-se na Figura 2.2 que o fim dos anos 90 e o início dos 2000 caracterizam uma época em que a ciência dos SABs que utilizam PEG atingiu um pico de produção, atingindo uma taxa máxima de oito artigos por ano. Além disso, nota-se também que a produção científica neste assunto aumenta a partir da segunda metade dos anos 80, possivelmente alavancada pela publicação de Albertsson (1986).

### 2.1.2. Polipropilenoglicol

O polipropileno glicol (PPG) possui uma estrutura química muito próxima do PEG, conforme mostrado na Figura 2.3.



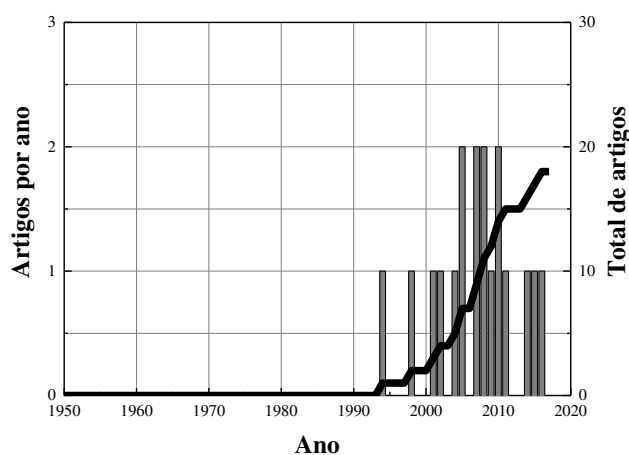
**Figura 2.3. Estrutura do PPG.**

PPGs são preparados por meio da polimerização em meio básico do óxido de propileno (SIMONS e VERBANC, 1960). Estes polímeros podem ser utilizados como surfactantes (TAN *et al.*, 2006), na produção de poliuretanos (CHATTOPADHYAY *et al.*,

2008) e como precursores de membranas utilizadas na recuperação de ácidos aromáticos (DASTGIR *et al.*, 2005).

Dados de ELL em SABs com PPG são relativamente escassos na literatura de acordo com Xie *et al.* (2010). Citando alguns exemplos, Cheluget *et al.* (1994) mediram a influência da temperatura no sistema PPG<sub>425</sub> + NaCl + água; Zafarani-Moattar e Salabat (1998) determinaram dados de PPG<sub>425</sub> + MgSO<sub>4</sub> + água a 25 °C; Monteiro Filho *et al.* (2002) determinaram dados de ELL para PPGs + carboidratos + água a 25 °C; Zafarani-Moattar *et al.* (2008) obtiveram curvas binodais e linhas de amarração para PPG<sub>400</sub> + citrato tripotássico + água em quatro temperaturas diferentes; e Xie *et al.* (2010) determinaram dados para PPG<sub>400</sub> + {K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ou K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ou K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>} + água a 25 °C.

A prospecção científica realizada considerando o uso de PPGs em SABs resultou num total de 18 artigos. Na Figura 2.4, um gráfico semelhante ao da Figura 2.2 é mostrado. Nele verifica-se a variação do número de publicações por ano e da soma destes ao longo dos anos.



**Figura 2.4. Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam PPG.**

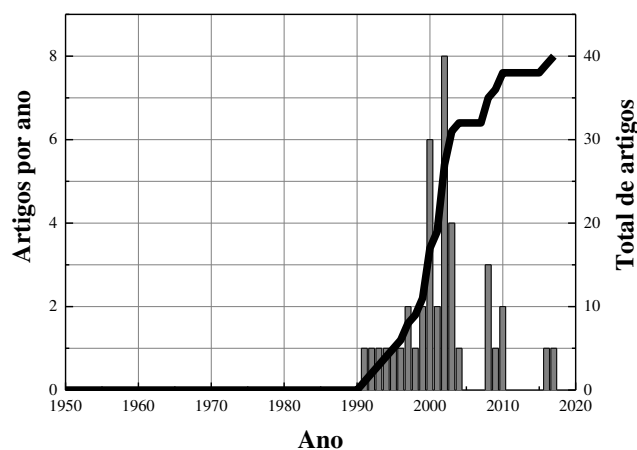
### 2.1.3. Copolímeros randômicos de EO e PO

Copolímeros formados por cadeias estruturadas randomicamente de óxido de etileno (EO, em inglês) e óxido de propileno (PO, em inglês), tem sua fórmula química geralmente simbolizada por EO<sub>M</sub>PO<sub>N</sub>, na qual M e N são as porcentagens de cada óxido na estrutura, ou simplesmente EOPO (LI *et al.*, 1998; NILSSON *et al.*, 2003; DEMBCZYŃSKI *et al.*, 2010).

O uso destes copolímeros em SABs, visando à partição e purificação de biomoléculas induzidas pela variação da temperatura, foi introduzido por Harris *et al.* (1991), uma vez que EOPOs são termosseparáveis em baixas temperaturas. Por exemplo, acima de uma temperatura de 50 °C (ponto de névoa) uma solução aquosa de EO<sub>50</sub>PO<sub>50</sub> separa-se em duas fases, em que geralmente a fase inferior é rica em copolímero e a superior rica em água (PERSSON *et al.*, 1999, 2000).

De acordo com Li *et al.* (1998) e Tubío *et al.* (2009), outra justificativa para uso destes copolímeros randômicos é que o método de separação por meio de SABs com polímeros simples, como o PEG e PPG, dificultam a recuperação da biomolécula, podendo haver a necessidade de re-extração, por ultrafiltração ou cromatografia por troca iônica. Além disso, a posição da curva binodal de um SAB composto de EOPO + sal indica que baixas quantidades de sal e polímero são necessárias para formar duas fases, quando comparado com sistemas PEG + sal. Desta maneira, a separação pode ser atrativa economicamente e reduzir o impacto ambiental.

Novamente, para os EOPOs, foi realizada uma prospecção científica. Os resultados estão mostrados na Figura 2.5, em que se verifica que por volta de 2005 os trabalhos de EOPOs em SABs tiveram o seu máximo de produção científica, com 8 artigos por ano.



**Figura 2.5.** Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam EOPOs.

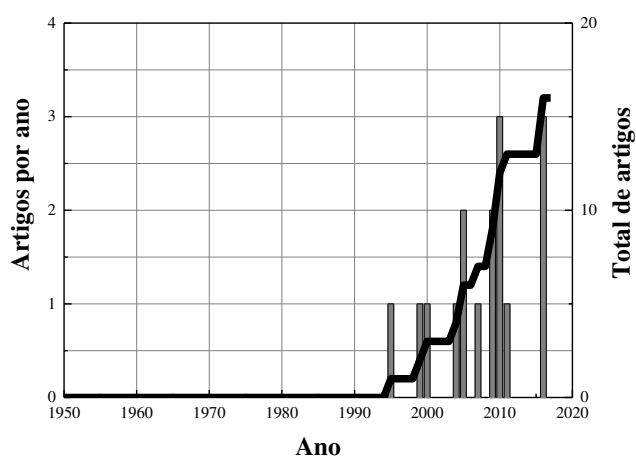
#### 2.1.4. Copolímeros bloco de EO e PO

Copolímeros de EO e PO em bloco possuem estrutura fixa ao invés da estrutura randômica dos EOPOs. Considerando os copolímeros triblocos, a simbologia comercial utilizada é PEO-PPO-PEO ou Pluronic® seguido de uma sigla como “L64” ou “F68”.

Uma das características que torna a aplicação dos copolímeros tribloco atrativa em SABs visando à separação de biomoléculas é que Pluronic com diferentes tamanhos de PEO e PPO tendem a se agregar em solução aquosa, formando micelas com um núcleo de PPO (SVENSSON *et al.*, 1995), facilitando a separação da molécula alvo.

SABs com copolímeros bloco são escassos na literatura. Alguns trabalhos podem ser citados, como o de Svensson *et al.* (1995), que estudaram o equilíbrio de fases de três copolímeros + dextrana + água a 5, 40 e 55 °C; Monteiro Filho *et al.* (2014) obtiveram dados de equilíbrio de fases para {diferentes PEO-PPO-PEO, EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> ou EO<sub>40</sub>PO<sub>60</sub>} + maltodextrinas + água a 25 e 35 °C; Martins *et al.* (2009) determinaram curvas binodais para os sistemas L35 + {citrato ou tartarato ou nitrato de sódio} + água a 10, 25 e 40 °C; Martins *et al.* (2010a) obtiveram dados de ELL para F68 + {sulfato de sódio ou zinco ou amônia ou lítio} + água a 5, 15 e 25 °C; Lemos *et al.* (2010) determinaram linhas de amarração em três temperaturas para L35 + {carbonato de sódio, succinato de sódio, acetato de sódio, citrato de amônio, ou sulfato de amônio} + água.

Dos trabalhos levantados na literatura para copolímeros de EO e PO, novamente foi realizada a prospecção científica mostrada para os outros três polímeros citados anteriormente. Até 2017, somente 16 artigos foram encontrados. A Figura 2.6 mostra o resultado da prospecção.

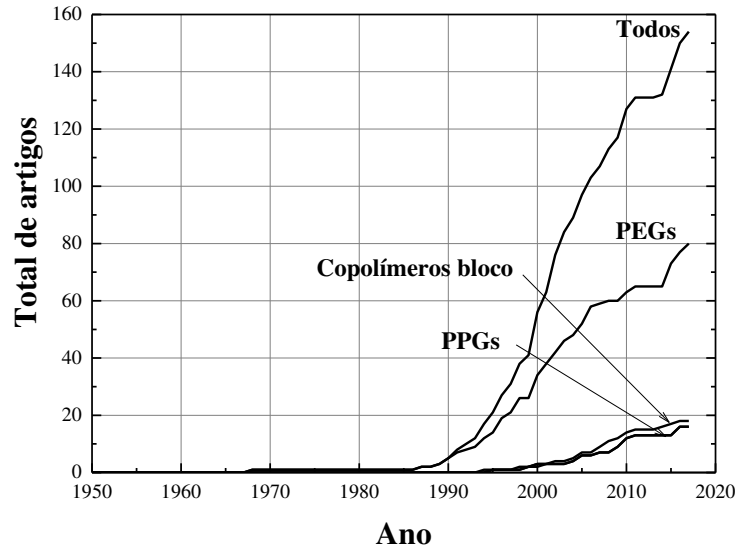


**Figura 2.6. Artigos por ano e total de artigos presentes na literatura ao longo dos anos para SABs que utilizam copolímeros bloco.**

Verifica-se que na metade dos anos 90 inicia-se a produção científica sobre SABs com copolímeros bloco e que no fim da década passada esta produção atinge um pico e uma máxima inclinação, diferente da prospecção com PEG, por exemplo, que teve seu máximo no fim dos anos 90.



Comparando todas estas prospecções realizadas, obtêm-se os gráficos da Figura 2.7. Nesta pode-se verificar que a literatura demanda um levantamento de mais dados para SABs que utilizem PPGs e/ou copolímeros bloco.



**Figura 2.7.** Total de artigos publicados ao longo dos anos para SABs que utilizam PEGs, PPGs, EOPOs, copolímeros bloco.

### 2.1.5. Características do diagrama de fases de SABs

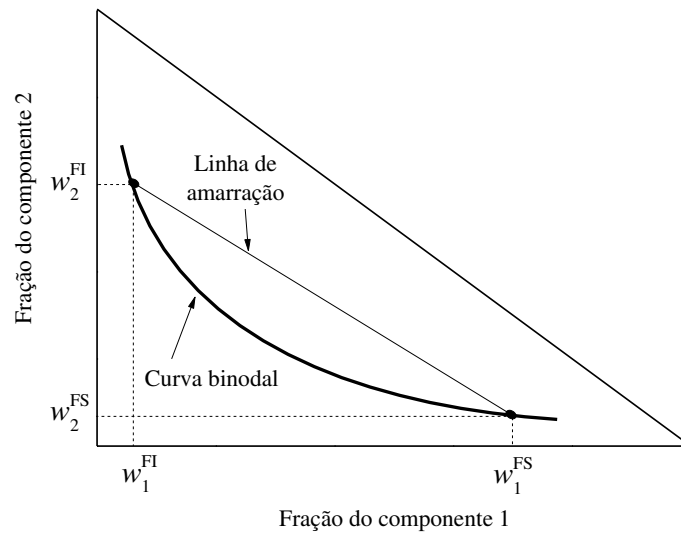
Em SABs, a representação da composição das fases em equilíbrio e dos pontos de névoa é feita com diagrama em formato de triângulo retângulo, ao invés do convencional, de triângulo equilátero, utilizado em ELL de sistemas ternários. Por esta representação a fração do terceiro componente de um sistema ternário é obtida por diferença.

Considerando o exemplo mostrado na Figura 2.8, duas características, amplamente reportadas na literatura, baseadas na trigonometria, podem ser calculadas para uma linha de amarração de um SAB.

A primeira é o comprimento da linha de amarração (*CLA*), dado pela Equação 2.1, que calcula o tamanho da aresta hipotenusa (ZASLAVSKY, 1995):

$$CLA = \sqrt{(w_1^{FS} - w_1^{FI})^2 + (w_2^{FI} - w_2^{FS})^2} \quad (2.1)$$

em que:  $w_1^{FS}$ ,  $w_1^{FI}$ ,  $w_2^{FI}$  e  $w_2^{FS}$  são as frações mássicas dos componentes 1 e 2 nas fases superior (sobrescrito *FS*) e inferior (sobrescrito *FI*), respectivamente.



**Figura 2.8. Esquema de diagrama de fases em SABs.**

Em extração líquida, o CLA está relacionado com a seletividade de um solvente a um dado soluto, ou, se aplicado em SABs de polímero + sal, indica a quantidade de água relativa à quantidade de sal presente na fase rica em polímero e vice-versa para a fase rica em sal.

A segunda é a inclinação da linha de amarração (*ILA*), dada pela Equação 2.2 (ZASLAVSKY, 1995):

$$ILA = \frac{w_2^{FI} - w_2^{FS}}{w_1^{FS} - w_1^{FI}} \quad (2.2)$$

A *ILA* num SAB está relacionada com o coeficiente de distribuição de água nas fases em equilíbrio e, conseqüentemente, indica qual fase apresenta maior comportamento hidrofílico.

## 2.2. PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

A partição de biomoléculas em sistemas aquosos bifásicos é um método extremamente favorável para a recuperação e purificação de proteínas ou enzimas, já que, como as duas fases apresentam um alto teor de água, as condições são bastante amenas e não degradam nem prejudicam a biomolécula de interesse (ALBERTSSON, 1986). Essa partição é quantificada calculando-se o coeficiente de partição baseado na concentração ( $K_p$ ) e/ou na atividade ( $K_e$ ) no caso de enzimas (PEREIRA *et al.*, 2003). As expressões de  $K_p$  e  $K_e$  estão mostradas na Equação 2.3:

$$K_p = \frac{w_{biomolécula}^{Fase 1}}{w_{biomolécula}^{Fase 2}} \quad (2.3a)$$

$$K_e = \frac{a_{biomolécula}^{Fase 1}}{a_{biomolécula}^{Fase 2}} \quad (2.3b)$$

em que:  $w_{biomolécula}^{Fase 1}$ ,  $w_{biomolécula}^{Fase 2}$ ,  $a_{biomolécula}^{Fase 1}$ ,  $a_{biomolécula}^{Fase 2}$  são as frações mássicas e atividades ( $U \cdot mg^{-1}$ ) da biomolécula nas fases 1 e 2, respectivamente.

Geralmente, num SAB formado por polímero e sal, a fase 1 (superior) representa a fase rica em polímero e a fase 2 (inferior), a rica em sal (MARINI *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2003).

Conforme mostrado nas seções anteriores, é grande a quantidade de trabalhos sobre SABs e muitos deles foram aplicados na partição de proteínas, enzimas e outras biomoléculas. Alguns exemplos do que está reportado na literatura são mostrados na Tabela 2.1.

A partição de uma proteína depende de propriedades do sistema como, por exemplo, o tipo de polímero ou sal, a carga líquida, tamanho e hidrofobicidade da biomolécula, pH e temperatura (ALBERTSSON, 1986; NANDINI e RASTOGI, 2011). Nas subseções seguintes estes efeitos estão citados e revisados. E na última subseção são apresentadas algumas características das biomoléculas que foram estudadas neste trabalho.

### 2.2.1. Efeito do polímero

Algumas propriedades como massa molar e composição (no caso dos copolímeros) podem causar efeito na partição de biomoléculas em SABs.

De acordo com Oliveira *et al.* (2007), o tamanho da cadeia do polímero afeta a partição de duas maneiras: mudando a composição das fases ou alterando o efeito do volume excluído. Por exemplo, fases formadas por polímeros de cadeia muito longa tendem a ser menos hidrofílicas, podendo solubilizar menos biomoléculas que apresentam afinidade com a água. Segundo Nandini e Rastogi (2011), um aumento na massa molar do PEG leva a uma redução no volume livre e como resultado as biomoléculas particionaram seletivamente para a fase rica em sal. Por outro lado, Forciniti e Hall (1991) mostram que o efeito da massa molar do polímero é importante somente para baixos valores desta.

**Tabela 2.1. Lista de trabalhos com partição de biomoléculas usando SABs**

<b>Autores</b>	<b>Biomoléculas</b>
<i>Sistemas polímero + sal + água</i>	
Peng <i>et al.</i> (1995)	Lisozima, papaína, deidrogenase láctica, albumina de soro bovino, DNA bovino e DNA de peixe
Huddleston <i>et al.</i> (1996)	Albumina de soro bovino, albumina de ovo, lisozima, $\alpha$ -amilase, mioglobina e metahemoglobina bovina
Andrews e Asenjo (1996)	Amiloglucosidase e subtilisina
Costa <i>et al.</i> (2000)	Complexo enzimático xilanolítico
Silva e Meirelles (2001)	Lisozima, catalase e $\beta$ -galactosidase com adição de uréia
Lima <i>et al.</i> (2002)	Quatro diferentes enzimas pectinolíticas
Blázquez <i>et al.</i> (1998)	$\alpha$ -amilase
Alves <i>et al.</i> (2000)	Proteínas de soro de queijo, albumina de soro bovino e insulina suína
Bernardo <i>et al.</i> (2000)	Aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina
Virtuoso <i>et al.</i> (2010)	Albumina de soro bovino
<i>Sistemas polímero 1 + polímero 2 + água</i>	
Fele e Fermeglia (1996)	Lisozima e albumina de soro bovino
Johansson e Reczey (1998)	$\beta$ -glucosidase
Isgrove <i>et al.</i> (1998)	Peptídeos do leite
Almeida <i>et al.</i> (1998)	Cutinase
Silva e Meirelles (2000)	Albumina de soro bovino, $\alpha$ -lactoalbumina e $\beta$ -lactoglobulina
Alves <i>et al.</i> (2000)	Albumina de soro bovino e insulina suína
Berggren <i>et al.</i> (1995)	Albumina de soro bovino, lisozima, $\alpha$ -lactoglobulina A e mioglobina
Berggren <i>et al.</i> (2000)	Peptídeos
Persson <i>et al.</i> (1999)	Albumina de soro bovino, lisozima e apolipoproteína A-1
Nilsson <i>et al.</i> (2002a,b)	Proteína de fusão cutinase-peptídeo
Pereira <i>et al.</i> (2003)	Endo-poligalacturonase

Com relação à composição dos copolímeros, Haraguchi *et al.* (2004) apontam que a mudança do teor de PEO de 40% (para o L64) para 80% (para o F68) pode aumentar em 10 vezes o coeficiente de partição.

Além disso, considerando o uso de copolímeros em termos de separação, um alto teor de PO reduz o ponto de névoa, e uma maior massa molar leva a uma recuperação do copolímero mais eficiente (PERSSON *et al.*, 2000).

### 2.2.2. Efeito do sal

Os sais formadores de SABs afetam a partição de proteínas por causa da distribuição diferencial de seus íons entre as duas fases. Ânions ou cátions mais hidrofóbicos

levam seus contra-íons para a fase mais hidrofóbica e vice-versa. Além disso, íons com diferentes posições na série de Hofmeister proporcionam diferentes direcionamentos na partição das biomoléculas (PERSSON *et al.*, 2000; SU e CHIANG, 2006; ZHANG e CREMER, 2006).

Como exemplo, Su e Chiang (2006) compararam os íons citrato e sulfato na partição de lisozima. Citrato foi usado por não causar impacto no meio ambiente e o sulfato por sua capacidade de promover interações hidrofóbicas entre proteínas. Os autores verificaram que o emprego do íon sulfato resultou em maiores  $K_e$  que o citrato, indicando que a partição de lisozima sofre influência da hidrofobicidade das fases, uma vez que o íon sulfato é menos hidrofóbico que o citrato.

### 2.2.3. Efeito da biomolécula

Propriedades da biomolécula como tamanho ou massa molar, forma, sítios específicos de ligação e, principalmente, hidrofobicidade de superfície (carga superficial) afetam a extensão da partição de acordo com os trabalhos de Nandini e Rastogi (2011) e Su e Chiang (2006). Abaixo são listados alguns exemplos de trabalhos nos quais estes efeitos foram estudados.

Sousa *et al.* (2009) compararam a partição de lisozima e conalbumina em sistemas de PEG + sais e mostraram que a conalbumina, por ter um tamanho maior que a lisozima, particionou para a fase rica em sal, enquanto que a lisozima solubilizou mais na fase rica em polímero. Os autores explicaram esse resultado por meio da entropia configuracional, em que a molécula que assume mais configurações distintas e, portanto, maior entropia, numa fase, tende a particionar para esta.

De acordo com Han e Lee (1997), a carga de superfície de materiais biológicos é um dos mais significantes fatores que afetam a partição destes. Os autores verificaram que o fato da albumina de soro bovino ser carregada negativamente em pH 7, faz a mesma solubilizar preferencialmente na fase carregada positivamente. A lisozima, por outro lado, é carregada positivamente e solubiliza na fase com predominância de íons negativos.

Shanbhag e Axelsson (1975) estudaram a influência da hidrofobicidade na partição de proteínas e peptídeos em sistemas com PEG + sulfato de magnésio. Os resultados indicam que proteínas como albumina de soro humano e  $\beta$ -lactoglobulina possuem maior hidrofobicidade que citocromo-c, por exemplo, particionando para a fase rica em polímero (o qual é mais hidrofóbico que o sal utilizado). Para o mesmo sistema, Eiteman e Gainer (1990)

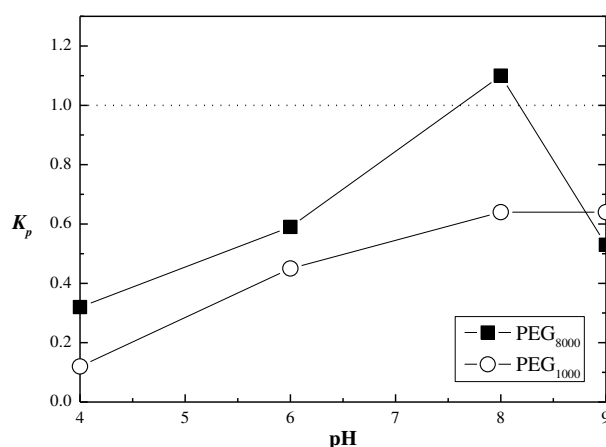
mostraram que existe uma relação entre as interações hidrofóbicas e o coeficiente de partição de aminoácidos em SABs.

#### 2.2.4. Efeito do pH

O pH e a força iônica, num SAB, são utilizados como fatores para otimizar a separação de moléculas alvo. O pH pode ser ajustado convenientemente com o uso de íons que causam efeito tampão; geralmente é utilizado um valor de pH constante no estudo da separação de biomateriais (PERSSON *et al.*, 2000; SILVA e MEIRELLES, 2001).

Dependendo do tipo de formadores de fase empregados, o efeito do pH sobre a região bifásica de um SAB vai ser maior ou menor. Segundo Tubío *et al.* (2009), que reportaram dados de copolímero + sal + água, a região de ELL tende a aumentar com o aumento do pH. Porém, segundo Fele e Fermeglia (1996), que investigaram o sistema PEG<sub>20000</sub> + dextrana + água, o pH apresenta um pequeno efeito na composição das fases, mas afeta na partição das proteínas.

Su e Chiang (2006) reportaram dados que indicam esta influência do pH na partição de lisozima em sistema PEG + sal + água; segundo os autores há um aumento da afinidade da proteína pela fase rica em PEG com o aumento do pH, pois, conforme apontado por Forciniti e Hall (1991), as interações hidrofóbicas são mais fortes num pH próximo do ponto isoelétrico (pI) da biomolécula. Haghtalab *et al.* (2003) mostraram a influência do pH na partição de lisozima, indicando que, para o sistema PEG<sub>4000</sub> + K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + água a 25 °C, um aumento no pH causa um aumento no coeficiente de distribuição. Almeida *et al.* (1998) mostraram os dados ilustrados na Figura 2.9, em que se verifica o perfil da influência do pH na partição de BSA.



**Figura 2.9. Efeito do pH no coeficiente de partição de BSA – SABs com PEG<sub>8000</sub> + HPS ou PEG<sub>1000</sub> + HPS. (Fonte: ALMEIDA *et al.*, 1998.)**

De maneira contrária ao citado acima, segundo Nandini e Rastogi (2011), em um SAB formado por PEG<sub>6000</sub> e Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, um decréscimo no pH de 9 para 6 aumenta o coeficiente de partição da lipase de 0,25 para 0,92, enquanto reduz sua atividade de 31,45 para 14,62 U·mg<sup>-1</sup>, respectivamente, indicando que, além do efeito sobre a partição de biomoléculas, o pH pode afetar também a atividade de uma enzima após a sua separação.

### **2.2.5. Efeito da temperatura**

Segundo Oliveira *et al.* (2007), a temperatura pode mudar a distribuição de biomoléculas mudando o equilíbrio entre as fases ou afetando as interações entre as espécies. O trabalho de Zafarani-Moattar *et al.* (2004a) exemplifica o efeito da temperatura na região bifásica formada por um sistema PEG + citrato, em que o aumento da temperatura causa um aumento na região bifásica. Em sistemas EOPO + sal e PEG + sal, um aumento da temperatura causa um aumento da região bifásica (TUBÍO *et al.*, 2006 e 2009). Por outro lado, em sistemas PEG + dextrana, o efeito da temperatura no ELL é desprezível, especialmente a baixas temperaturas e para elevadas massas moleculares (FORCINITI e HALL, 1991). Para copolímeros bloco, um aumento na temperatura está associado com um decréscimo na solubilidade do copolímero, o que implica no uso de menores quantidades de sal para que o sistema separe em duas fases com a mesma composição de polímero (HARAGUCHI *et al.*, 2004).

Assim, um aumento na temperatura causa um efeito na solubilidade dos formadores de fase, interferindo na composição das fases e, conseqüentemente, na partição de biomoléculas.

### **2.2.6. Biomoléculas estudadas neste trabalho**

Nas subseções seguintes estão mostradas algumas características e aplicações das biomoléculas utilizadas neste trabalho.

#### *2.2.6.1. Albumina de soro bovino*

Albumina de soro bovino (BSA, na sigla em inglês) foi escolhida nesta pesquisa por ser uma proteína padrão para testes laboratoriais. Ela é fabricada por meio da separação do

plasma sanguíneo, utilizando-se técnicas de eletroforese e troca iônica (GIANCOLA *et al.*, 1997).

Algumas propriedades da BSA são: ponto isoelétrico igual a 4,9 (HAN e LEE, 1997); volume específico aparente igual  $0,733 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  (25 °C) (GEKKO *et al.*, 2009); e incremento no índice de refração (436 nm, 18 °C) igual a  $0,1935 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  (SANO, 1988).

A BSA possui caráter hidrofílico, tende a se aglomerar em conjuntos macromoleculares e pode sofrer modificação da sua estrutura em SABs, nos quais pode também desnaturar se submetidas a temperaturas acima de 45 °C (BARONE *et al.*, 1992; OLIVEIRA *et al.*, 2007; SHANMUGAM e POLAVARAPU, 2004; FARAVASH *et al.*, 2007).

#### 2.2.6.2. Lisozima

A lisozima tem muitas de suas propriedades biofísicas bem conhecidas (BLAKE *et al.*, 2008) e foi escolhida para esta pesquisa por ser também comumente empregada em SABs.

Em larga escala esta enzima é produzida da clara do ovo e purificada pelo emprego de processos de cristalização, adsorção e cromatografia por troca iônica (DEMBCZYŃSKI e BIAŁAS, 2013). Uma das aplicações da lisozima é como agente anti-microbiano (DEMBCZYŃSKI *et al.*, 2010), sendo utilizada na preservação de alimentos, sob diferentes condições físico-químicas, por meio da sua incorporação em materiais biopoliméricos (BAYARRI *et al.*, 2014).

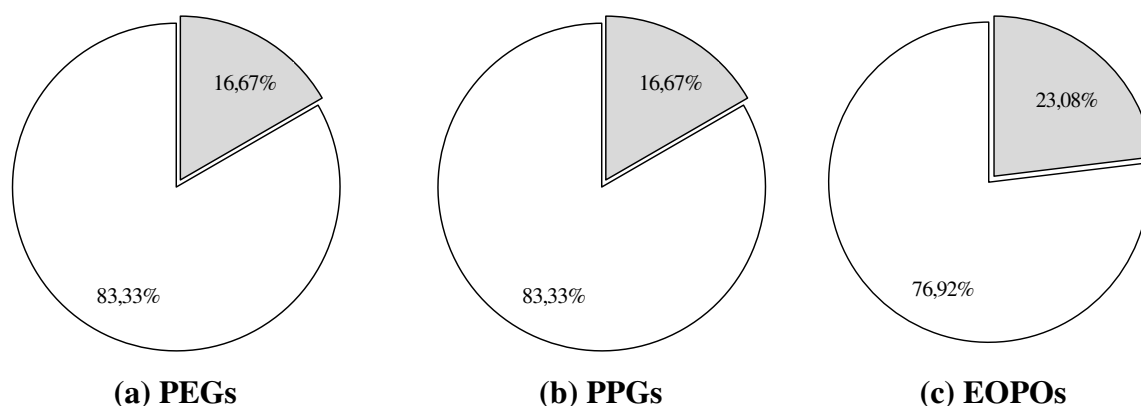
Lisozima tem *pI* entre 10,5 e 11 (HAN e LEE, 1997), volume molar aparente em água aproximadamente igual a  $107 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$  (25 °C) (ZIELENKIEWICZ e ZIELENKIEWICZ, 2005), incremento na densidade igual a 0,3032 (20 °C, pH 4,5 e 0,15 M NaCl) e no índice de refração igual a  $0,20 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  (20 °C, pH 4,5) (FREDERICKS *et al.*, 1994).

Alguns estudos com SABs indicam que esta proteína apresenta caráter hidrofílico, porém menor que o apresentado pela BSA (OLIVEIRA *et al.*, 2007; SVENSSON *et al.*, 1999).

### 2.3. PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS RELACIONADAS A SABs

De acordo com um levantamento realizado neste trabalho por meio da prospecção científica feita para os quatro polímeros estudados, conforme mostrado na Figura 2.10, verificou-se que a medida de propriedades termofísicas das fases em equilíbrio em SABs, com ou sem partição de enzimas, está presente numa minoria de artigos. Isto abriu caminho para um estudo termodinâmico de propriedades termofísicas importantes para a ciência dos SABs.





**Figura 2.10. Porcentagem de trabalhos sobre SABs presentes na literatura sem medição de propriedades (área branca) e com a medição (área cinza).**

Segundo Snyder *et al.* (1992), a determinação das propriedades termofísicas é necessária para o projeto de processos de extração baseados em SABs. Kroner *et al.* (1982) mostram a relação das propriedades físicas de um SAB formado por PEG e dextrana com variáveis de um processo de purificação de enzimas. Além disso, Sadeghi e Jamehbozorg (2009) apontam que as propriedades termodinâmicas de SABs formados por polímero + sal são necessárias para um entendimento fundamental da separação de fases e também para o desenvolvimento de modelos teóricos que visam à predição da distribuição de biomoléculas nas fases aquosas rica em sal e rica em polímero.

As propriedades comumente reportadas para as fases em equilíbrio num SAB e para as misturas que compõem o sistema ternário (polímero ou sal + água), são: densidade; viscosidade; índice de refração; velocidades do som e ultrassônica; atividade de água; condutividade térmica e calor de mistura (MALCOLM e ROWLINSON, 1957; CUNNINGHAME e MALCOLM, 1961; IDOUX *et al.*, 1994; ZAFARANI-MOATTAR *et al.*, 1995, 2004b; ZAFARANI-MOATTAR e SALABAT, 1998; RAHBARI-SISAKHT *et al.*, 2003; SALABAT *et al.*, 2004; SUN e TEJA, 2004; TAGHIZADEH *et al.*, 2005; SALABAT e SADEGHI, 2007; SADEGHI e ZIAMAJIDI, 2007; SADEGHI e JAMEHBOZORG, 2009). Das propriedades de densidade e viscosidade resultam propriedades de volume e de compressibilidade (SADEGHI e JAMEHBOZORG, 2009). Além dessas, uma propriedade importante para o binário polímero + água também foi reportada, que é a temperatura em que ocorre o ponto de névoa e o sistema separa em duas fases (BAE *et al.*, 1991; ELIASSI e PARACH, 2010; GALERA-GÓMEZ e GU, 1996; JOHANSSON *et al.*, 1993)

Comentando alguns trabalhos, Zafarani-Moattar *et al.* (1995) determinaram propriedades volumétricas para os sistemas binários de PEGs + água e ternários de PEGs + sais

+ água; Sadeghi e Jamehbozorg (2009) realizaram um estudo das propriedades volumétricas e de viscosidade para sistemas com PPG<sub>400</sub> e sais de fosfato. Com relação aos pontos de névoas e à temperatura consoluta inferior de solução (TCIS), Bae *et al.* (1991) encontraram 155,5 °C para o sistema PEG<sub>3350</sub> + água; Johansson *et al.* (1993) verificaram que a solução aquosa de um EO<sub>50</sub>PO<sub>50</sub> tem uma TCIS igual a 50 °C.

### **3. EXPERIMENTAL**

#### **3.1. COMPOSTOS UTILIZADOS**

Um total de 13 compostos foi utilizado neste trabalho, sendo eles sete polímeros, três sais, duas biomoléculas e água. Na Tabela 3.1 estes compostos estão listados juntamente com algumas propriedades e características. Em todos os experimentos os compostos foram utilizados conforme recebidos do fabricante. Pode-se verificar que o pH da água é de 6,5, uma vez que água destilada foi utilizada neste trabalho.

#### **3.2. EQUIPAMENTOS**

Os principais equipamentos utilizados neste trabalho estão descritos brevemente abaixo.

##### **3.2.1. Densímetro**

A medição da densidade das amostras líquidas foi realizada por meio de um densímetro Anton-Paar, modelo DMA 5000, equipado com um tubo em U vibrante. A precisão do equipamento é de  $5 \times 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$  e a repetibilidade igual a  $1 \times 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ .

##### **3.2.2. Refratômetro**

As análises de índice de refração foram realizadas utilizando-se um refratômetro Mettler-Toledo, modelo RE 40 D. A precisão do equipamento é  $1 \times 10^{-4}$ . A faixa de medição abrange de 1,32 a 1,70 e a faixa de temperatura é de 15 a 70 °C.

##### **3.2.3. Medidor de pH**

Na Figura 3.1 está mostrado o pHmetro utilizado neste trabalho. É um aparato da marca Quimis, modelo Q-400a, com eletrodo de Ag combinado. A precisão do mesmo é de  $\pm 0,01$ .

**Tabela 3.1. Compostos utilizados, sigla empregada, densidade e índice de refração a 20 °C, pureza e fornecedor.**

Composto	Sigla	$\rho_{20\text{ °C}}$ (g·cm <sup>-3</sup> )		$n$		pH	Pureza (%)	Fabricante
		Exp.	Lit.	Exp.	Lit.			
Água		0,998203	0,99826 <sup>a</sup>	1,3330	1,3330 <sup>a</sup>	6,50		
Ultrac® <sup>b</sup> PE 62	EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub>	1,037140		1,4568		6,07		Oxiteno
Polietileno glicol Mn = 1000	PEG <sub>1000</sub>							Fluka
Polietileno glicol Mn = 600	PEG <sub>600</sub>	1,128533	1,1271 <sup>c</sup>	1,4680	1,468 <sup>d</sup>	6,77		Oxiteno
Polietileno glicol Mn = 400	PEG <sub>400</sub>	1,127720	1,126084 <sup>e</sup>	1,4661	1,46683 <sup>e</sup>	6,74		Oxiteno
Polipropileno glicol Mn = 400	PPG <sub>400</sub>	1,009019	1,007771 <sup>f</sup>	1,4479	1,4470 <sup>g</sup>	5,60		Sigma-Aldrich
Pluronic® <sup>h</sup> L-35	L35	1,062192		1,4602	1,4610 <sup>g</sup>	8,03		Sigma-Aldrich
Pluronic® L-64	L64	1,053320		1,4582	1,4600 <sup>g</sup>	4,78		Sigma-Aldrich
Sulfato de sódio	NaSulf	2,32628	2,664 <sup>i</sup>				≥ 99,0	Merck
Tartarato dissódico dihidratado	NaTart	1,98957					≥ 99,0	Sigma-Aldrich
Citrato de sódio dibásico sesquihidrato	NaCit	1,47237					99,0	Sigma-Aldrich
Albumina de soro bovino	BSA	1,31398	1,376 <sup>j</sup>				≥ 96,0	Sigma-Aldrich
Lisozima da clara do ovo	LIS	1,47418					99,0	Fluka

<sup>a</sup> García-Abuín *et al.* (2011); <sup>b</sup> Polietilenoglicol-*ran*-polipropilenoglicol; <sup>c</sup> Trivedi *et al.* (2010); <sup>d</sup> Alfa Aesar (2016); <sup>e</sup> Živković *et al.* (2013); <sup>f</sup> Sadeghi e Jamehbozorg (2009); <sup>g</sup> Dado pelo fabricante, <sup>h</sup> Polietilenoglicol-*block*-polipropilenoglicol-*block*-polietilenoglicol; <sup>i</sup> determinada a 25 °C (KRACEK e GIBSON, 1929), <sup>j</sup> Sano (1988).



**Figura 3.1. Medidor de pH Quimis, modelo Q-400a, com eletrodo de Ag combinado.**

### **3.2.4. Espectrofotômetro UV-visível**

Este equipamento foi utilizado na determinação da concentração de biomoléculas. O espectrofotômetro UV-visível, Shimadzu, modelo UV-mini 1240 foi utilizado neste trabalho e está mostrado na Figura 3.2. A precisão deste aparato é de  $\pm 0,0001$  e a faixa de medição é de 190 nm a 1100 nm.



**Figura 3.2. Espectrofotômetro UV-visível, modelo UV-mini 1240.**

### **3.2.5. Balança de suspensão magnética**

A balança de suspensão magnética (BSM) foi utilizada na determinação da densidade de sólidos. A BSM empregada nesta pesquisa é da marca Rubotherm e está mostrada na Figura 3.3. A precisão desta balança é de  $\pm 0,00001$  g.



**Figura 3.3. Balança de suspensão magnética Rubotherm.**

### **3.2.6. Seringa e agulha**

As seringas e as agulhas utilizadas neste trabalho foram escolhidas de maneira que amostras viscosas, como as com alta concentração de polímero, fluíssem facilmente e as bolhas formadas durante a coleta de amostra fossem eliminadas. Seringas da HSW, modelo Norm-Ject com bico *slip*, e agulhas 48×12, de 1 ½” são as que foram empregadas neste trabalho.

Além dos equipamentos citados anteriormente, foram utilizados também balança analítica, banho termostaticado, agitador magnético e célula de equilíbrio, conforme descritos por Oliveira (2009).

### **3.3. METODOLOGIA**

A metodologia experimental é dividida em três seções: i) determinação de propriedades termofísicas; ii) determinação de pontos de névoa; e iii) determinação de dados de equilíbrio de fases.

### 3.3.1. Propriedades termofísicas

#### 3.3.1.1. Densidade de sólidos

A densidade dos sólidos empregados nesta pesquisa foi determinada por meio de experimentos de adsorção por gravimetria, realizado numa balança de suspensão magnética, de maneira similar ao proposto por Dreisbach (2002) na determinação da densidade de carvão ativado.

Uma quantidade conhecida de sal foi colocada no suporte para amostra da BSM. O sistema sólido + suporte foi acoplado à câmara de adsorção. Uma jaqueta para circulação de água oriunda de um banho termostático Julabo F25 ME (precisão de  $\pm 0,01$  °C) foi também acoplada à câmara de adsorção.

Após esta etapa de preparo segue-se uma etapa de ativação, em que a amostra sólida é submetida à temperatura e pressão de interesse, a fim de se remover voláteis e umidade presentes na amostra sólida que possam interferir na etapa de adsorção. Neste trabalho as amostras foram ativadas a 20 °C e pressão de vácuo  $< 0,1$  bar, resultante da atuação de uma bomba de vácuo de palhetas rotativas da marca Edwards, modelo RV12, durante um tempo de 10 h.

Na sequência da etapa de ativação ocorre a de adsorção. O gás utilizado foi hélio. A temperatura foi igual a 20 °C e a faixa de pressão foi de 0,1 a 10 bar. O tempo para o sistema atingir o equilíbrio, ao passar de um ponto de pressão para outro, foi de no mínimo 27 min, em toda a faixa de pressão utilizada.

A densidade do sólido é obtida com a expressão de trabalho da BSM, dada pela Equação 3.1:

$$m_{exp} = m_a + m_s + m_{sc} - \rho_g(V_a + V_s + V_{sc}) \quad (3.1)$$

em que:  $m_{exp}$  é a massa indicada no *display* da BSM (g);  $m_a$  é a massa de gás adsorvida na amostra de material sólido (g);  $m_s$  é a massa de material sólido determinada após a etapa de ativação (g);  $m_{sc}$  é a massa do suporte para amostra sólida (g);  $\rho_g$  é a densidade do gás ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ), determinada por meio da equação de estado de Peng e Robinson (1976);  $V_a$  é o volume da fase adsorvida no material sólido ( $\text{cm}^3$ );  $V_s$  é o volume do sólido adsorvente ( $\text{cm}^3$ ), com o qual é

determinada sua densidade,  $\rho_s$ , uma vez que  $\rho_s = m_s \cdot V_s^{-1}$ ;  $V_{sc}$  é o volume do suporte para amostra de sólido (cm<sup>3</sup>).

### 3.3.1.2. Propriedades de misturas binárias: polímero + água

Densidade, índice de refração e pH foram medidos para diversas frações mássicas de polímero em água com o objetivo de se obter o perfil dessas propriedades em função da composição da mistura.

As misturas foram obtidas inserindo-se quantidades previamente estabelecidas de cada composto em béqueres e misturadas com agitação magnética até a solução formada se tornar homogênea. Desta solução, amostras foram coletadas e analisadas em triplicata, por densimetria e refratometria, na temperatura de interesse, a qual foi controlada internamente pelo equipamento de análise. Por outro lado, o pH foi medido a temperatura ambiente.

A medição destas propriedades tornou possível comparar a influência do tipo de polímero no valor da propriedade da solução aquosa. Além disso, das medições de densidade foram obtidos os valores do desvio da densidade ( $\Delta\rho$ ) e, das medições de índice de refração, os relativos ao desvio do índice de refração ( $\Delta n$ ), dados pela Equação 3.2:

$$\Delta\theta = \theta - \sum_{i=1}^{n_{comp}} w_i \theta_i \quad (3.2)$$

em que:  $\Delta\theta$  é o desvio da propriedade  $\theta$  – densidade (g·cm<sup>-3</sup>) ou índice de refração – da mistura real em relação à mistura ideal;  $\theta_i$  é a propriedade do componente  $i$  puro;  $w_i$  é a fração mássica do componente  $i$  na mistura; e  $n_{comp}$  indica o número de componentes no sistema.

A variação da densidade com a temperatura foi realizada para sistemas polímero + água de composição fixa. Estes dados foram utilizados para obtenção da expansividade térmica, dada pela Equação 3.3:

$$\alpha_T = -\frac{1}{\rho} \left( \frac{\Delta\rho(T)}{\Delta T} \right)_P \quad (3.3)$$

em que:  $\alpha_T$  é a expansividade térmica (°C<sup>-1</sup>);  $\rho$  é a densidade do sistema (g·cm<sup>-3</sup>);  $T$  é a temperatura (°C); e  $P$  é a pressão (bar).



### 3.3.1.3. Propriedades de misturas binárias: sal + água

Densidade, índice de refração e pH também foram medidos para diversas misturas homogêneas de sal + água, com o objetivo de se determinar a variação dessas propriedades com o teor de sal na mistura.

Para as misturas binárias de sal e água, a obtenção das soluções homogêneas e medição das propriedades foram da mesma forma que para polímero e água. Com estas medições foi possível comparar a influência do tipo de sal na variação da propriedade da solução aquosa e estabelecer equações para determinar as composições de fases em equilíbrio.

Dados de densidade para sistemas sal + água foram utilizados para obtenção do volume molar aparente por meio da Equação 3.4 (OLIVEIRA *et al.*, 2011):

$$V_{ap} = \frac{M_{sal}}{\rho} + \frac{1000}{m} \left( \frac{\rho_s - \rho}{\rho_s \rho} \right) \quad (3.4)$$

em que:  $V_{ap}$  é o volume molar aparente ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ );  $M_{sal}$  é a massa molar do sal ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ );  $\rho$  é a densidade do sistema ( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ );  $\rho_s$  é a densidade do solvente ( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ); neste caso a água;  $m$  é a molalidade da solução ( $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ); e o número 1000 é para adequação de unidades.

Dados de índice de refração para as soluções salinas binárias foram utilizados para o cálculo da refatividade molar utilizando-se a relação de Lorentz-Lorenz (FRANCESCONI e OTTANI, 2007), mostrada na Equação 3.5:

$$R_m = \left( \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \left( \frac{x_1 M_1 + x_2 M_2}{\rho} \right) \quad (3.5)$$

em que:  $R_m$  é a refatividade molar da solução ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ );  $n$  é o índice de refração; e  $x_i$  é a fração molar do componente  $i$  na solução; e  $M_i$  é a massa molar ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) do componente  $i$  na solução.

Os dados de densidade, índice de refração e refatividade molar foram ajustados às Equações 3.6 a 3.8, supondo comportamento linear:

$$\rho = A_\rho + B_\rho w_{sal} \quad (3.6)$$

$$n = A_n + B_n w_{sal} \quad (3.7)$$

$$R_m = A_{Rm} + B_{Rm} w_{sal} \quad (3.8)$$

em que:  $A_\rho$  ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ),  $A_n$  e  $A_{Rm}$  ( $\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ ) são os coeficientes lineares;  $B_\rho$  ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ),  $B_n$  e  $A_{Rm}$  ( $\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ ) são os coeficientes angulares, todos obtidos por regressão linear; e  $w_{sal}$  é a fração mássica de sal na solução.

A mudança dos valores de densidade com a temperatura também foi determinada para sistemas sal + água de composição fixa e, por conseguinte, estes dados foram utilizados para obtenção da expansividade térmica, dada pela Equação 3.3.

### 3.3.2. Pontos de névoa

#### 3.3.2.1. Sistemas binários polímero + água

Pontos de névoa em sistemas binários polímero + água foram determinados para se conhecer o diagrama de fases e a faixa de temperatura e composição em que estas misturas são homogêneas e, também, estudar a viabilidade do uso do copolímero num processo de termosseparação.

Quantidades conhecidas de polímero e água foram inseridas em células de equilíbrio e estas acopladas a um banho termostático e homogeneizadas com agitação magnética. A seguir, a temperatura do banho foi elevada a uma taxa de  $0,033 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . No momento em que o sistema binário apresentou turbidez, a temperatura foi anotada e considerada como a temperatura do ponto de névoa.

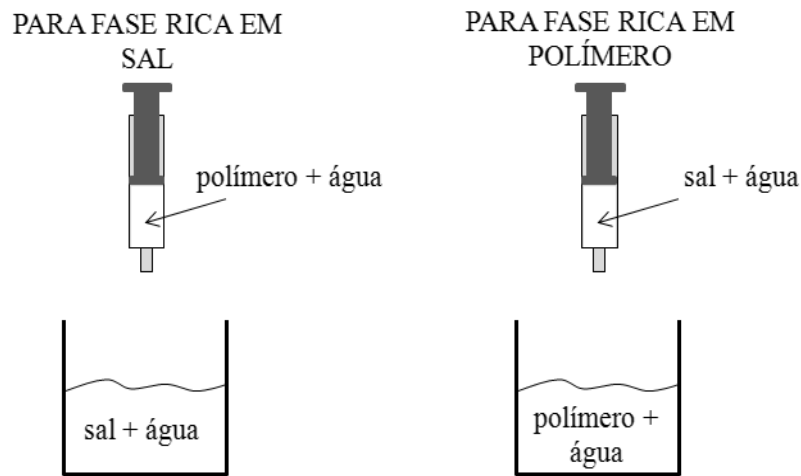
Esta operação foi realizada para diversas composições de polímero em água, com a finalidade de avaliar a influência da fração mássica da mistura na temperatura em que ocorre formação de duas fases.

#### 3.3.2.2. Sistemas ternários polímero + sal + água

Para as misturas ternárias de polímero + sal + água, o método dos pontos de névoa foi usado para mapeamento da região heterogênea e determinação de equações que relacionam a variação de propriedades termofísicas ao longo da curva binodal. Estas medições

possibilitaram avaliar a influência conjunta do polímero e do sal no perfil da propriedade ao longo da binodal e quantificar o desvio da propriedade entre as fases em equilíbrio.

Neste trabalho, o método do ponto de névoa consistiu na adição, com uma seringa, de uma mistura binária homogênea de polímero + água em outra mistura binária homogênea de sal + água, presente no interior de uma célula de equilíbrio e vice-versa. Ambas as misturas têm composição e massa de cada componente adicionado conhecidas por pesagem. A temperatura do sistema no interior da célula também é conhecida. A Figura 3.4 esquematiza o método.



**Figura 3.4. Esquema do método dos pontos de névoa aplicado nesta pesquisa.**

O ponto de névoa é caracterizado por surgimento de turbidez na mistura ternária. Uma vez atingido este ponto, mediu-se a densidade, o índice de refração e o pH para a maioria das misturas estudadas.

Segundo Tubío *et al.* (2009), diferentes equações podem ser usadas para representar os dados de pontos de névoa. Os próprios autores propuseram uma função sigmoideal (Equação 3.9) para correlacionar os dados da binodal:

$$w_{pol} = y_0 + \frac{w_0}{1 + e^{-\left(w_{sal} - \frac{x_0}{z_0}\right)}} \quad (3.9)$$

em que:  $w_{pol}$  é a fração mássica de polímero na solução; e  $x_0$ ,  $y_0$ ,  $w_0$  e  $z_0$  são os parâmetros a determinar por ajuste dos dados experimentais.

Por outro lado, Merchuk *et al.* (1998) propuseram uma representação matemática da curva binodal de SABs conforme mostrado na Equação 3.10:

$$w_{pol} = M_1 \exp(M_2 w_{sal}^{0,5} + M_3 w_{sal}^3) \quad (3.10)$$

em que:  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  são parâmetros ajustáveis.

Neste trabalho, para os sistemas ternários polímero (1) + sal (2) + água (3) foram construídas curvas de calibração por meio do ajuste dos dados da variação da densidade e/ou índice de refração com a composição e da composição de um componente com a de outro, ao longo da curva binodal, conforme esquematizado pelas Equações 3.11 a 3.13:

$$w_1 = f_{w_1}(\rho, n) \quad (3.11)$$

$$w_2 = f_{w_2}(\rho, n) \quad (3.12)$$

$$w_2 = g_{w_2}(w_1). \quad (3.13)$$

em que:  $w_1$  e  $w_2$  são as frações de polímero e sal, respectivamente;  $f_{w_1}$ ,  $f_{w_2}$  e  $g_{w_2}$  são as equações obtidas por regressão de dados de pontos de névoa, conforme proposto por Oliveira (2009). A garantia do uso destas equações está na correta determinação de cada ponto de névoa. A Equação 3.13 utilizada foi baseada no formato da Equação 3.10, diferindo desta no valores dos expoentes do termo  $w_{sal}$ .

### 3.3.3. Equilíbrio de fases

#### 3.3.3.1. Equilíbrio líquido-líquido

Os dados experimentais do equilíbrio líquido-líquido em sistemas contendo polímero + sal + água foram obtidos realizando-se as seguintes etapas: i) inseriu-se quantidades conhecidas por pesagem de cada composto dentro da célula de equilíbrio; ii) agitou-se magneticamente a mistura por um tempo de 3 h, para garantir bom contato entre as fases do sistema heterogêneo formado; iii) desligou-se a agitação e deixou-se as fases separar por 12 h, tempo necessário para atingir o equilíbrio, obtendo-se duas fases transparentes; iv) coletou-se amostras de cada fase em equilíbrio e mediu-se a densidade e o índice de refração; v) utilizou-

se as equações apresentadas na Seção 3.3.2.2 para se determinar a composição de polímero e sal em cada fase; vi) determinou-se a composição de água por diferença.

### 3.3.3.2. Partição de biomoléculas

Com as linhas de amarração dos sistemas ternários determinadas pelos dados de ELL e a região bifásica mapeada pela determinação dos pontos de névoa, foi realizada a partição de albumina de soro bovino e lisozima nos sistemas com PPG<sub>400</sub> e L35, uma vez que, conforme será mostrado posteriormente na Seção 5.3, estes sistemas foram estudados utilizando-se três sais diferentes. Assim, com a adição da biomolécula, os sistemas passaram a ser quaternários.

O procedimento experimental da partição de biomoléculas é similar à do ELL. A exceção é que foram utilizadas soluções de composição conhecida de biomolécula em água, em vez de água pura. Três concentrações iniciais de biomolécula em água ( $C_0$ ) foram empregadas: 1, 5 e 10 mg·g<sup>-1</sup>; e foram utilizados três pontos de alimentação dentro da região bifásica, escolhidos de tal maneira que apresentaram diferentes frações mássicas de água e uma razão sal/polímero adequada para a formação de duas fases com volume suficiente para realização da coleta de amostras e análise das mesmas. Estas condições permitiram avaliar a influência da composição inicial de biomolécula e do teor de água da alimentação na partição de BSA e lisozima.

A quantificação da composição de biomolécula nas fases em equilíbrio foi realizada por meio da espectrofotometria, utilizando-se o espectrofotômetro descrito na Seção 3.2.4. Esta quantificação ocorreu da seguinte maneira, para: i) foram determinados dados experimentais de absorvância *versus* concentração para cada biomolécula utilizando-se 280 nm, conforme o trabalho de Haghtalab *et al.* (2003); ii) foi realizada a regressão linear destes dados e obtenção da curva de calibração para cada biomolécula, com base na Equação 3.14:

$$A_{UV} = I C_b \quad (3.14)$$

em que:  $A_{UV}$  representa a absorvância na região do ultravioleta;  $I$  é a inclinação da curva obtida pelo ajuste linear (g·mg<sup>-1</sup>); e  $C_b$  é a concentração de biomolécula (mg·g<sup>-1</sup>); iii) após a separação das fases em ELL, amostras foram coletadas, analisadas e as curvas de calibração utilizadas para quantificar a composição de biomoléculas nestas amostras. Este método foi utilizado por diversos autores (WATANABE *et al.*, 2009; PENG *et al.*, 1995; FELE e FERMEGLIA, 1996; HUDDLESTON *et al.*, 1996). Cabe ressaltar que não foi verificada absorvância para a água

nem para as soluções aquosas com sais ou polímeros utilizados na formação dos sistemas quaternários dentro da faixa de medição do equipamento (190 nm a 1100 nm).

## 4. MODELAGEM

A modelagem realizada neste trabalho foi aplicada para correlacionar os dados dos sistemas binários {polímero ou sal} + água e os dados de ELL obtidos para os sistemas ternários.

### 4.1. MODELO DE REDLICH-KISTER

Os dados de desvio das propriedades, obtidos conforme mostrado na Seção 3.3.2.1, foram submetidos à modelagem ou ajuste com a expressão de Redlich-Kister (ZHANG *et al.*, 2011), mostrada para binários pela Equação 4.1:

$$\Delta\theta = w_i(1 - w_i) \sum_{p=0}^p A_p(2w_i - 1)^p \quad (4.1)$$

em que:  $A_p$  representa os parâmetros ajustáveis (com unidade dependente da propriedade); e  $p$  é um expoente da equação.

Os parâmetros  $A_p$  foram encontrados por regressão com o *software* Microcal Origin® 9.0.

### 4.2. MODELO DE REDLICH-MEYER

Os dados obtidos de volume molar aparente, conforme descrito na Seção 3.3.1.3, foram modelados com a expressão de Redlich e Meyer (1964), mostrada pela Equação 4.2:

$$V_{ap} = V_{ap}^0 + S_v\sqrt{m} + b_v m \quad (4.2)$$

em que:  $V_{ap}^0$  é o volume molar aparente à diluição infinita ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ );  $S_v$  é um parâmetro que está relacionado com a carga dos íons salinos ( $\text{kg}^{0.5} \text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1.5}$ );  $b_v$  é um parâmetro empírico ( $\text{kg cm}^3 \cdot \text{mol}^{-2}$ ). Os parâmetros desta equação,  $V_{ap}^0$ ,  $S_v$  e  $b_v$  foram encontrados por regressão com o *software* Microcal Origin® 9.0.

### 4.3. MODELO NRTL EM FRAÇÃO MÁSSICA

De uma forma geral, o equilíbrio de fases é representado pela condição de isofugacidade, ou seja, as fugacidades de cada um dos componentes nas fases em equilíbrio deve ser a mesma. Esta condição pode ser representada para duas fases pela Equação 4.3:

$$f_i^\alpha = f_i^\beta \quad (4.3)$$

em que:  $f_i^\alpha$  e  $f_i^\beta$  são as fugacidades do componente  $i$  nas fases  $\alpha$  e  $\beta$ , respectivamente.

As fugacidades são geralmente representadas pelo coeficiente de fugacidade quando há uma fase vapor envolvida ou pelo coeficiente de atividade quando a fase em questão é líquida, na chamada abordagem assimétrica ou gamma-phi. No caso do equilíbrio líquido-líquido, em que as duas fases envolvidas são líquidas, o estado padrão ou de referência é o componente puro na pressão e temperatura do sistema de maneira que a relação de isofugacidade se transforma em uma relação de isoatividade, mostrada na Equação 4.4:

$$x_i^\alpha \gamma_i^\alpha = x_i^\beta \gamma_i^\beta \quad (4.4)$$

em que:  $x_i^\alpha$ ,  $x_i^\beta$ ,  $\gamma_i^\alpha$ ,  $\gamma_i^\beta$  são a fração molar e o coeficiente de atividade, respectivamente, do componente  $i$  nas fases  $\alpha$  e  $\beta$ .

Para calcular o coeficiente de atividade, existe na literatura uma série de modelos termodinâmicos, baseados na energia de Gibbs em excesso; alguns são completamente empíricos, como os modelos de Margules ou Van Laar (PRAUSNITZ *et al.*, 1986); outros incorporam o conceito da composição local, como os modelos de Wilson (1964) e NRTL (*non random, two liquid*) (RENON e PRAUSNITZ, 1968); outros têm alguma base teórica na Mecânica Estatística, como UNIQUAC (ABRAMS e PRAUSNITZ, 1975); por último, alguns utilizam a ideia da contribuição de grupos, como UNIFAC (FREDENSLUND *et al.*, 1975, 1977) ou ASOG (DERR e DEAL, 1969; KOJIMA e TOCHIGI, 1979).

Neste trabalho foi utilizado o modelo NRTL em frações mássicas, conforme descrito por Sé e Aznar (2002b), De acordo com os autores e com Oishi e Prausnitz (1978), frações molares não são adequadas para sistemas poliméricos, por que a fração molar de um polímero é uma quantidade muito pequena devido à sua elevada massa molar.



O NRTL utiliza o conceito da composição local para expressar a dependência do coeficiente de atividade com a composição. O modelo considera que as moléculas presentes em um sistema líquido não se encontram aleatoriamente distribuídas, mas que existe uma certa ordem (não aleatoriedade). Esta não aleatoriedade, que é fruto das interações existentes entre as moléculas, provoca o surgimento de regiões com composição diferente da composição global do sistema; daqui a expressão “composição local” (RENON e PRAUSNITZ, 1968). As equações do modelo NRTL aplicado para frações mássicas utilizadas para o cálculo do coeficiente de atividade em sistemas multicomponentes são mostradas nas Equações 4.5 a 4.7:

$$\ln \gamma_i = \frac{\sum_j \left( \frac{\tau_{ji} G_{ji} W_j}{M_j} \right)}{\sum_j \left( \frac{G_{ji} W_j}{M_j} \right)} + \sum_j \left\{ \frac{G_{ji} W_j}{M_j \sum_k \left( \frac{G_{kj} W_k}{M_k} \right)} \left[ \tau_{ij} - \frac{\sum_k \left( \frac{\tau_{kj} G_{ki} W_k}{M_k} \right)}{\sum_k \left( \frac{G_{kj} W_k}{M_k} \right)} \right] \right\} \quad (4.5)$$

$$\tau_{ij} = \frac{\Delta g_{ij}}{RT} = A_{0,ij} + \frac{A_{1,ij}}{T} \quad (\tau_{ij} \neq \tau_{ji}) \quad (4.6)$$

$$G_{ij} = \exp(-\alpha_{ij} \tau_{ij}) \quad (\alpha_{ij} = \alpha_{ji}) \quad (4.7)$$

em que:  $\Delta g_{ij}$  e  $\Delta g_{ji}$  estão relacionados à energia característica da interação entre as moléculas do tipo  $i$  e  $j$  ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ ); o parâmetro  $\alpha_{ij}$  está relacionado com o grau de ordem (ou não aleatoriedade) do sistema e, conforme Renon e Prausnitz (1969), foi considerado fixo e igual a 0,3, neste trabalho; e  $R$  é a constante universal dos gases ( $8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ).

Este modelo apresenta três parâmetros ajustáveis para cada par binário ( $\Delta g_{ij}$ ,  $\Delta g_{ji}$  e  $\alpha_{ij}$ ). Estes três parâmetros podem ser estimados a partir de dados experimentais, minimizando-se uma de várias funções objetivo possíveis, por vários métodos numéricos de minimização. Neste trabalho, o Método Simplex Modificado (NELDER e MEAD, 1965) foi utilizado para minimizar a função objetivo baseada na concentração,  $F$ , dada pela Equação 4.8, similar à proposta por Sørensen *et al.* (1979):

$$F = \sum_k^D \sum_j^{N_k} \sum_i^{C_k-1} \left\{ \left( w_{ijk}^{\alpha,calc} - w_{ijk}^{\alpha,exp} \right)^2 + \left( w_{ijk}^{\beta,calc} - w_{ijk}^{\beta,exp} \right)^2 \right\} \quad (4.8)$$

em que:  $D$  é o número total de sistemas;  $N_k$  é o número de linhas de amarração em cada sistema  $k$ ;  $C_k$  é número componentes em cada sistema  $k$ ;  $T_{jk}^{calc}$  e  $T_{jk}^{exp}$  são as temperaturas calculada e

experimental (K), respectivamente, para a linha de amarração  $j$  no sistema  $k$ ;  $w_{ijk}^{\alpha,calc}$  e  $w_{ijk}^{\alpha,exp}$  são as frações mássicas calculada e experimental, respectivamente, do componente  $i$ , na fase  $\alpha$ , na linha de amarração  $j$ , no sistema  $k$ ;  $w_{ijk}^{\beta,calc}$  e  $w_{ijk}^{\beta,exp}$  são as frações mássicas calculada e experimental, respectivamente, do componente  $i$ , na fase  $\beta$ , na linha de amarração  $j$ , no sistema  $k$ .

Com os parâmetros do modelo NRTL estimados por minimização da função objetivo,  $F$ , os dados experimentais podem ser correlacionados, fazendo cálculos *flash* líquido-líquido; as composições calculadas podem ser comparadas com as composições experimentais, para cada sistema  $k$ , por meio do desvio médio quadrático, dado pela Equação 4.9:

$$\Delta w = 100 \sqrt{\frac{\sum_j^{N_k} \sum_i^{C_k} \left[ \left( w_{ij}^{\alpha,exp} - w_{ij}^{\alpha,calc} \right)^2 + \left( w_{ij}^{\beta,exp} - w_{ij}^{\beta,calc} \right)^2 \right]}{2N_k C_k}} \quad (4.9)$$

em que:  $\Delta w$  é o desvio médio quadrático.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos neste trabalho foram divididos em quatro partes, de acordo com o tipo do sistema:

- i) sistemas monocomponente;
- ii) sistemas binários – {polímero ou sal} + água;
- iii) sistemas ternários – polímero + sal + água;
- iv) sistemas quaternários – partição de biomoléculas.

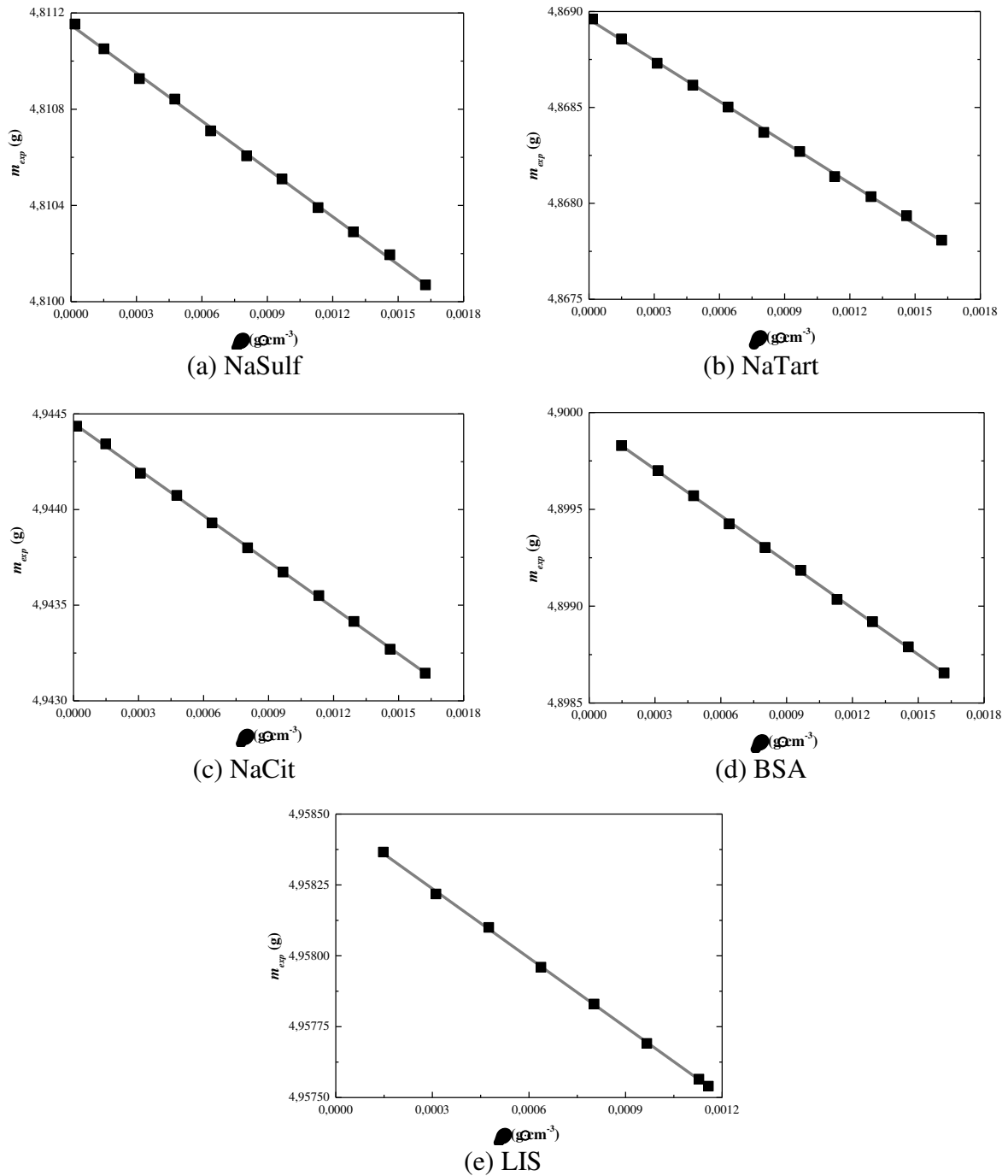
Para os sistemas monocomponente foram determinadas as propriedades termofísicas densidade e índice de refração (dos compostos líquidos). Para os sistemas binários foram mensuradas as propriedades físicas, dados de ponto de névoa para polímero + água. Os resultados para os sistemas ternários também envolvem propriedades termofísicas, pontos de névoa e equilíbrio de fases (ELL). Já os quaternários estão baseados na determinação do coeficiente de partição das biomoléculas (BSA e LIS).

Nas seções abaixo estão mostrados os resultados obtidos para cada tipo de sistema, seguidos de discussão embasada na literatura existente até o momento.

### **5.1. SISTEMAS MONOCOMPONENTE**

Os resultados obtidos para os sistemas monocomponente estudados referem-se às medições das propriedades físicas dos compostos puros utilizados neste trabalho, já mostradas na Tabela 3.1 (Seção 3.1). Entretanto, no que se refere à determinação da densidade de sólidos, este trabalho é pioneiro para sais e biomoléculas utilizando-se a técnica do volume de hélio (DREISBACH *et al.*, 2002).

Conforme descrito na Seção 3.3.1.1, na etapa de adsorção por injeção de hélio, mede-se massa experimental em cada valor de pressão. Com o aumento de pressão, tem-se o aumento de densidade. Conforme mostrado na Figura 5.1, verifica-se que o efeito da densidade do gás na massa experimental é linear e inversamente proporcional. Esta linearidade ao longo de todos os pontos experimentais indica que hélio não adsorve e que o único efeito sobre o material é o do empuxo.



**Figura 5.1. Variação da massa experimental ( $m_{exp}$ ) com a densidade de cada sistema.**

Assim, rearranjando-se a equação de trabalho (Equação 3.1) e considerando que  $m_a = V_a = 0$  (uma vez que hélio não adsorve), tem-se:

$$m_{exp} = (m_s + m_{sc}) - \rho(V_s + V_{sc}) \quad (5.1)$$

Por meio da Equação 5.1 obtém-se a massa ( $m_s$ ) e o volume ( $V_s$ ) do material utilizando-se, respectivamente, os valores do coeficiente linear ( $m_s + m_{sc}$ ) e do coeficiente angular ( $V_s + V_{sc}$ ) mostrados na Tabela 5.1. Os valores de  $m_{sc}$  e  $V_{sc}$  são previamente conhecidos para cada balança de suspensão magnética e, neste trabalho, estes valores são 4,61105 g e 0,57748 cm<sup>3</sup>, respectivamente.

Dividindo-se  $m_s$  por  $V_s$  obtém-se a densidade do material,  $\rho_s$ , mostrada na Tabela 3.1, como parte da seção experimental em que foram listadas as propriedades dos compostos utilizados e, na Tabela 5.1, novamente, para melhor entendimento do procedimento de cálculo.

**Tabela 5.1. Resultados dos experimentos realizados para obtenção das densidades dos sólidos utilizados neste trabalho.**

	$\{m_s + m_{sc}\}$ (g)	$10^6\sigma$	$\{V_s + V_{sc}\}$ (cm <sup>3</sup> )	$10^3\sigma$	$R^2$	$m_s$ (g)	$V_s$ (cm <sup>3</sup> )	$\rho_s$ (g·cm <sup>-3</sup> )
NaSulf	4,81115	6,35	0,66350	6,63	0,999	0,20010	0,08602	2,32628
NaTart	4,86896	5,94	0,71214	6,21	0,999	0,26791	0,13466	1,98957
NaCit	4,94445	4,45	0,80392	4,65	0,999	0,33340	0,22644	1,47237
BSA	4,89995	4,78	0,79735	4,78	0,999	0,28890	0,21987	1,31398
LIS	4,95848	4,32	0,81316	5,50	0,999	0,34743	0,23568	1,47418

Contudo conclui-se que a densidade dos sais diminui na ordem inversa de suas massas molares, NaSulf > NaTart > NaCit, e a das biomoléculas na ordem LIS > BSA.

A importância industrial desses resultados reside na operação de manuseio e empacotamento durante a sua produção. Por exemplo, conhecendo-se a densidade estima-se o tamanho dos pacotes (*bag-size*) a serem usados. Pacotes vazios são comumente carregados comprimidos, de maneira a obter uma alta densidade de carga. De acordo com Perry e Green (1999), o ponto inicial na determinação do *bag-size* é a massa ou o volume de sólido a ser transportado e sua densidade.

## 5.2. SISTEMAS BINÁRIOS

Os resultados para os sistemas binários são derivados do estudo de misturas entre {polímero ou sal} + água, uma vez que este é o principal componente de SABs. Nas subseções seguintes estão mostrados os resultados para polímero + água e sal + água.

### 5.2.1. Polímero + água

Os sistemas binários de polímero + água foram estudados para os seguintes polímeros: EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>, PEG<sub>1000</sub>, PEG<sub>600</sub>, PEG<sub>400</sub>, PPG<sub>400</sub>, L35, L64. A Tabela 5.2 mostra as propriedades que foram determinadas para cada sistema binário.

**Tabela 5.2. Propriedades abordadas no estudo das misturas binárias de polímero + água**

Parte	Propriedades	EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub>	PEG <sub>1000</sub>	PEG <sub>600</sub>	PEG <sub>400</sub>	PPG <sub>400</sub>	L35	L64
1	$\rho$ vs. $w$							
	$n$ vs. $w$							
	pH vs. $w$							
2	Pontos de névoa							
3	$\alpha$ vs. $T$							

Conforme mostrado na Tabela 5.2, os resultados para estes sistemas binários foram divididos em três partes, as quais estão mostradas e discutidas abaixo.

#### 5.2.1.1. Parte 1: $\rho$ , $n$ e pH versus fração mássica

Na primeira parte dos resultados para o binário polímero + água foram determinados os perfis de densidade, índice de refração e pH em função da fração mássica de polímero na solução. Perfis de densidade e índice de refração para este tipo de sistema já existem na literatura para outros polímeros (ZHANG *et al.*, 2011; RAHBARI-SISAKHT *et al.*, 2003), porém para o perfil do pH, como tratado neste trabalho, até o momento não existem dados reportados na literatura.

Nas Tabelas 5.3 a 5.9 estão mostrados os resultados obtidos para a densidade, o índice de refração e o pH ao longo da fração mássica para sistemas polímero + água com os polímeros utilizados neste trabalho.

Os resultados presentes nas Tabelas 5.3 a 5.9, exceto para Tabela 5.4, pois o PEG<sub>1000</sub> é sólido à temperatura de 20 °C, foram utilizados no cálculo do desvio da densidade e índice de refração,  $\Delta\rho$  e  $\Delta n$ , respectivamente, utilizando-se a Equação 3.2.

**Tabela 5.3. Densidade, índice de refração e pH para EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> (1) + água (2) a 20 °C.**

$w_1$	$\rho(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$n$	pH
0,0514	1,004381	1,3403	4,20
0,0997	1,010053	1,3473	3,77
0,2011	1,021634	1,3618	3,70
0,2937	1,029095	1,3748	3,75
0,3917	1,035143	1,3878	3,86
0,4872	1,039958	1,4007	4,03
0,5932	1,044468	1,4146	4,31
0,7865	1,048462	1,4385	5,35
0,8868	1,046181	1,4493	5,94

**Tabela 5.4. Densidade, índice de refração e pH para PEG<sub>1000</sub> (1) + água (2) a 20 °C.**

$w_1$	$\rho(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$n$	pH
0,0493	1,006421	1,3395	5,68
0,0998	1,014976	1,3464	5,6
0,1500	1,023720	1,3535	5,75
0,2000	1,032668	1,3606	5,83
0,2500	1,041721	1,3679	5,94
0,3050	1,051965	1,3761	6,15
0,3527	1,061075	1,3834	6,32
0,4015	1,070239	1,3909	6,55
0,4482	1,078669	1,3980	6,8
0,5007	1,087985	1,4066	7,08
0,5497	1,096160	1,4136	7,29
0,5958	1,103134	1,4205	7,55
0,6493	1,110085	1,4280	7,81
0,7002	1,115540	1,4352	8,01
0,7466	1,119491	1,4413	8,21
0,7994	1,122648	1,4481	8,5

**Tabela 5.5. Densidade, índice de refração e pH para PEG<sub>600</sub> (1) + água (2) a 20 °C.**

$w_1$	$\rho(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$n$	pH
0,0524	1,007007	1,3400	3,59
0,1002	1,015016	1,3463	3,4
0,1533	1,024176	1,3536	3,38
0,1998	1,032322	1,3601	3,42
0,2522	1,041825	1,3676	3,5
0,3004	1,050673	1,3746	3,64
0,3526	1,060293	1,3823	3,94
0,3999	1,069042	1,3895	4,12
0,4494	1,078212	1,3970	4,3
0,4962	1,086182	1,4042	4,5
0,5499	1,094945	1,4123	4,75
0,6017	1,103061	1,4199	5,04
0,6486	1,109056	1,4265	5,29
0,6974	1,114738	1,4333	5,61
0,7496	1,119583	1,4400	5,85
0,8001	1,123239	1,4465	6,07
0,8484	1,125571	1,4521	6,3
0,9000	1,127192	1,4581	6,5
0,9482	1,128046	1,4633	6,7

**Tabela 5.6. Densidade, índice de refração e pH para PEG<sub>400</sub> (1) + água (2) a 20 °C.**

$w_1$	$\rho(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$n$	pH
0,0931	1,015564	1,3458	2,65
0,1850	1,033572	1,3591	2,58
0,2823	1,053152	1,3738	2,65
0,3736	1,071541	1,3878	2,82
0,4619	1,086807	1,4022	3,91
0,5608	1,104314	1,4182	4,38
0,6540	1,113538	1,4327	5,88
0,7464	1,121593	1,4452	6,3
0,8345	1,125837	1,4561	6,65



**Tabela 5.7. Densidade, índice de refração e pH para PPG<sub>400</sub> (1) + água (2) a 20 °C.**

$w_1$	$\rho(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$n$	pH
0,0993	1,007331	1,3468	6,18
0,1977	1,016920	1,3610	5,4
0,2954	1,025724	1,3753	4,72
0,3934	1,032601	1,3890	4,62
0,4956	1,036858	1,4029	4,65
0,5858	1,037947	1,4139	4,73
0,6871	1,036792	1,4257	4,81
0,7826	1,032265	1,4353	5,03
0,8795	1,024517	1,4428	5,6

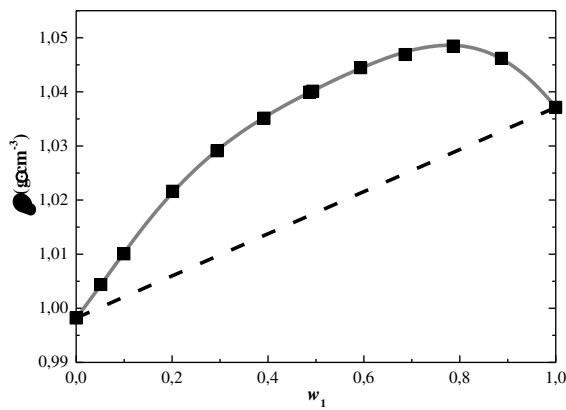
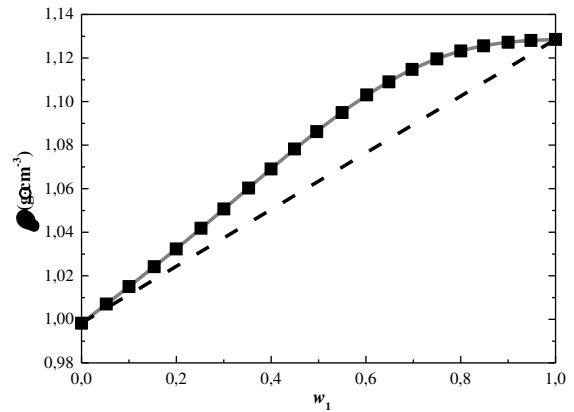
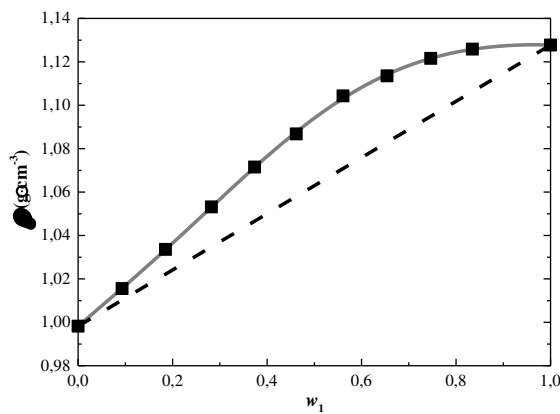
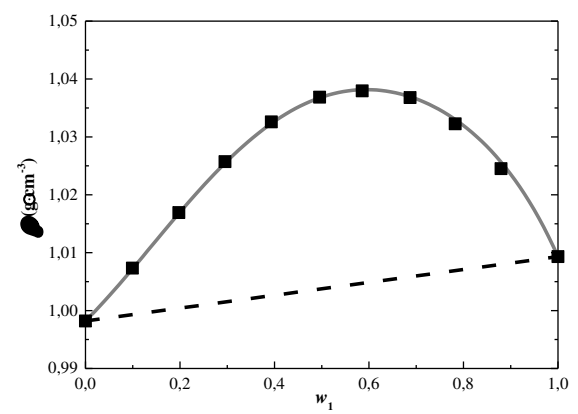
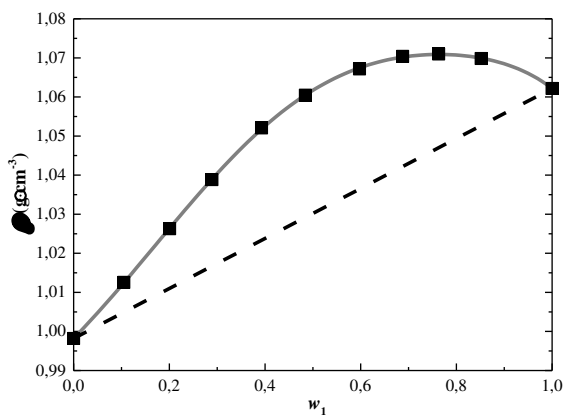
**Tabela 5.8. Densidade, índice de refração e pH para L35 (1) + água (2) a 20 °C.**

$w_1$	$\rho(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$n$	pH
0,1049	1,012566	1,3482	4,81
0,2006	1,026281	1,3626	4,54
0,2891	1,038857	1,3762	4,58
0,3928	1,052070	1,3919	4,63
0,4845	1,060462	1,4052	
0,5976	1,067165	1,4213	5,66
0,6877	1,070371	1,4326	
0,7631	1,070988	1,4409	7,00
0,8518	1,069835	1,4508	7,70

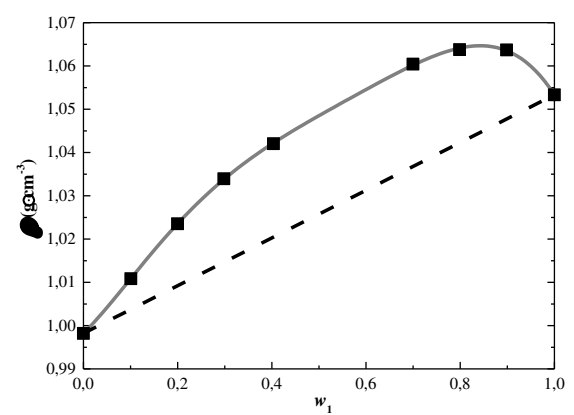
**Tabela 5.9. Densidade, índice de refração e pH para L64 (1) + água (2) a 20 °C.**

$w_1$	$\rho(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$n$	pH
0,1006	1,010850	1,3470	3,39
0,1998	1,023534	1,3613	3,35
0,2980	1,033924	1,3746	3,31
0,4035	1,042039	1,3885	3,38
0,6997	1,060432	1,4243	3,54
0,7987	1,063781	1,4360	3,58
0,8985	1,063700	1,4469	5,04

Na sequência, os valores de  $\Delta\rho$  e  $\Delta n$  foram submetidos a ajustes com a equação de Redlich-Kister (Equação 4.1). Esses resultados experimentais e calculados estão graficados nas Figuras 5.2 a 5.6. Os parâmetros da equação de Redlich Kister para os desvios da propriedade em função da fração mássica estão mostrados na Tabela 5.10.

(a) EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> + água(b) PEG<sub>600</sub> + água(c) PEG<sub>400</sub> + água(d) PPG<sub>400</sub> + água

(e) L35 + água



(f) L64 + água

**Figura 5.2.** Densidade experimental (■), ideal (- - -) e calculada por Redlich-Kister (—) para misturas de polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho a 20 °C.

**Tabela 5.10. Parâmetros da equação de Redlich-Kister para os desvios de densidade e índice de refração de sistemas polímero + água estudados neste trabalho.**

Propriedade	Polímero	$A_0$	$A_1$	$A_2$	$A_3$	$A_4$
$\Delta\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub>	0,09134	0,0106	0,06011	0,02649	-0,04102
	PEG <sub>600</sub>	0,09411	0,07919	-0,00923	-0,03764	-0,00542
	PEG <sub>400</sub>	0,12441	0,06204	-0,05196	-0,02376	0,02714
	PPG <sub>400</sub>	0,13246	0,03266	-0,0129	0,02926	0,01271
	L35	0,12607	0,02198	-0,0413	0,02606	0,02615
	L64	0,09096	0,01335	0,06926	0,07192	-0,02183
$\Delta n$	EO <sub>20</sub> PO <sub>80</sub>	0,02961	0,01479	0,0196	0,02014	0,00448
	PEG <sub>600</sub>	0,01702	0,03114	-0,00316	-0,00855	0,00963
	PEG <sub>400</sub>	0,03524	0,05659	0,02409	0,00266	0,00496
	PPG <sub>400</sub>	0,0510	0,0291	0,0064	0,0174	0,0081
	L35	0,04413	0,0292	-0,00395	0,01423	0,02177
	L64	0,01928	-0,00495	0,00415	0,00845	-0,01492

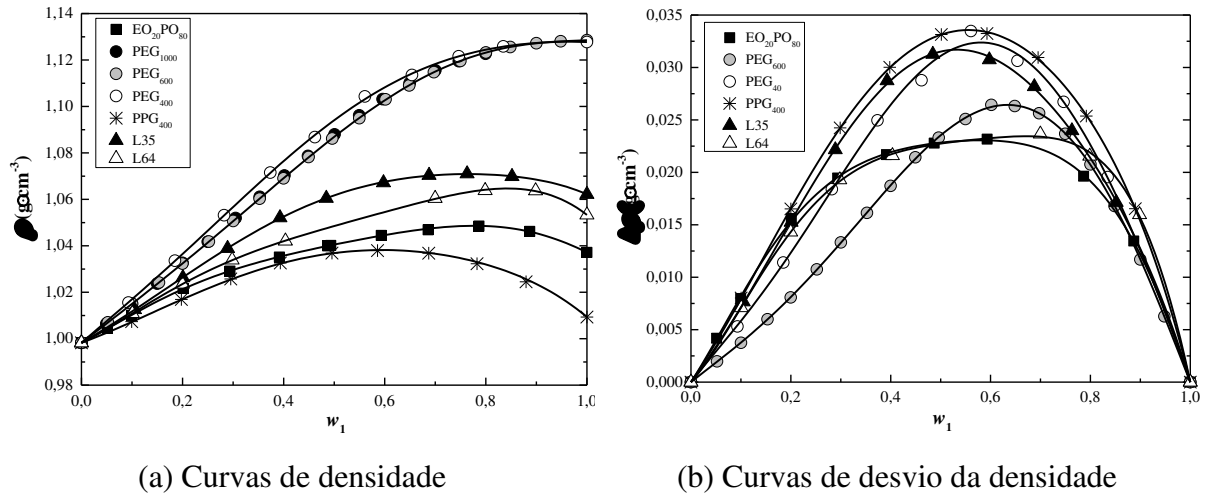
Na Figura 5.2 estão mostrados os perfis de densidades para os polímeros estudados; exceção, como dito anteriormente, para o PEG<sub>1000</sub>, pois este é sólido na temperatura estudada e não teve sua densidade determinada. Estão graficadas as curvas experimentais obtidas, as calculadas por Redlich-Kister e as curvas relativas ao comportamento ideal da solução polímero (1) + água (2), em que  $\Delta\rho = 0$  e  $\rho$  é uma combinação linear das frações mássicas da mistura ( $\rho = \rho_1 w_1 + \rho_2 w_2$ ), em que  $\rho_1$  e  $\rho_2$  são as densidades do componentes 1 e 2 puros, respectivamente.

A comparação das curvas presentes na Figura 5.2 está mostrada na Figura 5.3, na qual se verifica que o efeito do polímero no comportamento da densidade das misturas decresce na ordem: PEG<sub>400</sub> > PEG<sub>1000</sub>  $\approx$  PEG<sub>600</sub> > L35 > L64 > EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> > PPG<sub>400</sub> (Figura 5.3a). Aqui os resultados para PEG<sub>1000</sub> são mostrados, pois a curva da Figura 5.3a não necessita da informação da densidade do composto puro para ser determinada.

Na Figura 5.3b, o efeito destes compostos no desvio da densidade apresenta ordem diferente da Figura 5.3a. Tomando como referência a fração mássica de polímero igual a 0,5, a ordem, calculada por Redlich-Kister, é a seguinte: PPG<sub>400</sub> (0,033 g·cm<sup>-3</sup>) > L35  $\approx$  PEG<sub>400</sub> (0,031 g·cm<sup>-3</sup>) > PEG<sub>600</sub> (0,024 g·cm<sup>-3</sup>) > EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>  $\approx$  L64 (0,023 g·cm<sup>-3</sup>). Entre parênteses estão os valores dos desvios da densidade.

Com base nestes resultados, verifica-se que a interação entre PPG<sub>400</sub> e água é a mais forte entre os polímeros estudados. Isto pode ser explicado com base nos dados de volume excedente reportados por Sadeghi e Jamehbozorg (2009), em que as interações moleculares

entre o átomo de hidrogênio da água e o oxigênio do PPG<sub>400</sub> diminuem o volume excedente, ou aumentam o desvio da densidade.

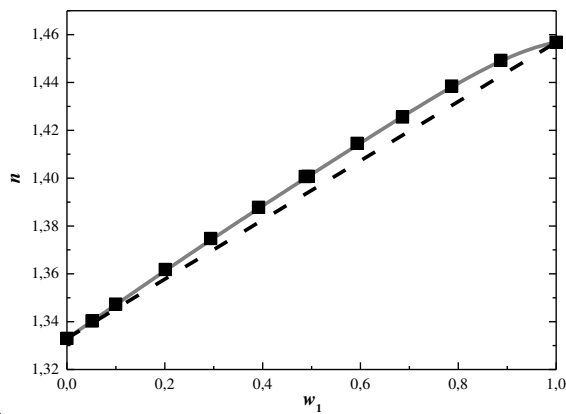
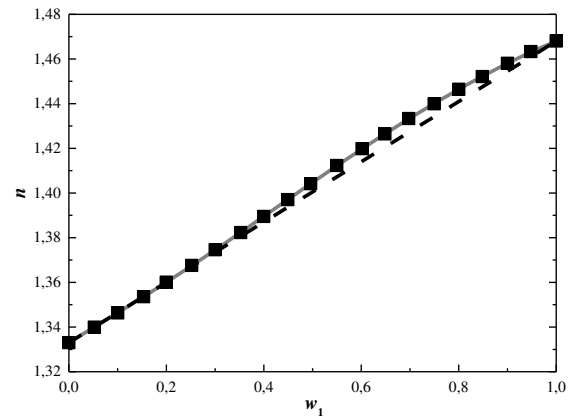
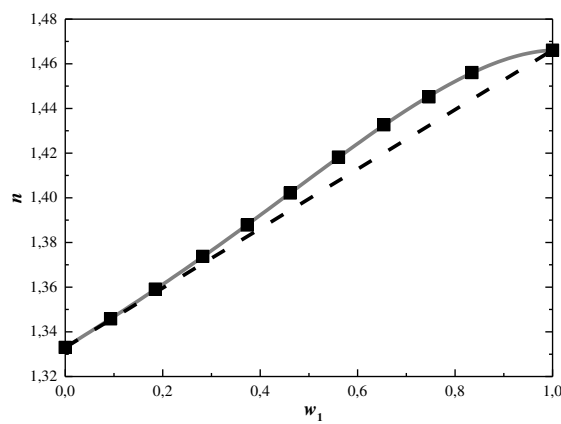
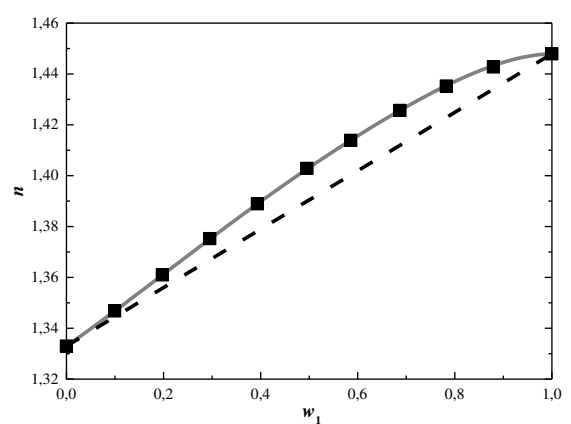
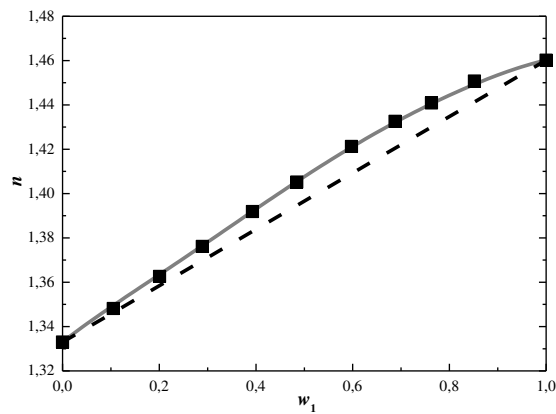


**Figura 5.3. Comparação entre densidades e desvios da densidade para os sistemas polímero (1) + água (2) estudados neste trabalho a 20 °C: símbolos, experimental; linhas, Redlich-Kister.**

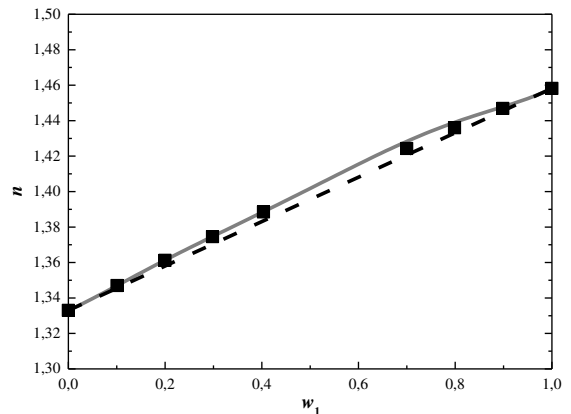
Na Figura 5.4 estão mostrados os perfis de índice de refração para as misturas polímero + água. Estão graficados os perfis experimentais obtidos, os calculados por Redlich-Kister e os perfis do comportamento ideal da solução polímero (1) + água (2), em que  $\Delta n = 0$  e  $n$ , de maneira análoga à densidade, é uma combinação linear das frações mássicas da mistura ( $n = n_1w_1 + n_2w_2$ ), em que  $n_1$  e  $n_2$  são os índices de refração dos componentes 1 e 2 puros, respectivamente. Para os sistemas estudados verifica-se que, com relação ao índice de refração, as soluções aquosas destes polímeros se comportam próximas da solução ideal.

A comparação das curvas presentes na Figura 5.4 está mostrada na Figura 5.5, na qual se verifica que o tipo do polímero não afeta substancialmente o perfil do índice de refração das misturas até frações mássicas próximas de 0,40 (Figura 5.5a). Isto está de acordo com o trabalho de Ho-Gutierrez *et al.* (1994), que mostraram que para o sistema PEG<sub>1000</sub> + água a 25 °C, até frações mássicas de 0,40, as soluções têm comportamento linear do índice de refração.

Na Figura 5.5b, o efeito destes compostos no desvio do índice de refração apresenta diferenças dependendo do tipo de polímero. Novamente tomando como referência a fração mássica de polímero igual a 0,5, a ordem dos efeitos, calculada por Redlich-Kister, é a seguinte: PPG<sub>400</sub> (0,013) > L35 (0,011) > PEG<sub>400</sub> (0,009) > EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> (0,007) > L64 (0,005) > PEG<sub>600</sub> (0,004). Entre parênteses estão os valores dos desvios do índice de refração.

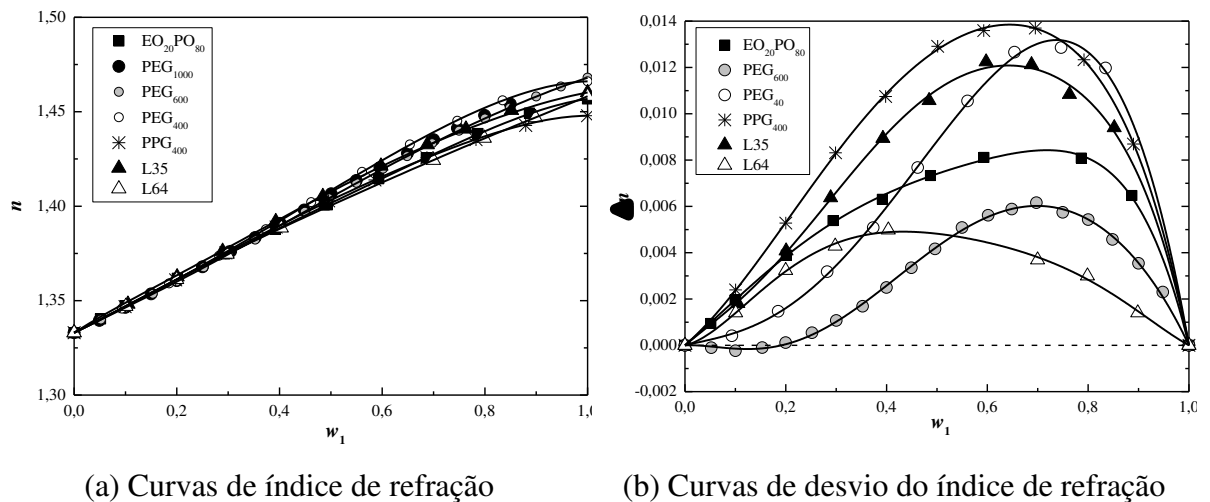
(a) EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> + água(b) PEG<sub>600</sub> + água(c) PEG<sub>400</sub> + água(d) PPG<sub>400</sub> + água

(e) L35 + água



(f) L64 + água

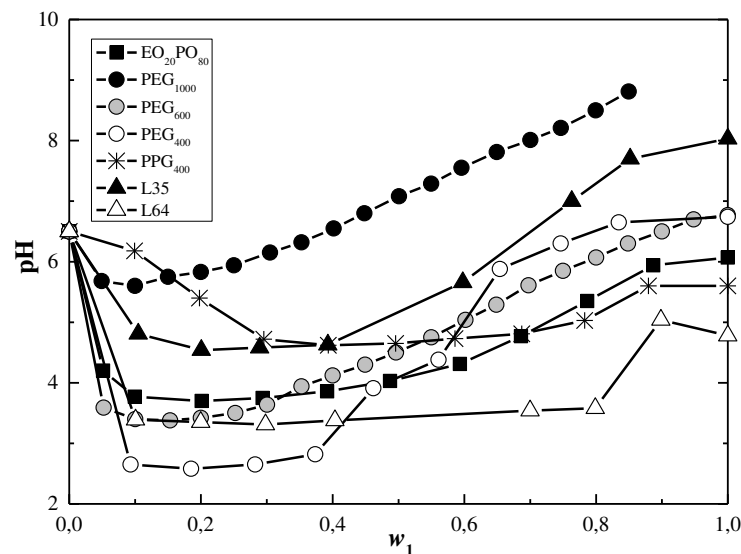
**Figura 5.4.** Índice de refração experimental (■), ideal (- - -) e calculado por Redlich-Kister (—) para misturas de polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho a 20 °C.



**Figura 5.5. Comparação entre índices de refração e desvios do índice de refração para os sistemas polímero (1) + água (2) estudados neste trabalho a 20 °C: símbolos, experimental; linhas, Redlich-Kister.**

Estes resultados podem servir como base para estudos mais aprofundados sobre a polarizabilidade de soluções poliméricas, uma que vez que esta propriedade está relacionada com a refratividade molar ( $R_m$ ), que por sua vez depende do índice de refração (PACÁK, 1989; REED III, 1959).

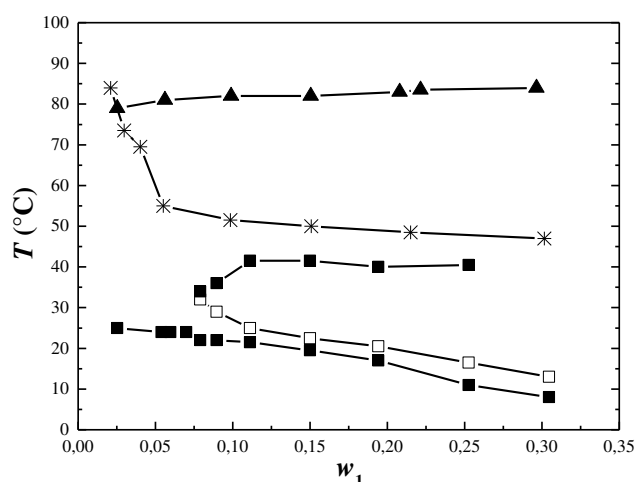
Na Figura 5.6 são mostrados os resultados obtidos para o perfil do pH ao longo da composição das soluções polímero + água à temperatura ambiente. Para os sete polímeros estudados, todas as soluções aquosas apresentam um pH mínimo, situado em frações mássicas de polímero menores que 0,4.



**Figura 5.6. pH para misturas polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho a 20 °C.**

### 5.2.1.2. Parte 2: pontos de névoa

Na segunda parte do estudo com polímeros + água, foram determinados os pontos de névoas para a mistura com três polímeros: EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>, PPG<sub>400</sub> e L35. A partir da determinação dos pontos de névoas pode-se estimar a TCIS, ou seja, a menor temperatura em que uma mistura polímero + água separa em duas fases. Na Figura 5.7 e nas Tabelas 5.11 a 5.13 estão mostrados os resultados desta subseção.



**Figura 5.7. Pontos de névoa para misturas polímero (1) + água (2) estudadas neste trabalho: \*, PPG<sub>400</sub>; ▲, L35; ■, EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>; □, pontos de límpido para EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>. As linhas somente conectam os pontos para facilitar a visualização.**

**Tabela 5.11. Pontos de névoas para as misturas EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> (1) + água (2) estudadas neste trabalho.**

$w_1$	$T_{névoa,1}$ (°C)	$T_{límpido}$ (°C)	$T_{névoa,2}$ (°C)
0,0254	25,0		
0,0540	24,0		
0,0597	24,0		
0,0699	24,0		
0,0790	22,0	32,0	34,0
0,0896	22,0	29,0	36,0
0,1112	21,5	25,0	
0,1500	19,5	22,5	41,5
0,1942	17,0	20,5	41,5
0,2526	11,0	16,5	40,0
0,3045	8,0	13,0	40,5

**Tabela 5.12. Pontos de névoas para as misturas PPG<sub>400</sub> (1) + água (2) estudadas neste trabalho.**

$w_1$	$T_{névoa,1}$ (°C)
0,0210	84,0
0,0297	73,5
0,0402	69,5
0,0550	55,0
0,0985	51,5
0,1507	50,0
0,2150	48,5
0,3015	47,0

**Tabela 5.13. Pontos de névoas para as misturas L35 (1) + água (2) estudadas neste trabalho.**

$w_1$	$T_{névoa,1}$ (°C)
0,0253	79,0
0,0561	81,0
0,0989	82,0
0,1505	82,0
0,2080	83,0
0,2215	83,5
0,2965	84,0

Para a mistura EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> + água, o comportamento observado apresentou três etapas, dependendo da composição do copolímero em água. Para frações mássicas abaixo de 0,07 os pontos de névoa são iguais ou maiores que 24 °C e aumentam com a diminuição da concentração de polímero. Acima de  $w_1 = 0,07$  o sistema apresenta formação de um primeiro ponto de névoa ( $T_{névoa,1}$ ) e, aumentando-se a temperatura, verifica-se que uma fase límpida se forma novamente ( $T_{límpido}$  na Tabela 5.5). Continuando o aumento da temperatura observa-se, para  $w_1 > 0,12$ , que aproximadamente em 40 °C um segundo ponto de névoa se forma ( $T_{névoa,2}$ ).

Não foram encontrados dados para este tipo de comportamento apresentado pelo sistema EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> + água em estudos para determinação do ponto de névoa. Campese *et al.* (2003) estudaram este polímero em diferentes pHs e reportaram a formação de dois pontos de névoa, mas não informaram a temperatura de desaparecimento da mesma. Seus resultados são



similares aos encontrados neste trabalho, porém os autores não apresentaram hipóteses para estes resultados. Uma possível explicação para o fenômeno verificado na Figura 5.7 está nas contribuições das cadeias de PEG e/ou PPG presentes nas moléculas de EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>. O ponto de névoa mais inferior seria causado pelas interações PPG e água e a segunda formação de névoa seria causada pelas interações aquosas com PEG.

O sistema PPG<sub>400</sub> + água (Tabela 5.12) apresentou pontos de névoa acima de 47 °C e seu valor aumenta com a diminuição da fração mássica de PPG<sub>400</sub>, comportamento que foi observado anteriormente nos trabalhos de Eliassi e Parach (2010) e Galera-Gómez e Gu (1996) para PPG<sub>1205</sub> e PPG<sub>2025</sub>, respectivamente; porém os autores não reportaram dados de TCIS.

O sistema L35 + água (Tabela 5.13) apresentou pontos de névoa maiores que 79 °C e, ao contrário do sistema com PPG<sub>400</sub>, os pontos de névoa para este copolímero bloco aumentam com o aumento da fração mássica do polímero.

A escolha destes três polímeros dentre os estudados para se desenvolver essa etapa do trabalho reside nos fatos de que: a) esta pesquisa, inicialmente, seria realizada somente com o EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>; b) há muitos trabalhos de partição de biomoléculas com este copolímero e poucos com PPG<sub>400</sub> e L35 (conforme mostrado na prospecção científica das Seções 2.1.1 a 2.1.4); e c) por estes dois polímeros terem apresentado as soluções aquosas com maiores desvios de propriedade até frações mássicas de 0,5, mostrados subseção anterior.

### 5.2.1.3. Parte 3: Expansividade térmica

A expansividade térmica é uma importante propriedade termofísica em sistemas poliméricos, pois em muitas rotas de produção e durante seu processamento, estes sistemas são submetidos à variação de temperatura e pressão, sendo necessário o conhecimento da expansividade térmica e da compressibilidade, sob ampla faixa de temperatura e pressão (COLÍN *et al.*, 2000).

Os resultados de expansividade térmica, calculada pela Equação 3.3, estão apresentados nas Tabelas 5.14 a 5.16 e na Figura 5.8. Os resultados foram obtidos para soluções aquosas de EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub>, PEG<sub>400</sub> ou PPG<sub>400</sub> com fração mássica de polímero igual a 0,15.

**Tabela 5.14. Densidade e expansividade térmica para mistura de EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> + água.**

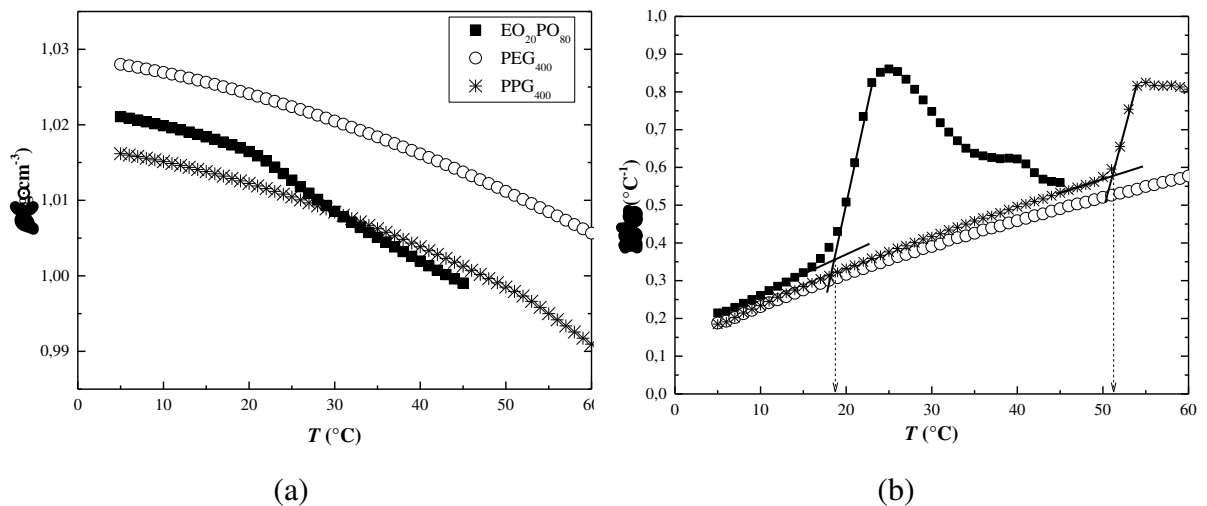
$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )	$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )
5	1,021076	0,21448	34	1,005743	0,650763
6	1,020857	0,218934	35	1,005097	0,637252
7	1,020629	0,22927	36	1,004462	0,630686
8	1,020389	0,240105	37	1,003830	0,626102
9	1,020139	0,249966	38	1,003205	0,623003
10	1,019879	0,260815	39	1,002580	0,624389
11	1,019607	0,273635	40	1,001953	0,622285
12	1,019321	0,284994	41	1,001333	0,609188
13	1,019026	0,296361	42	1,000733	0,58607
14	1,018717	0,308722	43	1,000160	0,568909
15	1,018397	0,321093	44	0,999595	0,562728
16	1,018063	0,336423	45	0,999035	0,56004
17	1,017712	0,358648			
18	1,017333	0,38827			
19	1,016922	0,43022			
20	1,016458	0,508137			
21	1,015889	0,612272			
22	1,015214	0,73482			
23	1,014397	0,824628			
24	1,013541	0,851964			
25	1,012670	0,860596			
26	1,011798	0,853925			
27	1,010942	0,833381			
28	1,010113	0,80684			
29	1,009312	0,778748			
30	1,008541	0,74811			
31	1,007803	0,718394			
32	1,007093	0,69358			
33	1,006406	0,670703			

**Tabela 5.15. Densidade e expansividade térmica para mistura de PEG<sub>400</sub> + água.**

$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )	$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )
5	1,028002	0,187743	34	1,018834	0,418616
6	1,027809	0,192643	35	1,018405	0,425666
7	1,027606	0,202412	36	1,017967	0,434199
8	1,027393	0,212674	37	1,017521	0,439303
9	1,027169	0,221483	38	1,017073	0,444904
10	1,026938	0,23127	39	1,016616	0,452973
11	1,026694	0,241552	40	1,016152	0,458593
12	1,026442	0,249405	41	1,015684	0,465204
13	1,026182	0,257752	42	1,015207	0,471825
14	1,025913	0,266592	43	1,014726	0,476976
15	1,025635	0,275439	44	1,014239	0,484107
16	1,025348	0,283806	45	1,013744	0,490755
17	1,025053	0,292668	46	1,013244	0,497906
18	1,024748	0,30105	47	1,012735	0,503093
19	1,024436	0,307974	48	1,012225	0,507792
20	1,024117	0,316858	49	1,011707	0,514477
21	1,023787	0,324775	50	1,011184	0,520677
22	1,023452	0,33172	51	1,010654	0,526392
23	1,023108	0,34014	52	1,010120	0,53162
24	1,022756	0,347101	53	1,009580	0,536362
25	1,022398	0,355537	54	1,009037	0,542101
26	1,022029	0,363493	55	1,008486	0,549338
27	1,021655	0,369499	56	1,007929	0,554106
28	1,021274	0,376491	57	1,007369	0,560371
29	1,020886	0,38496	58	1,006800	0,565654
30	1,020488	0,390499	59	1,006230	0,570446
31	1,020089	0,397024	60	1,005652	0,577237
32	1,019678	0,407482			
33	1,019258	0,414027			

**Tabela 5.16. Densidade e expansividade térmica para mistura de PPG<sub>400</sub> + água.**

$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )	$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )
5	1,016178	0,185007	34	1,006698	0,449986
6	1,015990	0,190947	35	1,006240	0,458141
7	1,015790	0,202306	36	1,005776	0,465312
8	1,015579	0,214164	37	1,005304	0,472494
9	1,015355	0,224552	38	1,004826	0,479187
10	1,015123	0,233962	39	1,004341	0,487882
11	1,014880	0,244857	40	1,003846	0,496092
12	1,014626	0,256252	41	1,003345	0,503316
13	1,014360	0,266671	42	1,002836	0,510053
14	1,014085	0,275125	43	1,002322	0,5168
15	1,013802	0,284572	44	1,001800	0,525055
16	1,013508	0,294522	45	1,001270	0,532823
17	1,013205	0,304479	46	1,000733	0,540104
18	1,012891	0,312966	47	1,000189	0,546897
19	1,012571	0,322447	48	0,999639	0,5537
20	1,012238	0,332432	49	0,999082	0,561515
21	1,011898	0,340449	50	0,998517	0,574853
22	1,011549	0,349958	51	0,997934	0,595731
23	1,011190	0,358983	52	0,997328	0,655251
24	1,010823	0,367028	53	0,996627	0,754043
25	1,010448	0,376071	54	0,995825	0,816409
26	1,010063	0,385124	55	0,995001	0,824622
27	1,009670	0,392207	56	0,994184	0,817253
28	1,009271	0,400784	57	0,993376	0,815905
29	1,008861	0,410364	58	0,992563	0,81758
30	1,008443	0,416484	59	0,991753	0,813207
31	1,008021	0,424594	60	0,990950	0,807306
32	1,007587	0,434206			
33	1,007146	0,441346			



**Figura 5.8. Variação da densidade (a) e expansividade térmica (b) para misturas de {EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> ou PEG<sub>400</sub> ou PPG<sub>400</sub>} (1) + água (2).**

Verifica-se na Figura 5.8a que cada solução aquosa de polímero apresenta uma variação diferente da densidade em função da temperatura.

Abaixo de 30 °C o sistema com EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> apresenta densidades entre a do PPG<sub>400</sub> e a do PEG<sub>400</sub>. Acima desta temperatura este sistema passa a ser o menos denso.

Na Figura 5.8b, constata-se que a expansividade térmica do sistema com PEG<sub>400</sub> aumenta monotonicamente com o aumento da temperatura, sem nenhuma mudança brusca de comportamento, pois sua TCIS é superior a 150 °C (BAE *et al.*, 1991). Já para o sistema com PPG<sub>400</sub>, verifica-se que ocorre uma mudança na inclinação da curva  $\alpha_T(T)$  próximo a 50 °C. Essa mudança da inclinação é provavelmente causada pela formação de duas fases, observado nos resultados dos pontos de névoa da subseção anterior. À medida que a temperatura aumenta, o sistema se torna mais expansível, até o ponto em que o sistema separa em duas fases. O mesmo ocorre com o sistema EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> + água, porém em temperaturas próximas de 20 e 40 °C, igualmente observado nos dados de pontos de névoa (Seção 5.2.1.2).

Cabe ressaltar que com a formação de duas fases, a densidade medida, assim como a expansividade calculada, não tem consistência termodinâmica, uma vez que não caracteriza o estado de nem uma das fases formadas. Até o momento este tipo de resultado não foi investigado para soluções poliméricas e sugere-se futuros estudos para esclarecer a relação entre a expansividade térmica e os pontos de névoas de sistemas polímero + água.

### 5.2.2. Sal + água

Os sistemas binários formados por sal + água foram investigados para os sais NaSulf, NaTart e NaCit. Na Tabela 5.17 estão os itens que foram estudados para estes binários, os quais também foram divididos em três partes, como no caso dos sistemas com polímero + água.

**Tabela 5.17. Propriedades abordadas no estudo das misturas binárias de sal + água**

Parte	Propriedades
1	$\rho$ vs. $w$
	$n$ vs. $w$
	pH vs. $w$
2	$\alpha$ vs. $T$

A primeira parte apresenta os resultados da avaliação dos perfis de densidade, índice de refração e pH ao longo da fração mássica, com consequente cálculo do volume molal aparente ( $V_{ap}$ ) e refratividade molar ( $R_m$ ); a segunda parte aborda a expansividade térmica das soluções salinas à composição constante.

#### 5.2.2.1. Parte 1: $\rho$ , $n$ e pH versus fração mássica

Nesta primeira parte dos resultados envolvendo sais + água foram estudadas as variações de densidade, volume molal aparente, índice de refração, refratividade molar e pH ao longo da concentração de sal no sistema. Estes dados estão mostrados nas Tabelas 5.18 a 5.20.

**Tabela 5.18. Densidade, índice de refração, pH, molalidade, volume molal aparente, fração molar e refratividade molar para o sistema binário NaSulf (1) + água (2) estudado neste trabalho a 20 °C.**

$w_1$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$m$ (mol·kg <sup>-1</sup> )	$V_{ap}$ (cm <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup> )	$x_1$	$R_m$ (cm <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup> )
0,0023	1,000423	1,3334		0,0165	7,33	0,0003	3,7146
0,0041	1,002047	1,3337		0,0287	8,08	0,0005	3,7173
0,0058	1,003589	1,3339	7,30	0,0407	9,62	0,0007	3,7191
0,0082	1,005830	1,3344	6,79	0,0581	10,55	0,0010	3,7238
0,0100	1,007373	1,3346	6,57	0,0709	12,36	0,0013	3,7259
0,0205	1,017268	1,3362	6,30	0,1476	12,46	0,0027	3,7405
0,0389	1,034381	1,3390	6,66	0,2852	14,49	0,0051	3,7680
0,0579	1,052283	1,3419	6,48	0,4325	15,95	0,0077	3,7976
0,0778	1,070535	1,3447	6,01	0,5943	18,78	0,0106	3,8308
0,0888	1,081162	1,3463	6,25	0,6861	19,35	0,0122	3,8486
0,1064	1,098262	1,3489	6,02	0,8384	20,47	0,0149	3,8790
0,1226	1,114369	1,3513	6,03	0,9840	21,33	0,0174	3,9076
0,1367	1,128499	1,3534	5,74	1,1146	22,09	0,0197	3,9330
0,1525	1,145177	1,3558	5,55	1,2673	22,58	0,0223	3,9622

**Tabela 5.19. Densidade, índice de refração, pH, molalidade, volume molal aparente, fração molar e refratividade molar para o sistema binário NaTart (1) + água (2) estudado neste trabalho a 20 °C.**

$w_1$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$m$ (mol·kg <sup>-1</sup> )	$V_{ap}$ (cm <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup> )	$x_1$	$R_m$ (cm <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup> )
0,0020	0,999636	1,3334	7,00	0,0101	51,8932	0,0002	3,7165
0,0037	1,000879	1,3336	7,17	0,0192	54,7235	0,0003	3,7199
0,0052	1,001935	1,3339	7,18	0,0270	55,6660	0,0005	3,7241
0,0068	1,003073	1,3342	7,28	0,0351	55,0860	0,0006	3,7282
0,0084	1,004222	1,3344	7,22	0,0435	55,2059	0,0008	3,7314
0,0187	1,011636	1,3362	7,40	0,0983	56,5754	0,0018	3,7577
0,0332	1,021934	1,3386	7,56	0,1767	58,2460	0,0032	3,7944
0,0490	1,033399	1,3413	7,80	0,2656	59,3316	0,0048	3,8363
0,0656	1,045454	1,3441	8,01	0,3615	60,3735	0,0065	3,8811
0,0788	1,055244	1,3464	8,06	0,4409	61,0611	0,0079	3,9184
0,1042	1,073520	1,3506	8,52	0,5997	63,5585	0,0107	3,9930
0,1155	1,082066	1,3525	8,57	0,6728	63,9310	0,0120	4,0262
0,1306	1,093554	1,3551	8,68	0,7739	64,5771	0,0137	4,0726
0,1416	1,101990	1,3570	8,63	0,8502	65,1194	0,0151	4,1076
0,1515	1,109509	1,3587	8,60	0,9204	65,7080	0,0163	4,1400
0,1619	1,117872	1,3606	8,59	0,9957	65,8826	0,0176	4,1742
0,1735	1,127227	1,3628	8,43	1,0819	66,1608	0,0191	4,2141



**Tabela 5.20. Densidade, índice de refração, pH, molalidade, volume molal aparente, fração molar e refratividade molar para o sistema binário NaCit (1) + água (2) estudado neste trabalho a 20 °C.**

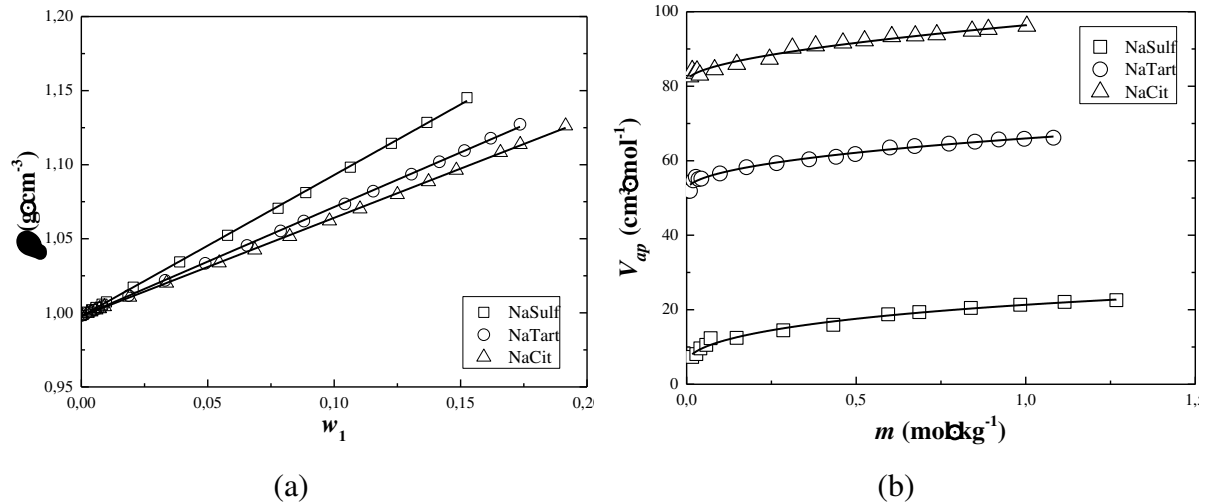
$w_1$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$m$ (mol·kg <sup>-1</sup> )	$V_{ap}$ (cm <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup> )	$x_1$	$R_m$ (cm <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup> )
0,0024	0,999751	1,3333	5,08	0,0101	82,5254	0,0002	3,7167
0,0038	1,000674	1,3336	5,02	0,0163	84,2338	0,0003	3,7213
0,0058	1,001966	1,3339	4,96	0,0247	83,4932	0,0004	3,7263
0,0072	1,002837	1,3342	4,92	0,0306	84,1083	0,0006	3,7309
0,0092	1,004171	1,3345	4,89	0,0391	83,0094	0,0007	3,7359
0,0191	1,010638	1,3362	4,78	0,0826	84,4433	0,0015	3,7640
0,0337	1,020120	1,3386	4,68	0,1479	85,8711	0,0027	3,8054
0,0546	1,033795	1,3420	4,60	0,2444	87,2669	0,0044	3,8659
0,0686	1,042429	1,3442	4,56	0,3119	90,2246	0,0056	3,9096
0,0824	1,051598	1,3465	4,52	0,3806	90,8521	0,0068	3,9529
0,0981	1,062067	1,3491	4,50	0,4609	91,6066	0,0082	4,0033
0,1102	1,070183	1,3513	4,48	0,5248	92,2181	0,0094	4,0452
0,1250	1,079918	1,3537	4,46	0,6050	93,3278	0,0108	4,0955
0,1373	1,088584	1,3559	4,55	0,6744	93,5372	0,0120	4,1390
0,1483	1,096305	1,3578	4,54	0,7376	93,8145	0,0131	4,1781
0,1658	1,108306	1,3607	4,52	0,8417	94,7813	0,0149	4,2422
0,1736	1,113643	1,3621	4,52	0,8897	95,2774	0,0158	4,2730
0,1915	1,126252	1,3652	4,51	1,0034	96,1076	0,0178	4,3433

Os dados de densidade e índice de refração das Tabela 5.18 a 5.20 e as retas obtidas por meio do ajuste com as Equações 3.6 e 3.7 estão mostrados nas Figuras 5.9a e 5.10a. Os parâmetros das Equações 3.6 e 3.7 estão mostrados na Tabela 5.21.

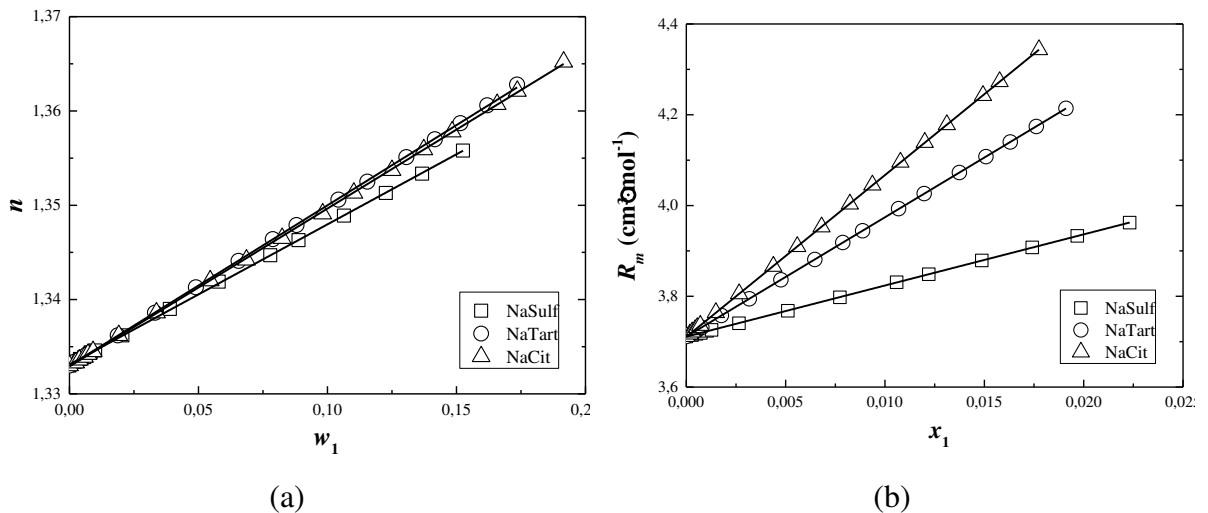
Os resultados mostrados na Figura 5.9a, com os parâmetros da Tabela 5.21, indicam que as soluções salinas de NaSulf são mais densas que as de NaTart, as quais, por sua vez, são mais densas que as de NaCit, ou seja, o aumento da densidade destas soluções apresenta ordem inversa ao aumento da massa molar do sal (NaSulf = 142,04 g·mol<sup>-1</sup>; NaTart = 194,05 g·mol<sup>-1</sup>; NaCit = 236,09 g·mol<sup>-1</sup>).

Os perfis de índice de refração mostrados na Figura 5.10a, juntamente com os valores dos parâmetros da Tabela 5.9, indicam que o aumento do índice de refração destas

soluções apresenta a mesma ordem do aumento da massa molar do sal, porém o efeito é pequeno e, portanto, pode ser calculada uma inclinação um  $B_n$  média igual a 0,1595 para os três casos.



**Figura 5.9.** Densidade, ao longo fração mássica, e volume molal aparente, ao longo da molalidade, para misturas sal (1) + água (2) estudadas a 20 °C.



**Figura 5.10.** Índice de refração, ao longo fração mássica, e refratividade molar, ao longo da fração molar, para misturas sal (1) + água (2) estudadas a 20 °C.

**Tabela 5.21.** Parâmetros das retas utilizadas na regressão dos dados de densidade e índice de refração para cada sistema sal + água a 20 °C.

Sal	$A_\rho$	$B_\rho$	$R^2$	$A_n$	$B_n$	$R^2$
NaSulf	0,99772	0,95316	0,999	1,3331	0,1486	0,999
NaTart	0,99775	0,73682	0,999	1,3330	0,1701	0,999
NaCit	0,99777	0,66385	0,999	1,3329	0,1675	0,999

Dados de  $V_{ap}$  experimentais e calculados pela expressão de Redlich-Meyer (Equação 4.2) estão mostrados na Figura 5.9b. Os parâmetros desta equação, encontrados por regressão, estão mostrados na Tabela 5.22.

**Tabela 5.22. Parâmetros da equação de Redlich-Meyer obtidos para cada sistema sal + água.**

Sal	$V_{ap,0}$ ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ )	$S_v$ ( $\text{kg}^{0,5} \text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1,5}$ )	$b_v$ ( $\text{kg cm}^3 \cdot \text{mol}^{-2}$ )	$R^2$
NaSulf	5,58	19,88	-4,12	0,982
NaTart	52,02	15,19	-1,231	0,982
NaCit	81,20	13,74	1,43	0,979

A partir do que está mostrado nas Tabelas 5.18 a 5.20 e Figura 5.9b, e dos parâmetros da Tabela 5.22, verifica-se que o sal com maior massa molar apresenta maior volume aparente na diluição infinita e em todas as composições estudadas.

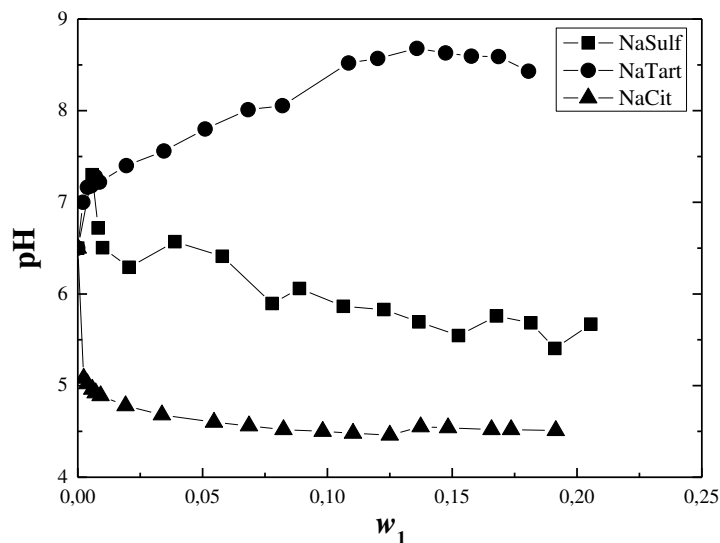
Os valores de refratividade molar, mostrados para cada fração molar nas Tabelas 5.18 a 5.20, foram calculados utilizando-se a relação de Lorentz-Lorenz (Equação 3.5) e a Equação 3.8 foi utilizada na regressão dos dados experimentais de refratividade molar. Os parâmetros obtidos,  $A_{Rm}$  e  $B_{Rm}$ , estão mostrados na Tabela 5.23.

**Tabela 5.23. Parâmetros das retas utilizadas na regressão dos dados de refratividade molar para cada sistema sal + água a 20 °C.**

Sal	$A_{Rm}$ ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ )	$B_{Rm}$ ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ )	$R^2$
NaSulf	3,7112	11,2632	0,999
NaTart	3,7112	26,2973	1
NaCit	3,7107	35,6340	0,999

Verifica-se que a refratividade molar da água pura foi determinada igual a  $3,7112 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ . Por meio dos valores dos coeficientes angulares  $B_{Rm}$  mostrados na Tabela 5.23 verifica-se que a refratividade molar também aumenta com o valor da massa molar do sal não hidratado.

Outra propriedade mensurada nesta primeira parte dos resultados para as soluções salinas foi a variação do pH com a composição de sal. Estes resultados estão presentes nas Tabelas 5.18 a 5.20 e na Figura 5.11.



**Figura 5.11. pH para misturas sal (1) + água (2) estudadas à temperatura ambiente. As linhas somente conectam os pontos para facilitar a visualização.**

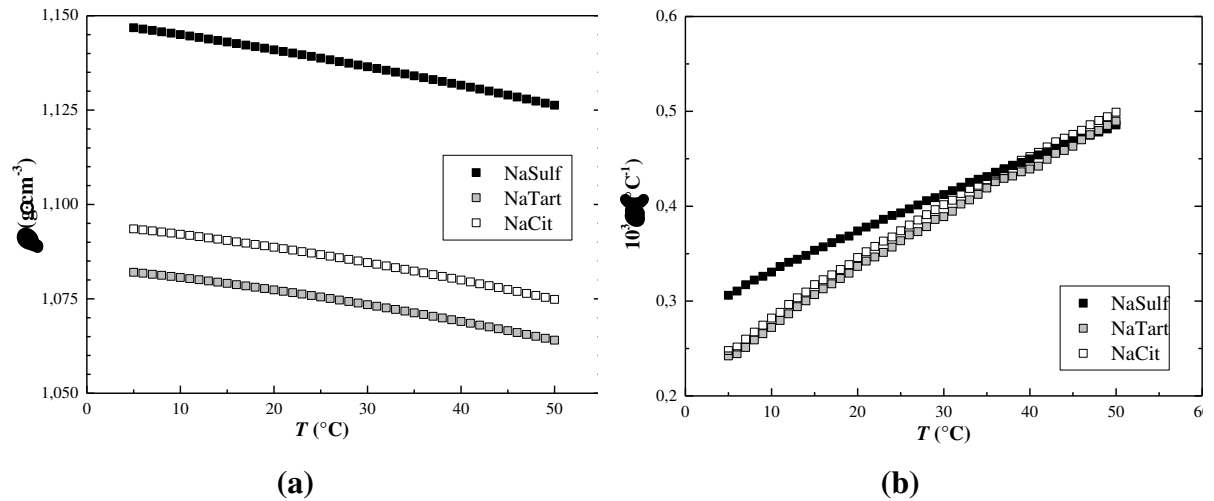
Os sais estudados possuem o mesmo número de cátions  $\text{Na}^+$  e diferem, portanto, no tamanho de seus ânions. Na Figura 5.11, verifica-se que o pH das soluções aumenta na seguinte ordem:  $\text{NaCit} > \text{NaSulf} > \text{NaTart}$ .

Isto está de acordo com o fabricante, que indica que o NaTart apresenta pH de 7,0 a 9,0 ( $50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e o NaCit apresenta 4,6 a 5,2 (a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{O}$ ). Além disso, verifica-se um comportamento de solução tampão para as soluções aquosas de NaCit entre frações mássicas entre 0,05 e 0,20, indicando pH constante aproximadamente igual a 4,5.

#### 5.2.2.2. Parte 3: Expansividade térmica

Dados de expansividade térmica foram obtidos para três soluções de sal (1) + água (2) com as seguintes composições: NaSulf,  $w_1 = 0,1505$ ; NaTart,  $w_1 = 0,1089$ ; NaCit,  $w_1 = 0,1372$ . A equação utilizada foi a mesma para os sistemas polímero + sal, Equação 3.3. Os resultados estão mostrados nas Tabela 5.24 a 5.26 e na Figura 5.12.

As densidades das soluções salinas mostradas na Figura 5.12a seguem o mesmo comportamento da Figura 5.9a. A solução com NaSulf é a mais densa, seguido de NaTart, e a menos densa é a com NaCit.



**Figura 5.12. Densidade (a) e expansividade térmica (b) para misturas de {NaSulf ou NaTart ou NaCit} (1) + água (2).**

Conforme mostrado na Figura 5.12b, a expansividade da solução com NaSulf é a mais alta dos sais testados até 38  $^{\circ}\text{C}$ . Ou seja, para as composições testadas, este sistema é o mais expansível. Acima de 40  $^{\circ}\text{C}$  o sistema com NaCit passa a ser o mais expansível, mesmo continuando sendo o menos denso.

**Tabela 5.24. Densidade e expansividade térmica para mistura de NaSulf (1) + água (2).**

$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )	$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )
5	1,146814	0,306	34	1,134566	0,428
6	1,146463	0,311	35	1,134079	0,431
7	1,146102	0,317	36	1,133588	0,436
8	1,145736	0,322	37	1,133091	0,440
9	1,145364	0,326	38	1,132592	0,443
10	1,144989	0,331	39	1,132088	0,446
11	1,144607	0,336	40	1,131582	0,450
12	1,144219	0,341	41	1,131070	0,454
13	1,143827	0,344	42	1,130555	0,457
14	1,143432	0,348	43	1,130036	0,461
15	1,143031	0,353	44	1,129513	0,465
16	1,142624	0,357	45	1,128985	0,469
17	1,142215	0,362	46	1,128454	0,471
18	1,141798	0,366	47	1,127921	0,475
19	1,141380	0,368	48	1,127383	0,478
20	1,140957	0,374	49	1,126843	0,481
21	1,140527	0,378	50	1,126298	0,486
22	1,140095	0,381			
23	1,139658	0,386			
24	1,139215	0,390			
25	1,138769	0,393			
26	1,138320	0,397			
27	1,137865	0,401			
28	1,137407	0,406			
29	1,136942	0,409			
30	1,136477	0,412			
31	1,136005	0,416			
32	1,135531	0,420			
33	1,135051	0,425			

**Tabela 5.25. Densidade e expansividade térmica para mistura de NaTart (1) + água (2).**

$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )	$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )
5	1,082040	0,242	34	1,071739	0,412
6	1,081778	0,245	35	1,071294	0,419
7	1,081511	0,251	36	1,070841	0,426
8	1,081235	0,259	37	1,070382	0,429
9	1,080951	0,266	38	1,069922	0,432
10	1,080661	0,272	39	1,069458	0,436
11	1,080363	0,280	40	1,068989	0,439
12	1,080057	0,287	41	1,068519	0,442
13	1,079744	0,294	42	1,068044	0,449
14	1,079422	0,300	43	1,067559	0,456
15	1,079096	0,307	44	1,067071	0,459
16	1,078760	0,313	45	1,066580	0,463
17	1,078421	0,318	46	1,066083	0,470
18	1,078074	0,324	47	1,065578	0,475
19	1,077723	0,329	48	1,065070	0,480
20	1,077364	0,336	49	1,064556	0,485
21	1,076998	0,342	50	1,064037	0,490
22	1,076627	0,346			
23	1,076252	0,351			
24	1,075871	0,357			
25	1,075484	0,364			
26	1,075089	0,370			
27	1,074689	0,373			
28	1,074287	0,378			
29	1,073876	0,386			
30	1,073458	0,389			
31	1,073041	0,395			
32	1,072611	0,402			
33	1,072178	0,407			

**Tabela 5.26. Densidade e expansividade térmica para mistura de NaTart (1) + água (2).**

$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )	$T$ (°C)	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$10^3 \alpha_T$ (°C <sup>-1</sup> )
5	1,093540	0,248	34	1,082813	0,422
6	1,093269	0,252	35	1,082353	0,428
7	1,092990	0,260	36	1,081887	0,433
8	1,092701	0,267	37	1,081417	0,437
9	1,092406	0,275	38	1,080941	0,443
10	1,092101	0,282	39	1,080459	0,448
11	1,091790	0,288	40	1,079972	0,452
12	1,091472	0,296	41	1,079482	0,457
13	1,091143	0,303	42	1,078986	0,462
14	1,090810	0,309	43	1,078484	0,468
15	1,090468	0,317	44	1,077977	0,472
16	1,090118	0,322	45	1,077467	0,476
17	1,089765	0,328	46	1,076952	0,480
18	1,089404	0,333	47	1,076433	0,486
19	1,089039	0,338	48	1,075906	0,490
20	1,088667	0,346	49	1,075378	0,494
21	1,088286	0,352	50	1,074843	0,499
22	1,087901	0,358			
23	1,087508	0,363			
24	1,087111	0,367			
25	1,086709	0,374			
26	1,086298	0,380			
27	1,085883	0,385			
28	1,085461	0,391			
29	1,085034	0,396			
30	1,084601	0,402			
31	1,084163	0,406			
32	1,083720	0,413			
33	1,083267	0,419			



### 5.3. SISTEMAS TERNÁRIOS

Nesta seção dos resultados deste trabalho, estão mostrados os diagramas de fases compostos pelas curvas binodais, determinadas por meio de pontos de névoa para sistemas ternários e pelas linhas de amarração, obtidas com experimentos de ELL. Na subseção seguinte estão mostradas as propriedades físicas medidas para estes dois conjuntos de dados. Estes dados compõem oito sistemas ternários, sete estudados a 20 °C e um a 25 °C. São eles:

- i) PEG<sub>1000</sub> + NaSulf + água (25 °C)
- ii) PEG<sub>400</sub> + NaSulf + água
- iii) PPG<sub>400</sub> + NaSulf + água
- iv) L35 + NaSulf + água
- v) PPG<sub>400</sub> + NaTart + água
- vi) L35 + NaTart + água
- vii) PPG<sub>400</sub> + NaCit + água
- viii) L35 + NaCit + água

Estes sistemas foram escolhidos uma vez que o sistema proposto inicialmente para incorporar trabalho, EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> + NaSulf + água, não separou em duas fases líquidas. O sistema PEG<sub>1000</sub> + NaSulf + água a 25 °C foi estudado para validação da técnica experimental. E dos sais estudados, NaTart e NaCit não formaram duas fases com o polímero PEG<sub>400</sub>.

#### 5.3.1. Curvas Binodais

O primeiro conjunto de resultados para os sistemas ternários consiste nas curvas binodais, obtidas por meio dos pontos de névoa determinados para os oito sistemas listados anteriormente, conforme explicado na Seção 3.3.2 deste trabalho. Assim, foram obtidos dados de composição, densidade, índice de refração e, para alguns sistemas, pH. Estes dados estão mostrados nas Tabelas 5.27 a 5.34 e nas Figuras 5.13 a 5.20.

Neste trabalho, os dados de pontos de névoa mostrados nas Tabelas 5.27 a 5.34 foram correlacionados matematicamente por equações cuja fórmula geral está mostrada na Seção 3.3.2.2.

**Tabela 5.27. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PEG<sub>1000</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 25 °C estudados neste trabalho.**

$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0020	0,2293	1,223347	1,3665	
0,0049	0,1953	1,186770	1,3623	
0,0130	0,1693	1,161216	1,3596	
0,0697	0,1257	1,120721	1,3614	
0,1198	0,0958	1,109016	1,3668	
0,1808	0,0653	1,093253	1,3700	
0,2487	0,0437	1,084249	1,3764	
0,3034	0,0307	1,081683	1,3826	
0,3669	0,0204	1,083422	1,3908	
0,4178	0,0162	1,085561	1,3957	
0,4957	0,0043	1,102161	1,4180	6,4
0,6921	0,0012	1,112031	1,4331	7,5

**Tabela 5.28. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PEG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.**

$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0016	0,2999	1,305281	1,3772	4,75
0,0091	0,2433	1,242386	1,3708	4,25
0,0211	0,2188	1,217092	1,3682	
0,0367	0,1929	1,192478	1,3673	
0,0753	0,1604	1,166112	1,3680	
0,1204	0,1300	1,144170	1,3706	
0,1696	0,1015	1,125118	1,3740	
0,2222	0,0739	1,108419	1,3774	
0,3785	0,0256	1,093880	1,3941	
0,4771	0,0133	1,099784	1,4075	
0,5393	0,0073	1,104510	1,4164	
0,6342	0,0039	1,114602	1,4298	

**Tabela 5.29. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PPG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.**

$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0026	0,1977	1,191205	1,3624	
0,0131	0,1476	1,140489	1,3568	
0,0323	0,1198	1,113990	1,3561	
0,0821	0,0921	1,091092	1,3590	
0,2246	0,0483	1,063579	1,3713	
0,3497	0,0222	1,047741	1,3854	
0,4721	0,0089	1,042233	1,3995	
0,5031	0,0056	1,040490	1,4030	
0,6855	0,0014	1,037505	1,4238	

**Tabela 5.30. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema L35 (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.**

$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0009	0,2460	1,244499	1,3691	
0,0010	0,1983	1,192517	1,3622	
0,0011	0,1481	1,140612	1,3551	
0,0020	0,1272	1,118785	1,3524	5,36
0,0068	0,1069	1,099609	1,3502	5,40
0,0278	0,0887	1,084706	1,3501	5,20
0,0923	0,0700	1,076438	1,3563	
0,1162	0,0592	1,073046	1,3608	4,85
0,2101	0,0396	1,063184	1,3705	
0,2812	0,0272	1,060584	1,3784	4,80
0,3839	0,0146	1,062300	1,3925	
0,4586	0,0104	1,065039	1,4017	5,17
0,5608	0,0060	1,068086	1,4146	5,24
0,5627	0,0060	1,068358	1,4152	5,31
0,7555	0,0027	1,072337	1,4389	7,50

**Tabela 5.31. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PPG<sub>400</sub> (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.**

$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0037	0,2471	1,186494	1,3762	9,40
0,0414	0,1603	1,119999	1,3661	7,50
0,0800	0,1312	1,100919	1,3658	7,45
0,1315	0,1050	1,085862	1,3679	7,30
0,1483	0,0956	1,083450	1,3708	
0,1570	0,0842	1,072953	1,3731	7,20
0,1957	0,0818	1,075021	1,3735	
0,2266	0,0708	1,070186	1,3784	
0,3216	0,0454	1,058159	1,3834	
0,3828	0,0318	1,052427	1,3923	
0,4389	0,0272	1,052837	1,3962	
0,5689	0,0084	1,042500	1,4118	6,49
0,6280	0,0048	1,040520	1,4183	6,50
0,6794	0,0029	1,038710	1,4237	6,53
0,7354	0,0014	1,036487	1,4288	6,55
0,7899	0,0005	1,033723	1,4354	

**Tabela 5.32. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema L35 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.**

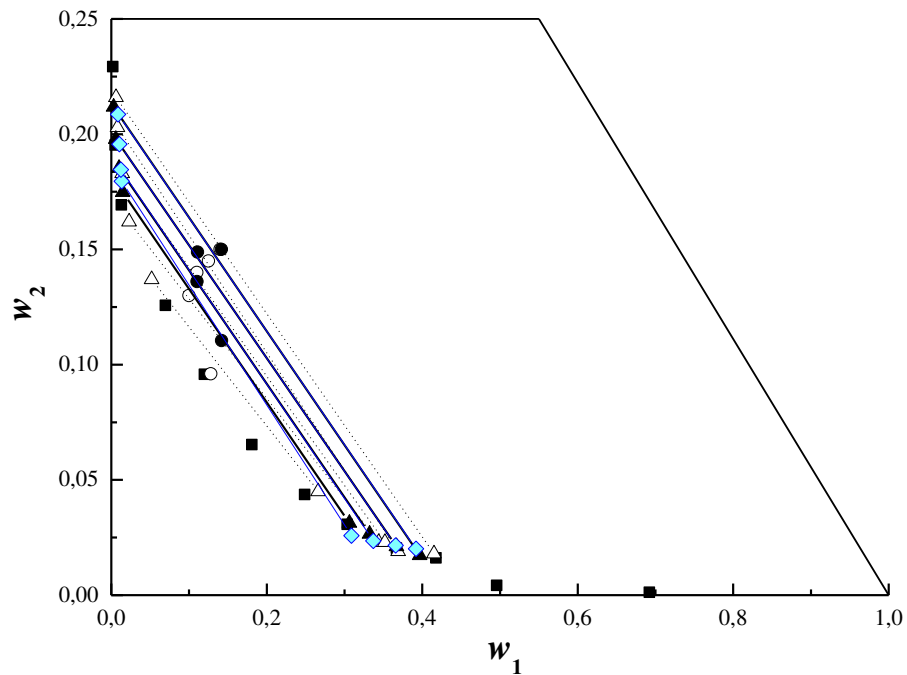
$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0004	0,2918	1,224802	1,3842	8,45
0,0007	0,1830	1,135013	1,3644	
0,0042	0,1668	1,122233	1,3624	8,10
0,0105	0,1448	1,106002	1,3591	8,00
0,0517	0,1179	1,091133	1,3610	7,90
0,1334	0,0894	1,083272	1,3690	7,85
0,2052	0,0660	1,073237	1,3747	7,65
0,3051	0,0426	1,069656	1,3849	
0,3245	0,0375	1,069319	1,3875	
0,3548	0,0325	1,069223	1,3913	
0,4392	0,0227	1,068674	1,4004	6,99
0,5281	0,0155	1,070563	1,4127	7,03
0,6569	0,0077	1,072478	1,4275	7,33
0,7552	0,0042	1,073076	1,4389	8,05

**Tabela 5.33. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema PPG<sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.**

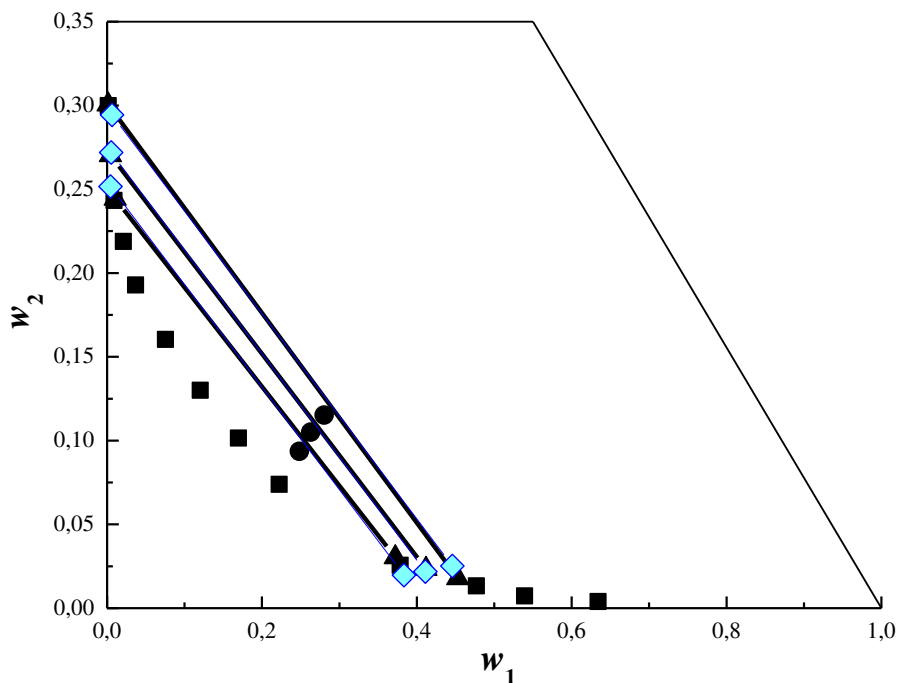
$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0042	0,3060	1,211229	1,3869	4,70
0,0138	0,2522	1,171412	1,3783	4,40
0,0360	0,2081	1,140886	1,3738	4,50
0,0829	0,1621	1,112364	1,3722	4,60
0,0952	0,1585	1,112133	1,3722	
0,1863	0,1083	1,085025	1,3753	4,70
0,3333	0,0589	1,063427	1,3893	4,85
0,4009	0,0399	1,055400	1,3950	5,15
0,4701	0,0233	1,048200	1,4019	5,50
0,5239	0,0152	1,045236	1,4079	5,55
0,6731	0,0033	1,039017	1,4233	6,36
0,7837	0,0008	1,033625	1,4343	6,69

**Tabela 5.34. Frações mássicas, densidades, índices de refração e pH para o sistema L35 (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C estudados neste trabalho.**

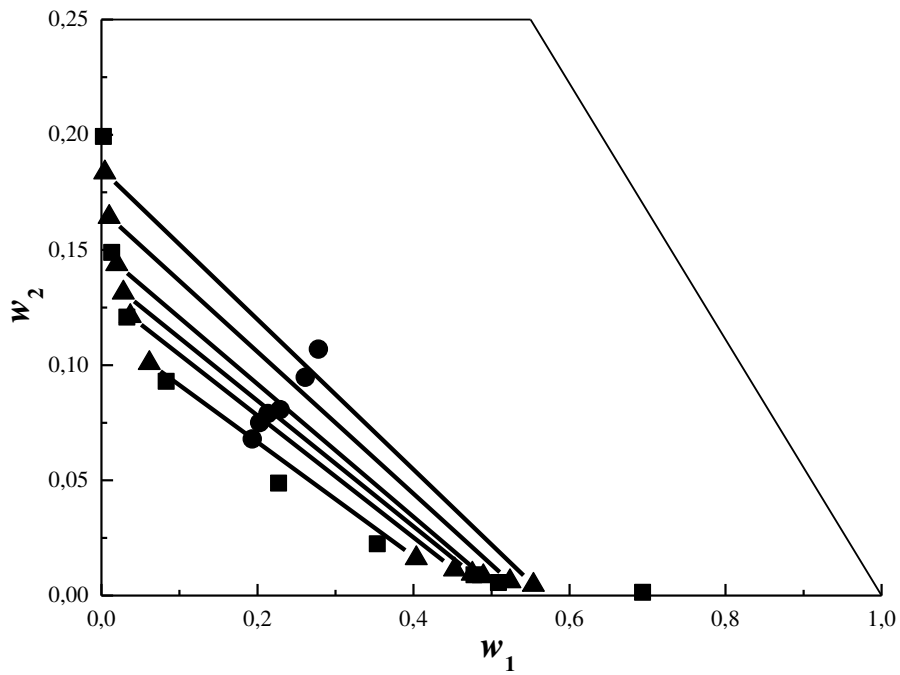
$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH
0,0019	0,3054	1,225647	1,3897	4,30
0,0010	0,2671	1,182296	1,3791	4,30
0,0040	0,2215	1,148712	1,3711	4,40
0,0226	0,1743	1,117862	1,3659	4,45
0,1462	0,1134	1,093245	1,3680	4,60
0,1876	0,0940	1,084888	1,3772	4,70
0,2729	0,0637	1,075660	1,3841	4,80
0,3086	0,0542	1,073811	1,3870	4,95
0,3603	0,0416	1,071547	1,3929	5,05
0,4269	0,0304	1,071370	1,4005	5,20
0,5412	0,0175	1,072261	1,4144	5,60
0,6357	0,0113	1,072983	1,4276	6,00
0,7519	0,0047	1,073304	1,4405	6,80



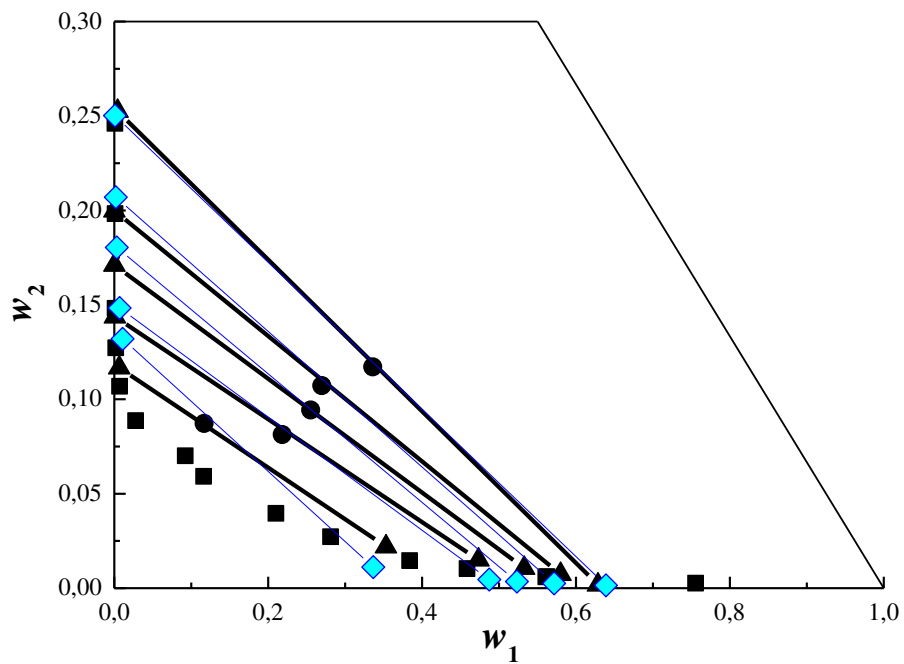
**Figura 5.13. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PEG<sub>1000</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 25 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; -▲-, linhas de amarração. NRTL: -◇-, linhas de amarração. Snyder *et al.* (1992): ○, alimentações; -Δ-, linhas de amarração.**



**Figura 5.14. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PEG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; -▲-, linhas de amarração. NRTL: -◇-, linhas de amarração.**



**Figura 5.15.** Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração.



**Figura 5.16.** Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração. NRTL: –◇–, linhas de amarração.



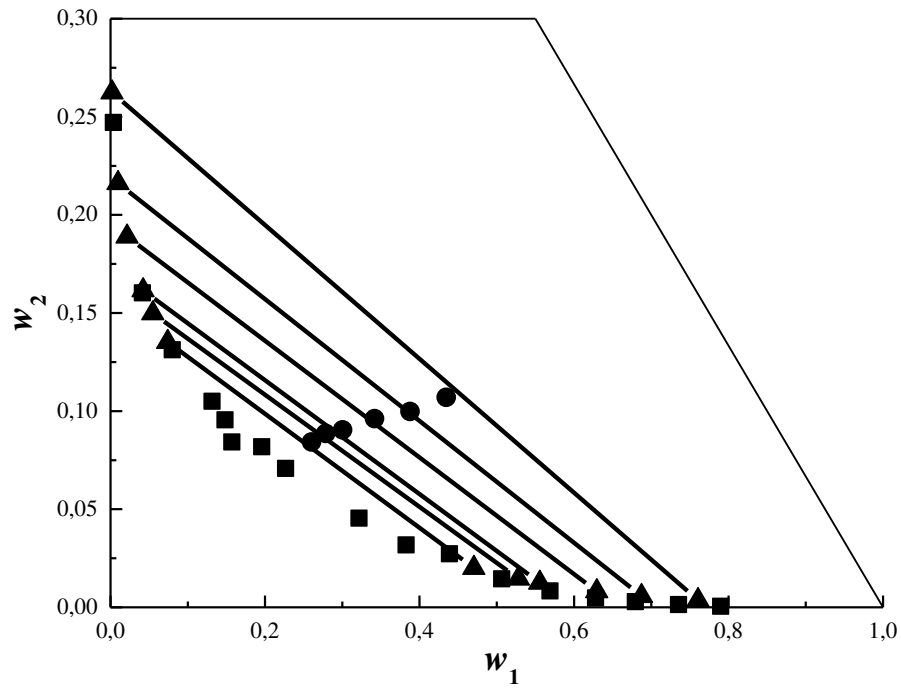


Figura 5.17. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração.

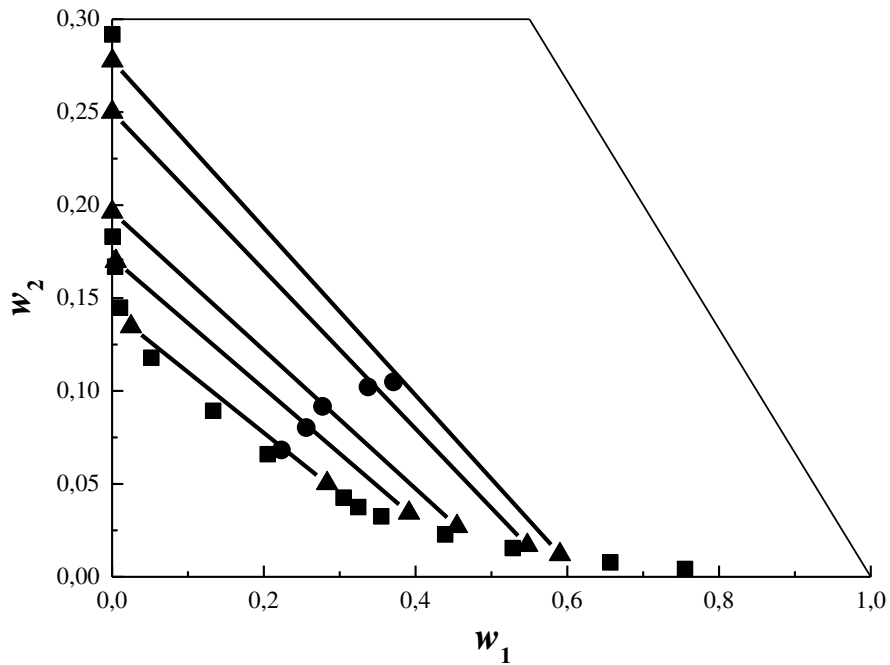
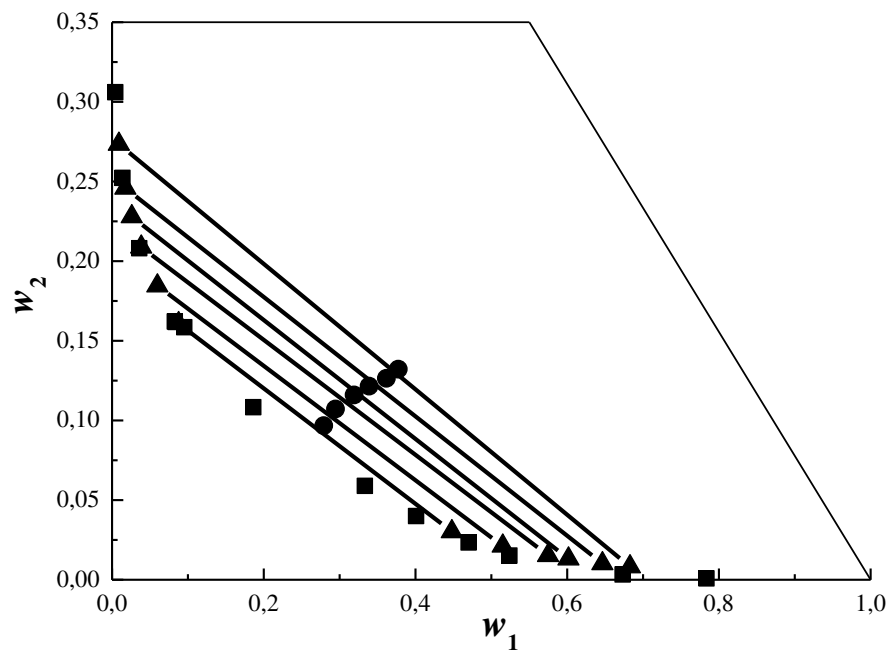
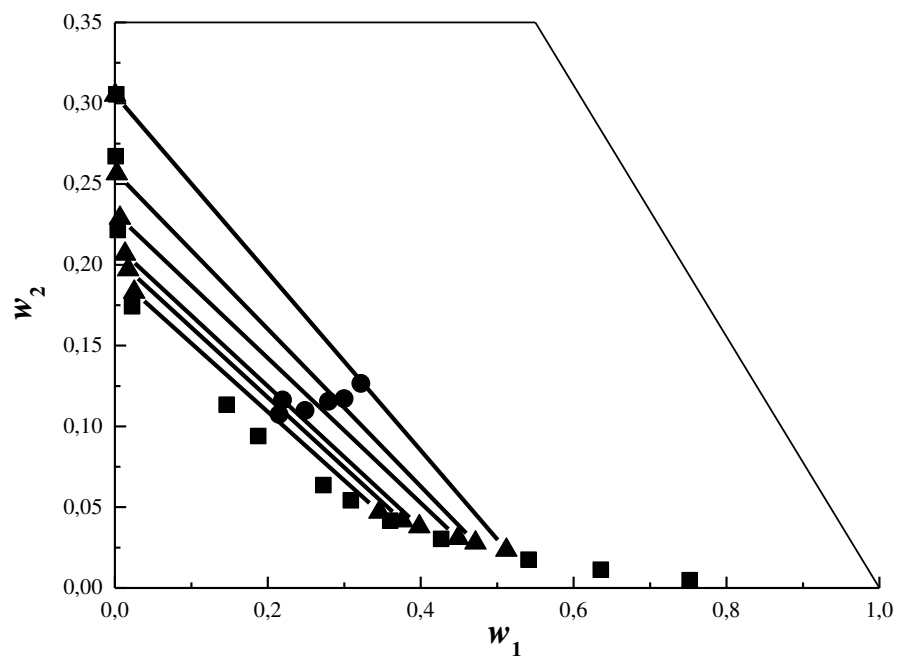


Figura 5.18. Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásicos L35 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração.



**Figura 5.19.** Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração.



**Figura 5.20.** Diagrama de fases para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C. Experimental: ■, pontos de névoa; ●, alimentações; –▲–, linhas de amarração.

**Tabela 5.35. Correlações obtidas para cada sistema.**

Sistemas	Conjunto de equações	$R^2$
1. PEG <sub>1000</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3)	$w_1 = \left[ \frac{\left( \frac{n^2}{\rho} - 1,48137 \right)}{0,4185} \right]^{\frac{1}{0,32608}}$	0,9953
	$w_2 = 0,31055 \exp(-1,618 w_1^{0,25} - 6,43145 w_1^{1,5})$	0,9952
2. PEG <sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3)	$w_1 = \left[ \frac{\left( \frac{n^2}{\rho} - 1,40173 \right)}{0,5128} \right]^{\frac{1}{0,34481}}$	0,9978
	$w_2 = 0,40198 \exp(-1,53723 w_1^{0,25} - 6,0857 w_1^{1,5})$	0,9987
3. PPG <sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3)	$w_1 = \left[ \frac{\left( \frac{n}{\rho} - 1,07915 \right)}{0,3195} \right]^{\frac{1}{0,25625}}$	0,9958
	$w_2 = 0,31851 \exp(-2,17854 w_1^{0,25} - 4,69472 w_1^{1,5})$	0,9967
4. L35 (1) + NaSulf (2) + água (3)	$w_1 = -10,0521\rho + 0,9981n + 6,5422\rho n$	0,9998
	$w_2 = 1,1981\rho - 0,8603n - 0,0363\rho n$	0,9973
5. PPG <sub>400</sub> (1) + NaTart (2) + água (3)	$w_1 = \left[ \frac{\left( \frac{n}{\rho} - 1,12655 \right)}{0,28032} \right]^{\frac{1}{0,36326}}$	0,9947
	$w_2 = 0,3887 \exp(-1,85178 w_1^{0,25} - 4,44062 w_1^{1,5})$	0,9973
6. L35 (1) + NaTart (2) + água (3)	$w_1 = -10,6821\rho + 1,6686n + 6,3563\rho n$	0,9999
	$w_2 = 1,5604\rho - 1,2033n + 0,03147\rho n$	0,9959
7. PPG <sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3)	$w_1 = \left[ \frac{\left( \frac{n}{\rho} - 1,11235 \right)}{0,2981} \right]^{\frac{1}{0,37382}}$	0,9974
	$w_2 = 0,47753 \exp(-1,79445 w_1^{0,25} - 4,30764 w_1^{1,5})$	0,9979
8. L35 (1) + NaCit (2) + água (3)	$w_1 = -10,2443\rho + 1,9285n + 5,7977\rho n$	0,9986
	$w_2 = 0,39252 \exp(-1,87575 w_1^{0,25} - 3,36187 w_1^{1,5})$	0,9736

### 5.3.2. Linhas de amarração

O conjunto de equações obtido mostrado na Tabela 5.35 foi utilizado para determinar as composições de polímero e sal nas fases em equilíbrio dos SABs estudados. Estes dados de ELL estão mostrados nas Tabelas 5.36 a 5.43 e nas Figuras 5.13 a 5.20.

**Tabela 5.36. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PEG<sub>1000</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 25 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	$CLA$	$ILA$	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g\cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g\cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$				
0,1419	0,1104	0,7477	0,3064	0,0313	0,6623	1,081491	1,3820		0,0147	0,1748	0,8105	1,165276	1,3599		0,8172	0,3251	0,4920	1,6
0,1104	0,1361	0,7535	0,3322	0,0265	0,6412	1,081421	1,3849		0,0099	0,1853	0,8049	1,176217	1,3608		0,7967	0,3593	0,4924	0,3
0,1417	0,1500	0,7083	0,3668	0,0211	0,6120	1,082550	1,3894		0,0059	0,1978	0,7963	1,194627	1,3651		0,7686	0,4019	0,4895	16,7
0,1109	0,1488	0,7402	0,3967	0,0172	0,5860	1,084305	1,3935		0,0031	0,2118	0,7851	1,205820	1,3649		0,7464	0,4391	0,4943	8,63

**Tabela 5.37. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PEG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	$CLA$	$ILA$	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g\cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g\cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$				
0,2484	0,0936	0,6580	0,3722	0,0304	0,5975	1,093110	1,3896		0,0105	0,2443	0,7453	1,246936	1,3713		0,8017	0,4202	0,5914	9,21
0,2630	0,1051	0,6319	0,4119	0,0235	0,5646	1,093214	1,3947		0,0044	0,2703	0,7254	1,276282	1,3746		0,7784	0,4764	0,6056	7,95
0,2803	0,1152	0,6045	0,4528	0,0178	0,5293	1,095344	1,4010		0,0013	0,3005	0,6982	1,305758	1,3775		0,7582	0,5327	0,6261	9,95

**Tabela 5.38. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	$CLA$	$ILA$	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g\cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g\cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$				
0,1936	0,0674	0,7390	0,4213	0,0153	0,5635	1,047110	1,3981		0,0602	0,1010	0,8388	1,099801	1,3579		0,6718	0,3711	0,2375	1,56
0,2030	0,0744	0,7226	0,4217	0,0152	0,5631	1,043888	1,3938		0,0396	0,1161	0,8443	1,114096	1,3579		0,6670	0,3952	0,2641	1,13
0,2137	0,0783	0,7080	0,3886	0,0183	0,5931	1,042513	1,3865		0,0316	0,1239	0,8446	1,121752	1,3584		0,7022	0,3724	0,2957	6,78
0,2293	0,0800	0,6908	0,4989	0,0098	0,4914	1,041699	1,4027		0,0231	0,1341	0,8429	1,131818	1,3590		0,5829	0,4918	0,2612	0,19
0,2616	0,0938	0,6445	0,5940	0,0055	0,4005	1,039817	1,4128		0,0115	0,1552	0,8333	1,151076	1,3593		0,4806	0,6015	0,2569	2,36
0,2785	0,1060	0,6155	0,6735	0,0033	0,3232	1,038254	1,4202		0,0045	0,1811	0,8144	1,174574	1,3613		0,3968	0,6923	0,2657	1,84

**Tabela 5.39. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	CLA	ILA	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	pH	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	pH				
0,1168	0,0872	0,7960	0,3531	0,0220	0,6249	1,059259	1,3876		0,0065	0,1167	0,8769	1,113990	1,3522		0,7127	0,3593	0,2732	0,51
0,2184	0,0813	0,7003	0,4733	0,0151	0,5116	1,065639	1,4035		0,0009	0,1437	0,8554	1,139888	1,3552		0,5981	0,4897	0,2723	2,55
0,2554	0,0943	0,6503	0,5327	0,0106	0,4567	1,067805	1,4111		0,0003	0,1711	0,8286	1,166554	1,3588		0,5512	0,5560	0,3014	0,10
0,2697	0,1072	0,6231	0,5801	0,0074	0,4125	1,069795	1,4173		0,0003	0,1998	0,8000	1,194411	1,3625		0,5157	0,6109	0,3318	2,63
0,3359	0,1172	0,5469	0,6287	0,0018	0,3695	1,069637	1,4233	8,00	0,0043	0,2526	0,7431	1,245746	1,3693	4,70	0,4973	0,6729	0,4017	1,88

**Tabela 5.40. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PPG400 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	CLA	ILA	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	pH	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	pH				
0,2602	0,0842	0,6556	0,4703	0,0200	0,5097	1,045550	1,4007	7,85	0,0741	0,1352	0,7907	1,106623	1,3672	7,57	0,6446	0,4126	0,2908	2,51
0,2785	0,0886	0,6329	0,5281	0,0146	0,4573	1,043360	1,4073	7,85	0,0549	0,1498	0,7953	1,117620	1,3682	7,58	0,5750	0,4922	0,2858	2,18
0,3006	0,0904	0,6090	0,5556	0,0125	0,4319	1,042343	1,4103	7,90	0,0422	0,1616	0,7962	1,126537	1,3691		0,5425	0,5346	0,2904	3,12
0,3419	0,0961	0,5619	0,6295	0,0081	0,3623	1,040000	1,4180	8,25	0,0213	0,1889	0,7898	1,146382	1,3709	7,80	0,4588	0,6345	0,2972	2,07
0,3879	0,0998	0,5123	0,6874	0,0057	0,3069	1,038206	1,4236	8,10	0,0098	0,2162	0,7740	1,165970	1,3744	7,70	0,3965	0,7095	0,3106	0,88
0,4346	0,1070	0,4583	0,7605	0,0036	0,2358	1,035881	1,4299	8,40	0,0020	0,2624	0,7356	1,192870	1,3789		0,3206	0,8015	0,3411	6,50

**Tabela 5.41. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	CLA	ILA	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	pH	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	pH				
0,2233	0,0682	0,7085	0,2835	0,0502	0,6663	1,068570	1,3826	7,40	0,0249	0,1346	0,8405	1,105383	1,3609	7,20	0,7927	0,2721	0,3264	1,38
0,2559	0,0803	0,6638	0,3914	0,0344	0,5743	1,067894	1,3952	7,50	0,0049	0,1698	0,8253	1,129720	1,3642	7,40	0,6958	0,4095	0,3503	1,31
0,2774	0,0917	0,6309	0,4546	0,0271	0,5183	1,068979	1,4029	7,70	0,0002	0,1963	0,8035	1,149046	1,3680	7,50	0,6450	0,4849	0,3724	1,19
0,3374	0,1022	0,5604	0,5472	0,0169	0,4358	1,070898	1,4143	8,10	0,0002	0,2500	0,7497	1,188784	1,3766	8,10	0,5813	0,5946	0,4262	3,63
0,3709	0,1048	0,5243	0,5903	0,0120	0,3976	1,071667	1,4195	7,90	0,0004	0,2776	0,7220	1,209041	1,3808	7,80	0,5508	0,6470	0,4502	5,24

**Tabela 5.42. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico PPG<sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	$CLA$	$ILA$	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$				
0,2791	0,0967	0,6241	0,4479	0,0302	0,5218	1,051130	1,4013	4,70	0,0872	0,1612	0,7516	1,114934	1,3737	4,50	0,6943	0,3838	0,3631	4,39
0,2945	0,1071	0,5983	0,5150	0,0213	0,4638	1,047417	1,4087	4,80	0,0599	0,1845	0,7556	1,130924	1,3757	4,50	0,6138	0,4835	0,3588	5,72
0,3192	0,1160	0,5648	0,5748	0,0153	0,4099	1,045853	1,4168	5,10	0,0384	0,2089	0,7527	1,147362	1,3774	4,80	0,5445	0,5703	0,3609	7,08
0,3389	0,1215	0,5396	0,6018	0,0132	0,3851	1,044300	1,4191	5,10	0,0261	0,2280	0,7459	1,160093	1,3789	4,60	0,5163	0,6145	0,3732	8,66
0,3617	0,1264	0,5119	0,6446	0,0103	0,3451	1,042314	1,4231	5,10	0,0176	0,2459	0,7365	1,172046	1,3809	4,70	0,4685	0,6698	0,3757	8,32
0,3774	0,1322	0,4905	0,6828	0,0082	0,3090	1,040230	1,4260	5,10	0,0091	0,2735	0,7175	1,188136	1,3827		0,4307	0,7240	0,3937	3,16

**Tabela 5.43. Dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema aquoso bifásico L35 (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C.**

Alimentação			Fase Superior						Fase Inferior						$K_3$	$CLA$	$ILA$	$d$ ( $\times 10^3$ )
$w_1$	$w_2$	$w_3$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$	$w_1$	$w_2$	$w_3$	$\rho$ ( $g \cdot cm^{-3}$ )	$n$	$pH$				
0,2149	0,1074	0,6777	0,3460	0,0470	0,6070	1,075218	1,3919	4,45	0,0253	0,1833	0,7914	1,133197	1,3690	4,40	0,7670	0,3485	0,4251	4,07
0,2193	0,1163	0,6643	0,3761	0,0416	0,5823	1,074884	1,3955	4,55	0,0173	0,1973	0,7854	1,142835	1,3706	4,40	0,7414	0,3911	0,4340	5,83
0,2487	0,1098	0,6415	0,3980	0,0380	0,5639	1,074661	1,3981	4,60	0,0131	0,2070	0,7799	1,149265	1,3719	4,40	0,7231	0,4204	0,4391	5,42
0,2794	0,1155	0,6051	0,4489	0,0308	0,5204	1,075198	1,4045	4,83	0,0066	0,2296	0,7638	1,166660	1,3757	4,54	0,6813	0,4849	0,4497	7,46
0,2998	0,1172	0,5830	0,4716	0,0279	0,5005	1,075649	1,4074	4,90	0,0025	0,2580	0,7395	1,177985	1,3782	4,50	0,6768	0,5225	0,4905	4,45
0,3219	0,1266	0,5515	0,5119	0,0234	0,4647	1,076298	1,4125	5,10	0,0002	0,3168	0,6830	1,198710	1,3832	4,60	0,6803	0,5898	0,5732	5,27

Na Figura 5.13 está o diagrama de fases para o sistema PEG<sub>1000</sub> + NaSulf + água a 25 °C. Conforme descrito anteriormente, este SAB foi utilizado para validar a técnica experimental, comparando-se os dados determinados neste trabalho com os dados de Snyder *et al.* (1992), também mostrados na Figura 5.13. Com isso, verifica-se que em ambos os resultados as linhas de amarração passam muito próximas da alimentação, o que satisfaz o balanço de massa; as linhas de amarração apresentam inclinação similar; e os pontos de névoas obtidos neste trabalho concordam com os dados de ELL dos autores. Portanto, com estes resultados, a técnica empregada ficou validada para a construção dos outros sete diagramas de fases determinados neste trabalho.

Na Figura 5.14 é mostrado o sistema PEG<sub>400</sub> + NaSulf + água a 20 °C. Dados para este sistema nesta temperatura não foram encontrados na literatura até o momento. Porém sistemas com PEG + NaSulf já foram obtidos para PEG<sub>8000</sub>, PEG<sub>6000</sub>, PEG<sub>3350</sub>, PEG<sub>1550</sub>, PEG<sub>1450</sub> e PEG<sub>400</sub> a 25, 35 e 45 °C (ANANTHAPADMANABHAN e GODDARD, 1987; HAMMER *et al.*, 1994; MARTINS *et al.*, 2010b).

Na Figura 5.15 é apresentado o sistema PPG<sub>400</sub> + NaSulf + água a 20 °C. Dados de curva binodal, linhas de amarração e propriedades físicas de cada fase para este sistema não existem na literatura, porém o sistema já foi estudado a 25 °C (ZAFARANI-MOATTAR e SADEGHI, 2005), mas somente com medição da composição das fases envolvidas.

Na Figura 5.16 estão graficados os resultados para L35 + NaSulf + água a 20 °C. Na literatura são escassos os trabalhos sobre SABs com copolímeros bloco e sulfato de sódio. Podem ser citados os trabalhos de Silva *et al.* (2006), que mediram este sistema a 25 e 40 °C, o de Rodrigues *et al.* (2009), que utilizaram o copolímero L64 na determinação de diagrama de fases, e o de Martins *et al.* (2010a) que reportaram dados para F68 + NaSulf + água a 5, 15 e 25 °C. Nenhum desses trabalhos realizou a medição de propriedades físicas.

Na Figura 5.17 estão a curva binodal e as linhas de amarração par o sistema PPG<sub>400</sub> + NaTart + água a 20 °C. O sistema L35 + NaTart + água a 20 °C é mostrado na Figura 5.18.

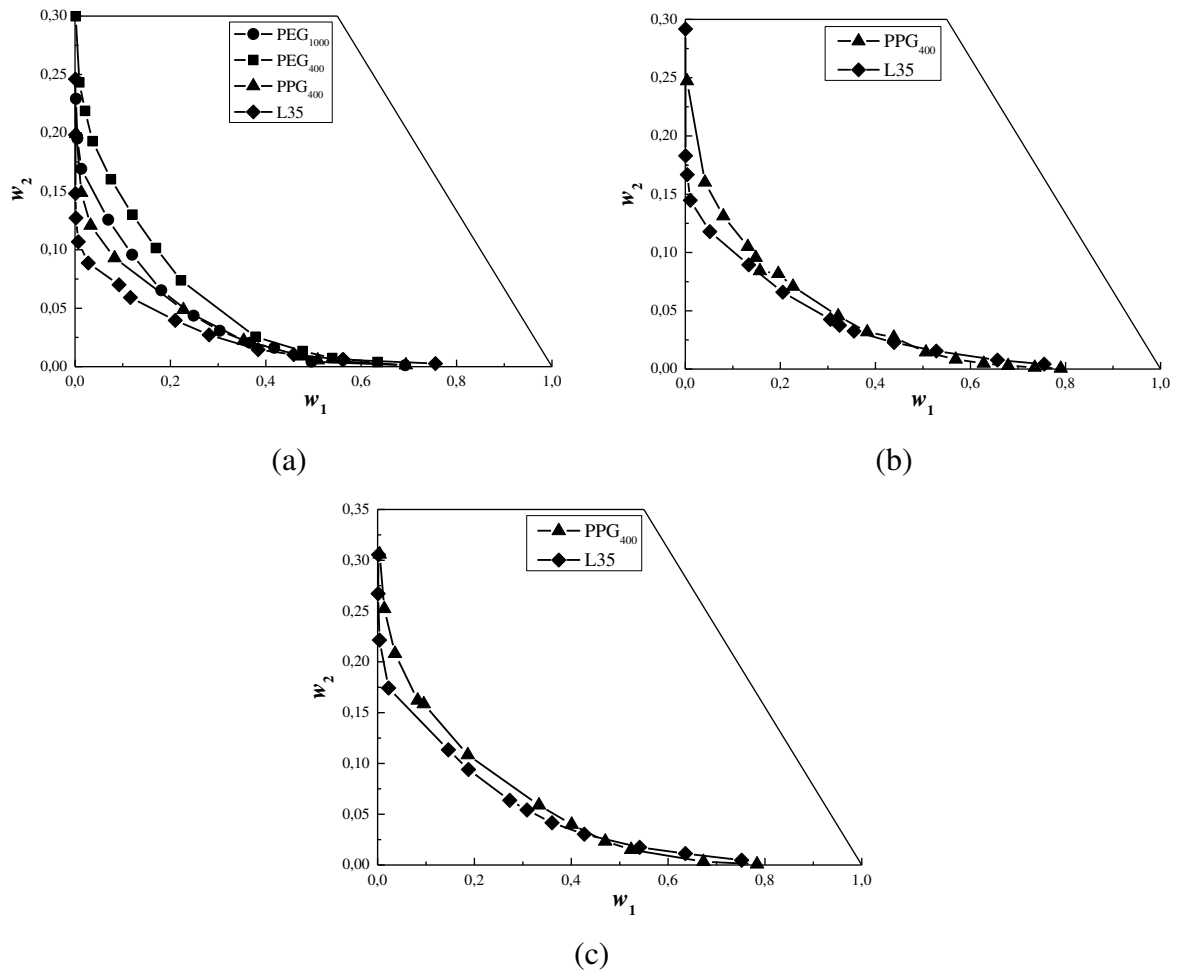
Os sistemas com NaCit a 20 °C estão mostrados na Figura 5.19, para PPG<sub>400</sub>, e na Figura 5.20, para L35. Estes sistemas foram abordados somente por alguns trabalhos na literatura envolvendo PPG<sub>400</sub> e L35 e sais biodegradáveis de sódio: Zafarani-Moattar *et al.* (2008) estudaram o sistema PPG<sub>400</sub> + citrato tripotássico em diferentes temperaturas, Hamzehzadeh e Zafarani-Moattar (2014) estudaram o sistema PPG<sub>400</sub> + citrato de sódio/ácido cítrico em diferentes pHs, Martins *et al.* (2009) estudaram os sistemas com L35 e citrato de sódio e tartarato de sódio nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C, e Virtuoso *et al.* (2012) reportaram dados de linhas de amarração para citrato de sódio e tartarato de sódio nas temperaturas de 15,

35 e 45 °C. Nesses trabalhos, mais uma vez não houve medição de alguma propriedade termofísica.

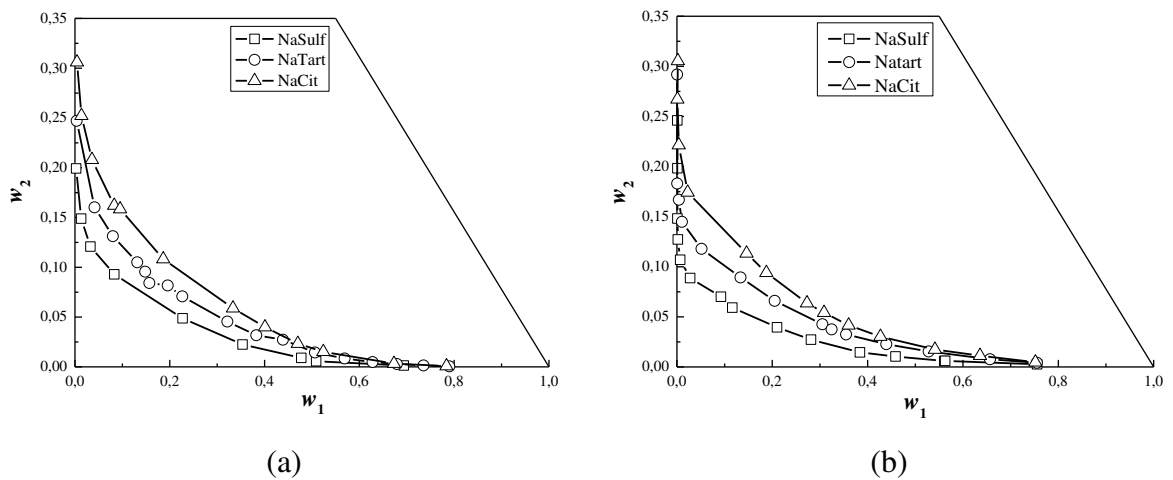
As curvas binodais dos sistemas que utilizam NaSulf, NaTart e NaCit podem ser comparadas em função do polímero estudado. Na Figura 5.21 estão mostradas estas comparações para cada tipo de sal. A influência do sal no perfil da curva binodal pode ser comparada para cada polímero também, conforme mostrado na Figura 5.22 para o PPG<sub>400</sub> e o L35.

Dos resultados presentes nas Figuras 5.21 e 5.22, verifica-se que os sistemas com L35 ou NaSulf apresentam maior região heterogênea que com os outros polímeros ou sais, sendo o sistema L35 + NaSulf + água a 20 °C o SAB estudado neste trabalho que apresenta a maior região bifásica.





**Figura 5.21. Curvas binodais para polímeros + sal + água a 20 °C: (a) NaSulf, (b) NaTart e (c) NaCit.**



**Figura 5.22. Curvas binodais para polímero + sais + água a 20 °C: (a) PPG400, (b) L35.**

### 5.3.3. Propriedades termofísicas nos SABs

Os dados de densidade e índice de refração *versus* a fração mássica de água para os SABs estudados foram avaliados com os dados das Tabelas 5.3 a 5.9, 5.18 a 5.20 e 5.28 a 5.35. Estes resultados estão graficados nas Figuras 5.23 e 5.24.

Para a densidade, em todos os casos a fase salina é mais densa que a fase polimérica. Além disso verifica-se que os dados da curva binodal estão de acordo com os dados binários de {polímero ou sal} + água, isto é, as curvas binodais mostradas como densidade em função da fração mássica de água se situam entre as curvas de cada binário. O sistema com PEG<sub>1000</sub> não está mostrado pois a binodal foi determinada a 25 °C.

Os resultados mostrados na Figura 5.24 indicam que, apesar de os índices de refração de cada fase terem diferentes valores, conforme está nas Tabelas 5.27 a 5.34, a sua variação com a fração mássica de água é linear e praticamente invariante para frações mássicas de água entre 0,7 e 1,0, considerando os sistemas binários e ternários estudados neste trabalho. Na Figura 5.24h é mostrada esta relação linear, em que é possível aferir que se qualquer dos sistemas conter 70% em massa de água, por exemplo, o índice de refração será aproximadamente igual a 1,3794. Esta relação linear foi obtida com o ajuste de todos os dados por uma equação da reta na faixa de frações citadas acima.

A partir destes resultados, sugere-se a possibilidade de substituir técnicas baseadas na liofilização, comumente empregadas em estudos sobre SABs, por técnicas, ou curvas de calibração, obtidas por meio da refratometria.

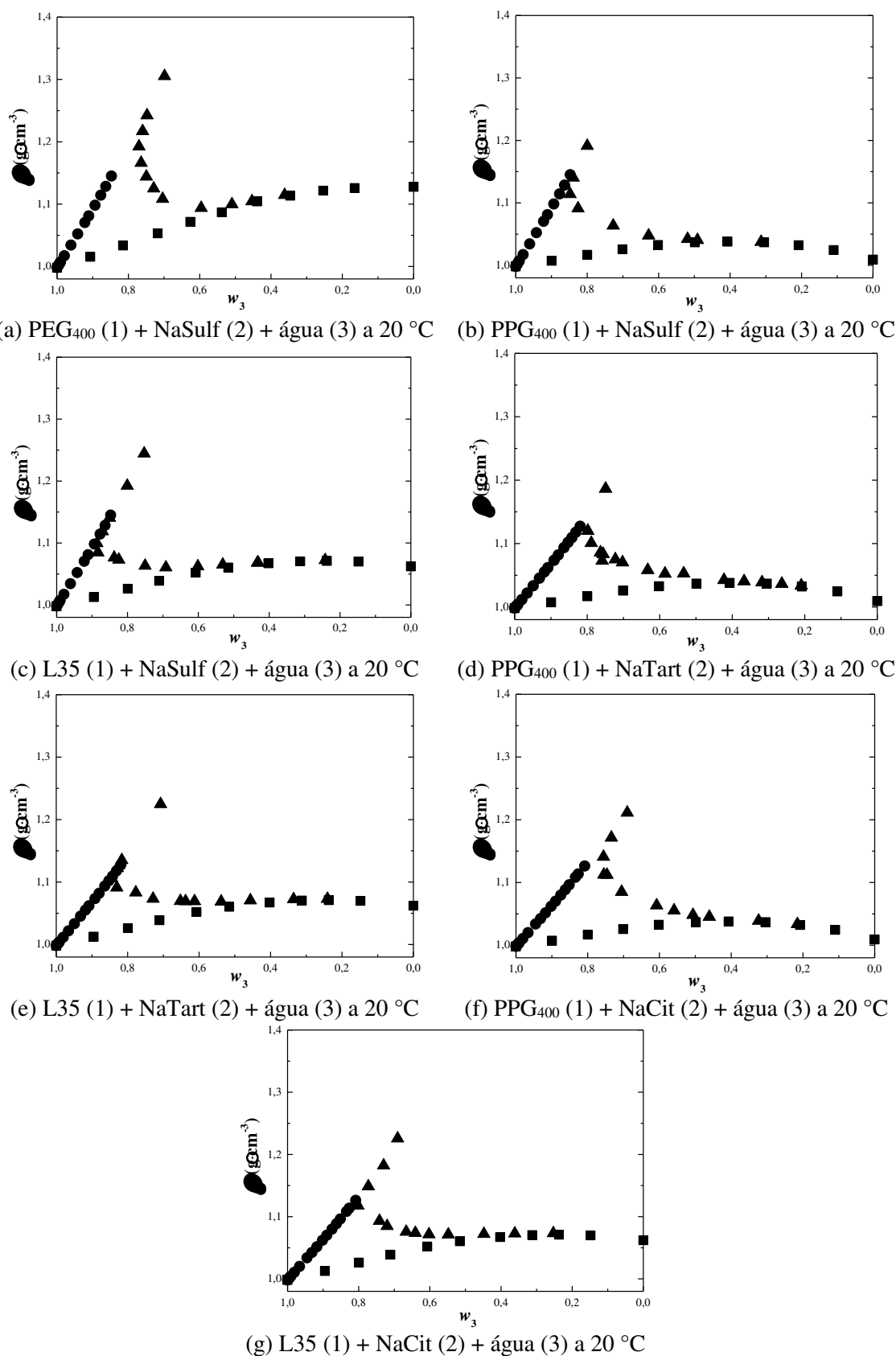
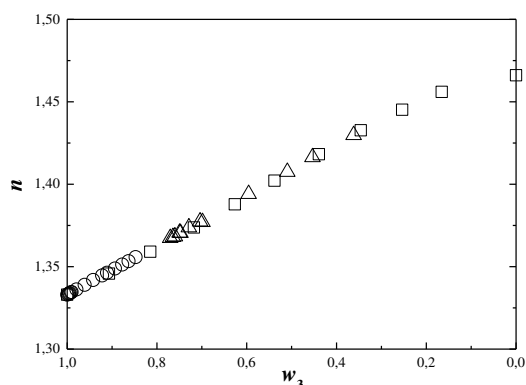
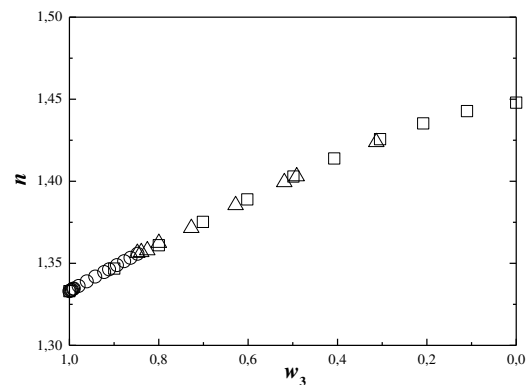
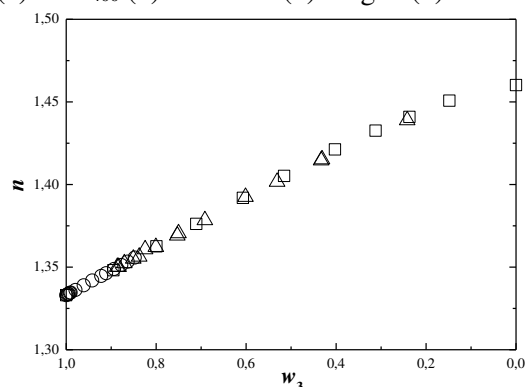
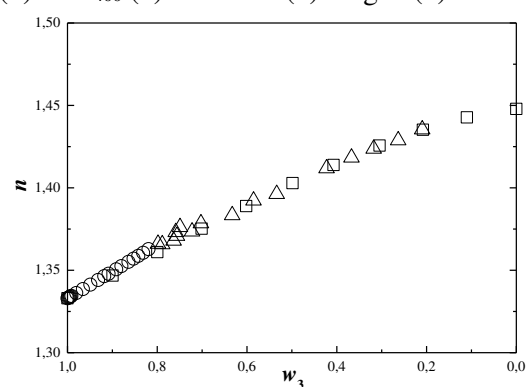
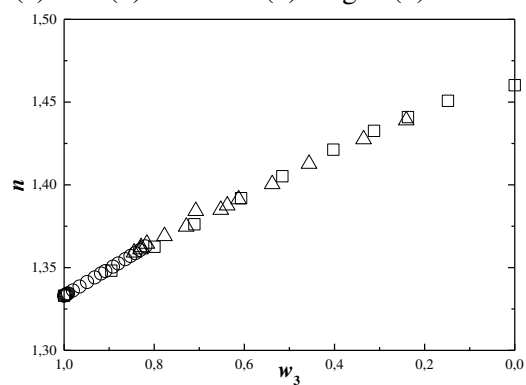


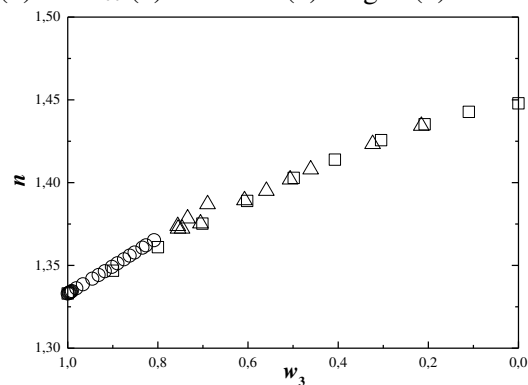
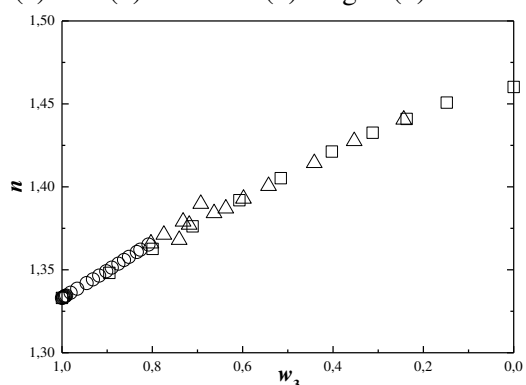
Figura 5.23. Densidade *versus* fração mássica de água para os sistemas estudados: ■, polímero + água; ●, sal + água; ▲, curva binodal.

(a) PEG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C(b) PPG<sub>400</sub> (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C

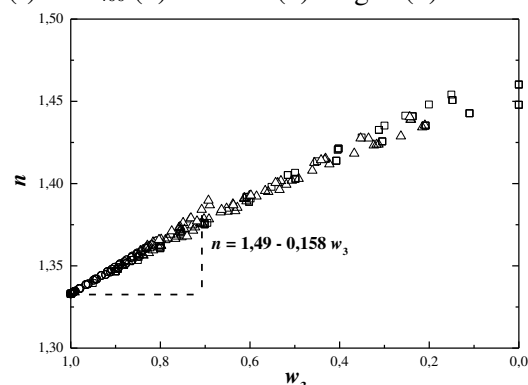
(c) L35 (1) + NaSulf (2) + água (3) a 20 °C

(d) PPG<sub>400</sub> (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C

(e) L35 (1) + NaTart (2) + água (3) a 20 °C

(f) PPG<sub>400</sub> (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C

(g) L35 (1) + NaCit (2) + água (3) a 20 °C



(h) Todos sistemas.

**Figura 5.24.** Índice de refração *versus* fração mássica de água para os sistemas estudados: □, polímero + sal; ○, sal + água; △, curva binodal.

### 5.3.4. Modelagem com NRTL em frações mássicas

Os resultados da modelagem com NRTL em frações mássicas estão mostrados nas Figuras 5.13, 5.14 e 5.16. Os parâmetros ajustados para estes sistemas estão mostrados na Tabela 5.44, em que os parâmetros  $A_{0,ij}$  e  $A_{0,ji}$  para o par Água-NaSulf foram mantidos iguais para os três sistemas.

**Tabela 5.44. Parâmetros do NRTL em frações mássicas obtidos para os sistemas em que foi possível realizar a modelagem.**

<i>i</i>	<i>j</i>	$A_{0,ij}$	$A_{0,ji}$
<i>Sistema PEG<sub>1000</sub> + NaSulf + Água a 25 °C (<math>\Delta w = 0,32</math> %)</i>			
PEG <sub>1000</sub>	Água	-1623,9	3457,9
PEG <sub>1000</sub>	NaSulf	-207,71	5256,0
Água	NaSulf	2560,8	-1134,0
<i>Sistema PEG<sub>400</sub> + NaSulf + Água a 20 °C (<math>\Delta w = 0,54</math> %)</i>			
PEG <sub>400</sub>	Água	-203,99	6758,4
PEG <sub>400</sub>	NaSulf	620,30	1089,3
<i>Sistema L35 + NaSulf + Água a 20 °C (<math>\Delta w = 1,09</math> %)</i>			
L35	Água	-1618,5	3379,3
L35	NaSulf	1046,1	5671,5

Verifica-se nas Figuras 5.13, 5.14 e 5.16 e nos valores de  $\Delta w$  indicados na Tabela 5.44 que o NRTL em frações mássicas correlaciona os dados experimentais relativamente bem. Exceção para o sistema com L35 em que há linhas de amarração calculadas que não sobrepõem as experimentais.

Diversas formas de correlação dos parâmetros foram testadas sem sucesso para os outros cinco sistemas estudados, tais como: separação dos sistemas em diferentes arquivos de entrada; minimização do passo para construção da binodal; aumento do número de iterações; diminuição do critério de parada com funções objetivos menores que  $10^{-10}$ ; e, uma vez que o código utilizado desenvolvido por Stragevich e D'ávila (1997), *WTML - Special version of TML-LLE2 for mass fractions*, somente considera as massas molares dos compostos matematicamente, também foi testado um código desenvolvido por Stragevich e D'ávila (1997) anterior ao *WTML*, isto é, o *TML* em frações molares. Cabe ressaltar que o código não realiza a minimização global de parâmetros, uma vez que eles devem ser realimentados ao fim de cada

corrida para ajuste de novos parâmetros e, também, não menciona a resolução de problemas *stiff* em que a variável calculada, frações mássicas no caso deste trabalho, oscila entre baixos e elevados valores dentro de um passo de cálculo.

Com base nestas informações é possível justificar uma hipótese para a ausência de resultados de modelagem dos outros cinco sistemas mostrados nas Figuras 5.15, e 5.17 a 5.20.

#### 5.4. SISTEMAS QUATERNÁRIOS – PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

Dos sistemas ternários estudados, aqueles que contêm PPG<sub>400</sub> e L35 foram escolhidos para o estudo da partição de albumina de soro bovino e lisozima a 20 °C, conforme descrito na Seção 3.3.3.3.

As curvas de calibração obtidas para cada biomolécula foram construídas com base nas concentrações de biomolécula e nos valores médios de absorvância, reportados na Tabela 5.45, e estão mostradas na Figura 5.25, juntamente com o ajuste linear realizado em cada uma delas utilizando-se a Equação 3.13, cujos parâmetros ajustados estão mostrados na Tabela 5.46.

**Tabela 5.45. Concentrações de biomolécula e valores médios de absorvância obtidos para soluções aquosas de BSA e LIS.**

BSA				LIS			
$C_b$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$A_{UV}$	$C_b$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$A_{UV}$	$C_b$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$A_{UV}$	$C_b$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$A_{UV}$
0,0110	0,0099	0,3804	0,2006	0,0120	0,0306	0,2621	0,6337
0,0216	0,0255	0,4789	0,2799	0,0250	0,0615	0,2715	0,6892
0,0319	0,0314	0,5446	0,3606	0,0353	0,0847	0,3112	0,7729
0,0435	0,0279	0,6141	0,4072	0,0473	0,1036	0,3474	0,8589
0,0536	0,0328	0,6264	0,3759	0,0593	0,1220	0,3753	1,0309
0,0639	0,0328	0,7142	0,4232	0,0704	0,1383	0,3768	0,8857
0,0743	0,0390	0,7216	0,5187	0,0814	0,1675	0,4126	1,0626
0,0854	0,0430	0,8191	0,4709	0,0875	0,1877	0,4728	1,1533
0,0935	0,0479	0,9001	0,5139	0,0951	0,1729	0,5079	1,2018
0,0959	0,0539	0,9324	0,5740	0,1025	0,1837	0,5726	1,3528
0,1033	0,0512	1,0104	0,6050	0,1143	0,1922	0,6884	1,6835
0,1443	0,0654	1,0962	0,6833	0,1589	0,2394	0,8046	1,7659
0,1675	0,1091	1,3367	0,8831	0,1746	0,4374	0,9020	1,9310
0,2288	0,1085	1,4797	0,9038	0,1874	0,4384	0,9619	2,2303
0,2906	0,1683	1,7026	1,0386	0,2126	0,5077	1,0429	2,3965
0,3538	0,2979			0,2458	0,6428		

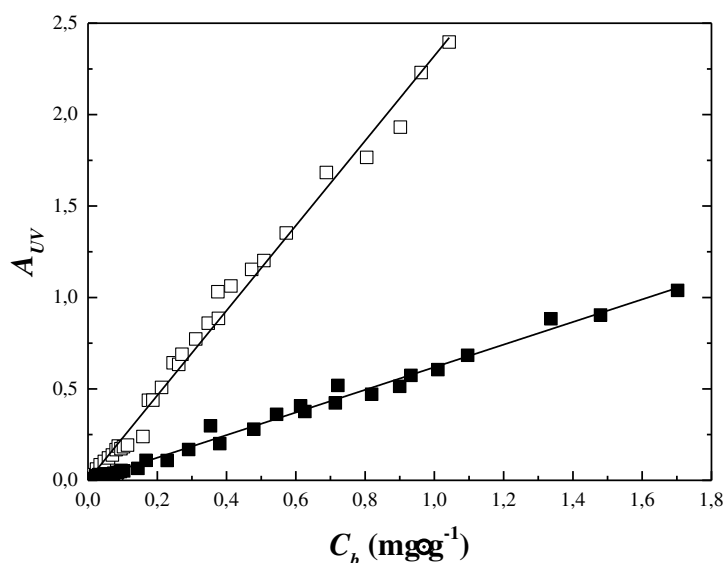


Figura 5.25. Curvas de calibração obtidas para BSA (■) e LIS (□).

Tabela 5.46. Partição de biomoléculas e propriedades físicas de cada fase.

BSA			LIS		
<i>I</i> (g·mg <sup>-1</sup> )	MDA*	R <sup>2</sup>	<i>I</i> (g·mg <sup>-1</sup> )	MDA	R <sup>2</sup>
0,6185 ± 0,0076	0,0202	0,9978	2,3213 ± 0,0273	0,0471	0,9979

\* média dos desvios absolutos aplicada nos 31 pontos mostrados na Tabela 5.17.

Verifica-se nos dados apresentados que as duas curvas, para BSA e LIS, apresentam linearidade dentro da faixa de concentração de biomolécula estudada, o que é indicado pela baixa média dos desvios absolutos e pelos valores de  $R^2$ . Além disso, BSA apresenta menores valores de absorbância que a LIS. Isto é explicado pela quantidade de três aminoácidos presentes nas estruturas destas biomoléculas (WALSH *et al.*, 2014), conforme mostrado na Tabela 5.47 e, juntamente, pelo fato de um deles, o triptofano, apresentar maior absorbância a 280 nm que os aminoácidos tirosina e fenilalanina (HAZRA *et al.*, 2014).

Tabela 5.47. Concentração de aminoácidos em BSA e LIS.\*

Aminoácido	Concentração (mol de aminoácido·kg <sup>-1</sup> de proteína)	
Aminoácido	BSA (PRATA e SGARBIERI, 2008)	LIS (LEWIS <i>et al.</i> , 1950)
Triptofano	0,04	0,52
Tirosina	0,28	0,20
Fenilalanina	0,41	0,26

\*quantidades apresentadas nas fontes foram recalculadas para mol·kg<sup>-1</sup>.



Para cada sistema quaternário estudado, após a separação e análise das fases, o coeficiente de partição da biomolécula ( $K_p$ ), dado pela Equação 2.3a, foi determinado. Nas Tabelas 5.48 a 5.53 e nas Figuras 5.26 e 5.27 estão apresentados estes resultados. Para BSA,  $K_p$  está representado como  $K_{BSA}$  e, para LIS,  $K_{LIS}$ . As concentrações de biomolécula ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) na fase superior e inferior estão descritas como  $C_{FI}$  e  $C_{FS}$ , respectivamente. Além disto, inseriu-se nos gráficos da Figura 5.26 o valor de  $K_p = 1$  para  $\Delta\rho = 0$ , uma vez que este é o ponto crítico do sistema.

Do exposto nas Tabelas 5.48 a 5.53 e Figuras 5.26 e 5.27, verificou-se que quanto mais diluída em biomolécula for a alimentação, maior é a partição. Cabe ressaltar, também, que os valores de pH para cada sistema é aproximadamente constante.

Os resultados obtidos indicam que, dos sistemas estudados aqui, nenhum sistema apresenta fase polimérica com maiores concentrações de biomolécula que a fase salina. Isto pode ser explicado por um efeito de *salting in*, em que o sal interage mais com a biomolécula alvo da partição que o polímero. Estes resultados estão em acordo com os resultados mostrados por Alves *et al.* (2000), Franco *et al.* (1996), Berggren *et al.* (1995), Virtuoso *et al.* (2010) em que BSA particiona preferencialmente para a fase rica em sal, exceto quando foi utilizado  $\text{NaClO}_4$ . Haghtalab *et al.* (2003) também mostraram que a lisozima particiona preferencialmente para a fase rica em sal. Para outra enzima, a lipase, também foi verificado este comportamento na literatura, conforme reportado por Souza *et al.* (2010).

A presença de um mínimo no coeficiente de partição da BSA foi constatado nos resultados apresentados. Na literatura, os trabalhos de Huddleston *et al.* (1996) e Nandini e Rastogi (2011) também indicam que há uma diminuição seguida de um aumento do coeficiente de partição à medida que o tamanho da linha de amarração aumenta. Nandini e Rastogi (2011) citam o volume livre como causa disto e uma consequência é a precipitação da proteína quando o limite de solubilidade é alcançado (ESLL). Os autores mostraram também que lipase particiona para a fase salina e que o  $K_e$  também apresenta um mínimo.

**Tabela 5.48. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema PPG<sub>400</sub> + NaSulf + água a 20 °C.**

$C_0$ (mg·g <sup>-1</sup> )	Alimentação		Fase superior				Fase inferior				Partição			
	$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$C_{FS}$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$C_{FI}$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$\Delta\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$\Delta n$	$\Delta\text{pH}$	$K_p$
<i>Partição de BSA</i>														
0,9981	0,1930	0,0657	1,048006	1,3849		0,4626	1,095714	1,3592		1,3517	0,0477	0,0257		0,342
5,0603	0,1930	0,0658	1,047602	1,3855		0,6024	1,098071	1,3593		6,7133	0,0505	0,0262		0,090
	0,2230	0,0759	1,042544	1,3988		0,8221	1,123182	1,3585		6,5408	0,0806	0,0403		0,126
10,0142	0,1920	0,0661	1,047177	1,3862		0,6344	1,100039	1,3604		13,2608	0,0529	0,0258		0,048
	0,2226	0,0764	1,042341	1,3995		0,7388	1,124793	1,3597		12,7630	0,0825	0,0399		0,058
	0,2589	0,0898	1,039977	1,4126		1,5941	1,151087	1,3609		11,8466	0,1111	0,0517		0,135
<i>Partição de LIS</i>														
0,9976	0,1935	0,0657	1,047852	1,3853		0,2821	1,096987	1,3592		1,2577	0,0491	0,0261		0,224
	0,2221	0,0760	1,042689	1,3979		0,2668	1,121715	1,3582		1,2952	0,0790	0,0397		0,206
	0,2611	0,0898	1,040122	1,4113		0,4195	1,150040	1,3592		1,2402	0,1099	0,0521		0,338
5,1743	0,1916	0,0685	1,046308	1,3880		0,6543	1,102763	1,3592		6,7732	0,0565	0,0288		0,097
	0,2232	0,0754	1,042639	1,3986		0,4753	1,123345	1,3589		7,0536	0,0807	0,0397		0,067
	0,2612	0,0894	1,040073	1,4117		0,8067	1,151033	1,3600		6,6778	0,1110	0,0518		0,121
9,9022	0,1930	0,0657	1,047135	1,3868		1,1176	1,099123	1,3610		12,6430	0,0520	0,0258		0,088
	0,2208	0,0761	1,042473	1,3994		0,3071	1,123632	1,3598		12,8763	0,0812	0,0396		0,024
	0,2594	0,0895	1,040060	1,4122		0,2277	1,151059	1,3612		12,1181	0,1110	0,0510		0,019

**Tabela 5.49. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema PPG<sub>400</sub> + NaTart + água a 20 °C.**

$C_0$ (mg·g <sup>-1</sup> )	Alimentação		Fase superior				Fase inferior				Partição			
	$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$C_{FS}$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$C_{FI}$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$\Delta\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$\Delta n$	$\Delta pH$	$K_p$
<i>Partição de BSA</i>														
1,0025	0,2553	0,0716	1,051564	1,3927	7,50	0,5466	1,090748	1,3701	7,00	0,7668	0,0392	0,0226	0,5	0,713
	0,3162	0,0914	1,041590	1,4133	7,60	0,4915	1,132791	1,3700	7,00	0,6183	0,0912	0,0434	0,6	0,795
5,0142	0,2514	0,0716	1,052376	1,3912	6,95	0,7032	1,089561	1,3706	6,70	6,7434	0,0372	0,0206	0,3	0,104
	0,2858	0,0832	1,044127	1,4046	7,20	0,8147	1,115402	1,3693	6,70	6,1442	0,0713	0,0353	0,5	0,133
	0,3161	0,0913	1,041419	1,4125	7,40	0,9681	1,132746	1,3704	6,70	5,8631	0,0913	0,0421	0,7	0,165
10,0293	0,2513	0,0720	1,047697	1,3961	6,80	0,8098	1,088109	1,3708	6,50	10,9870	0,0404	0,0252	0,3	0,074
	0,2870	0,0833	1,042762	1,4085	7,10	0,7250	1,113180	1,3697	6,50	11,4513	0,0704	0,0388	0,6	0,063
	0,3158	0,0914	1,040377	1,4162	7,40	0,8288	1,130042	1,3708	6,60	10,6737	0,0897	0,0454	0,8	0,078
<i>Partição de LIS</i>														
1,0992	0,2553	0,0738	1,048603	1,3958	6,90	0,9286	1,091859	1,3684	6,70	5,7828	0,0433	0,0275	0,20	0,161
	0,2945	0,0845	1,043098	1,4089	7,10	0,5267	1,116704	1,3687	6,80	5,8330	0,0736	0,0402	0,30	0,090
	0,3313	0,0944	1,040390	1,4178	7,40	0,6353	1,138476	1,3706	6,80	5,9145	0,0981	0,0472	0,60	0,107
4,9809	0,2576	0,0728	1,043809	1,4050	6,60	1,0286	1,092289	1,3656	6,30	25,1619	0,0485	0,0394	0,30	0,041
	0,2916	0,0835	1,040955	1,4154	6,90	0,8786	1,110587	1,3664	6,40	23,6671	0,0696	0,0490	0,50	0,037
	0,3304	0,0962	1,038900	1,4219	7,00	0,7158	1,136104	1,3689	6,40	23,8359	0,0972	0,0530	0,60	0,030
10,0573	0,2590	0,0724	1,047919	1,3968	6,80	2,6235	1,093526	1,3708	6,50	51,1024	0,0456	0,0260	0,3	0,051
	0,2931	0,0840	1,042880	1,4093	6,70	0,6280	1,118736	1,3704	6,50	50,6888	0,0759	0,0389	0,2	0,012
	0,3306	0,0950	1,040065	1,4186	7,00	0,5145	1,141708	1,3720	6,40	47,8068	0,1016	0,0466	0,6	0,011

**Tabela 5.50. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema PPG<sub>400</sub> + NaCit + água a 20 °C.**

$C_0$ (mg·g <sup>-1</sup> )	Alimentação		Fase superior				Fase inferior				Partição			
	$w_1$	$w_2$	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$C_{FS}$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$n$	pH	$C_{FI}$ (mg·g <sup>-1</sup> )	$\Delta\rho$ (g·cm <sup>-3</sup> )	$\Delta n$	$\Delta pH$	$K_p$
<i>Partição de BSA</i>														
1,0011	0,2921	0,0898	1,053142	1,4001	5,00	0,2652	1,117590	1,3738	4,90	1,6040	0,0644	0,0263	0,1	0,165
	0,3302	0,1009	1,047069	1,4103	5,10	0,4574	1,142296	1,3765	4,90	1,4947	0,0952	0,0338	0,2	0,306
5,1429	0,2944	0,0895	1,052454	1,4005	5,10	0,2576	1,119316	1,3752	4,90	6,0953	0,0669	0,0253	0,2	0,042
	0,3310	0,1011	1,046576	1,4111	5,20	0,3518	1,143016	1,3772	4,85	5,7230	0,0964	0,0339	0,4	0,061
	0,3588	0,1091	1,043900	1,4177	5,10	0,5475	1,160275	1,3797	4,60	5,8274	0,1164	0,0380	0,5	0,094
10,2546	0,2937	0,0889	1,051079	1,4019	4,90	0,5181	1,115506	1,3761	4,70	12,7995	0,0644	0,0258	0,2	0,040
	0,3301	0,1016	1,045603	1,4133	4,90	0,5249	1,140703	1,3775	4,60	11,5893	0,0951	0,0358	0,3	0,045
	0,3593	0,1091	1,043068	1,4190	5,00	0,6409	1,157709	1,3797	4,60	10,6179	0,1146	0,0393	0,4	0,060
<i>Partição de LIS</i>														
0,9959	0,2912	0,0877	1,053863	1,3997	4,80	0,2328	1,113502	1,3738	4,60	1,5981	0,0596	0,0259	0,2	0,146
1,0203	0,3305	0,1015	1,043515	1,4167	5,00	0,2756	1,132511	1,3729	4,50	1,4544	0,0890	0,0438	0,5	0,189
0,9959	0,3608	0,1095	1,043752	1,4192	4,90	0,2329	1,158863	1,3787	4,50	1,3591	0,1151	0,0405	0,4	0,171
5,0548	0,2938	0,0884	1,053066	1,4034	4,85	1,8653	1,100890	1,3767	4,60	6,1842	0,0478	0,0267	0,3	0,302
5,0548	0,3301	0,1014	1,047637	1,4116	4,80	1,0586	1,137263	1,3775	4,40	6,6041	0,0896	0,0341	0,4	0,160
5,0480	0,3583	0,1085	1,044952	1,4174	5,30	0,5446	1,156893	1,3797	4,60	6,2546	0,1119	0,0377	0,7	0,087

**Tabela 5.51. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema L35 + NaSulf + água a 20 °C.**

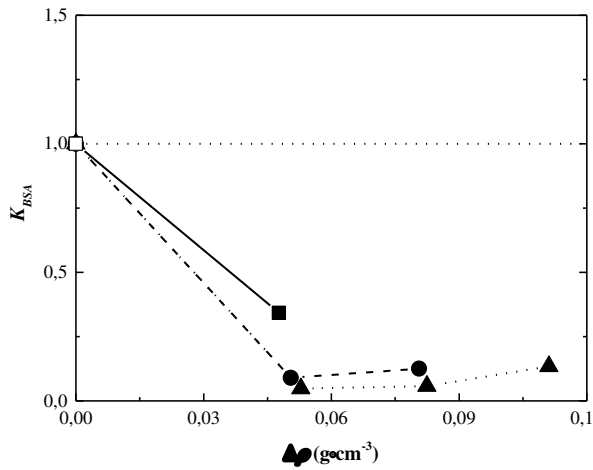
$C_0$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Alimentação		Fase superior				Fase inferior				Partição			
	$w_1$	$w_2$	$\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$n$	pH	$C_{FS}$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$n$	pH	$C_{FI}$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\Delta\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$\Delta n$	$\Delta\text{pH}$	$K_p$
<i>Partição de BSA</i>														
5,0673	0,1861	0,0673	1,061292	1,3884	5,1	1,6365	1,116885	1,3536	5,3	7,9790	0,0556	0,0348	0,2	0,205
5,0530	0,2185	0,0771	1,063552	1,3978	6,3	1,7750	1,140448	1,3565	6,0	7,1794	0,0769	0,0413	0,3	0,247
5,0530	0,2577	0,0891	1,066692	1,4074	6,6	2,3371	1,171664	1,3610	6,0	6,5505	0,1050	0,0465	0,6	0,357
	0,1872	0,0669	1,061235	1,3890	6,3	1,7745	1,117605	1,3547	5,7	14,6883	0,0564	0,0343	0,6	0,121
9,9040	0,2167	0,0769	1,063378	1,3949	6,4	3,0805	1,140653	1,3575	5,7	13,5804	0,0773	0,0375	0,7	0,227
	0,2554	0,0899	1,066559	1,4078	6,3	2,7299	1,172929	1,3621	5,7	12,5793	0,1064	0,0458	0,6	0,217
<i>Partição de LIS</i>														
1,1014	0,1881	0,0664	1,061259	1,3881	5,50	0,5327	1,114170	1,3525	5,20	1,6918	0,0529	0,0356	0,30	0,315
	0,2189	0,0769	1,062748	1,3976	5,60	0,5417	1,138803	1,3554	5,15	1,5928	0,0761	0,0422	0,45	0,340
5,0480	0,1583	0,0562	1,062075	1,3737	4,45	1,8597	1,090311	1,3524	4,30	4,6552	0,0282	0,0212	0,15	0,399
5,0480	0,1786	0,0641	1,060895	1,3847	4,80	0,9159	1,108840	1,3527	4,40	4,5944	0,0479	0,0320	0,40	0,199
5,0779	0,1865	0,0659	1,061279	1,3873	5,30	1,0894	1,114727	1,3530	4,90	7,4233	0,0534	0,0343	0,40	0,147
10,0334	0,1588	0,0557	1,062205	1,3747	4,80	3,2148	1,090466	1,3520	4,60	9,4454	0,0283	0,0227	0,20	0,340
10,0334	0,1796	0,0634	1,060780	1,3852	5,00	1,5321	1,108212	1,3539	4,65	9,1865	0,0474	0,0313	0,35	0,167
9,9777	0,1867	0,0667	1,061471	1,3891	4,50	1,0510	1,115415	1,3542	4,20	9,4593	0,0539	0,0349	0,30	0,111

**Tabela 5.52. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema L35 + NaTart + água a 20 °C.**

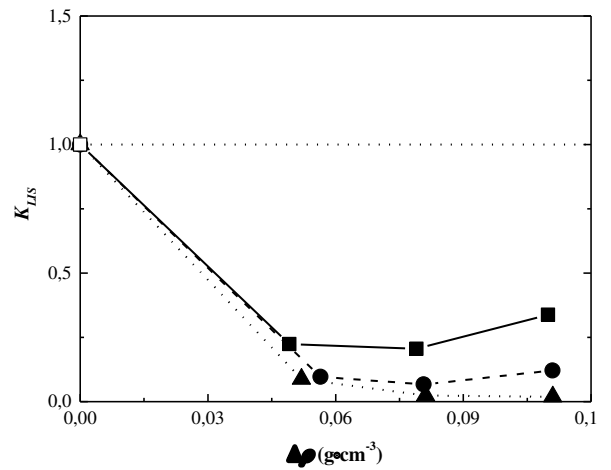
$C_0$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Alimentação		Fase superior				Fase inferior				Partição			
	$w_1$	$w_2$	$\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$n$	pH	$C_{FS}$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$n$	pH	$C_{FI}$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\Delta\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$\Delta n$	$\Delta\text{pH}$	$K_p$
<i>Partição de BSA</i>														
5,0603	0,2485	0,0719	1,067577	1,3914	7,14	1,5394	1,123687	1,3646	6,73	10,6423	0,0561	0,0268	0,4	0,145
	0,2823	0,0837	1,068373	1,4017	7,38	1,9424	1,146962	1,3688	6,82	8,5652	0,0786	0,0330	0,6	0,227
	0,3122	0,0898	1,069825	1,4079	7,57	1,9911	1,165503	1,3726	7,05	7,8566	0,0957	0,0354	0,5	0,253
10,1051	0,1798	0,0790	1,068436	1,3811	7,20	1,1851	1,104031	1,3630	7,00	16,1998	0,0356	0,0182	0,2	0,073
	0,2047	0,0870	1,067723	1,3912	7,50	1,5023	1,121380	1,3642	7,00	12,3552	0,0537	0,0270	0,5	0,122
	0,2216	0,0938	1,068225	1,3972	7,90	1,6230	1,133638	1,3662	7,15	10,7854	0,0654	0,0310	0,8	0,150
<i>Partição de LIS</i>														
4,7261	0,1849	0,0804	1,069040	1,3832	7,50	2,0658	1,105416	1,3611	7,35	4,9767	0,0364	0,0221	0,2	0,415
	0,2045	0,0879	1,067954	1,3915	7,60	1,3496	1,120489	1,3630	7,20	5,1533	0,0525	0,0285	0,4	0,262
	0,2198	0,0924	1,068041	1,3957	7,80	1,1394	1,130056	1,3646	7,50	4,8810	0,0620	0,0311	0,3	0,233
9,9946	0,1844	0,0795	1,069816	1,3823	6,50	4,1500	1,106807	1,3640	6,40	10,5850	0,0370	0,0183	0,10	0,392
	0,1924	0,0841	1,068483	1,3866	6,50	3,1024	1,114789	1,3636	6,55	10,9444	0,0463	0,0230	0,05	0,283
	0,2058	0,0882	1,068033	1,3913	6,75	2,1872	1,123961	1,3649	6,65	11,0402	0,0559	0,0264	0,10	0,198

Tabela 5.53. Partição de biomoléculas e propriedades físicas determinadas para o sistema L35 + NaCit + água a 20 °C.

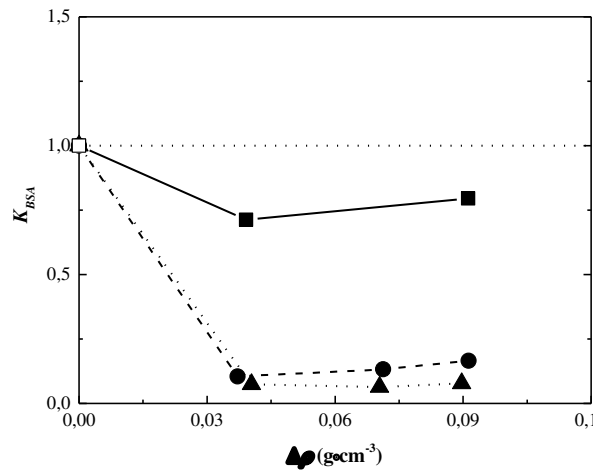
$C_0$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Alimentação		Fase superior				Fase inferior				Partição			
	$w_1$	$w_2$	$\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$n$	pH	$C_{FS}$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$n$	pH	$C_{FI}$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\Delta\rho$ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	$\Delta n$	$\Delta\text{pH}$	$K_p$
<i>Partição de BSA</i>														
5,0617	0,2105	0,0978	1,075623	1,3874	4,50	1,5855	1,125044	1,3685	4,40	8,8347	0,0494	0,0189	0,10	0,179
	0,2211	0,1054	1,074703	1,3930	4,50	1,7470	1,136176	1,3700	4,50	7,0494	0,0615	0,0230	0,00	0,248
	0,2331	0,1103	1,074438	1,3959	4,70	1,9393	1,147092	1,3721	4,40	6,2662	0,0727	0,0238	0,30	0,309
9,9131	0,2096	0,0979	1,075581	1,3877	4,55	1,5457	1,127156	1,3702	4,40	16,1451	0,0516	0,0176	0,15	0,096
	0,2231	0,1051	1,074489	1,3936	4,50	1,7053	1,139120	1,3714	4,30	12,9344	0,0646	0,0222	0,20	0,132
	0,2335	0,1109	1,074470	1,3971	4,70	1,8922	1,148031	1,3729	4,40	11,4710	0,0736	0,0242	0,30	0,165
<i>Partição de LIS</i>														
5,2799	0,2097	0,0969	1,076827	1,3860	4,70	2,0978	1,124139	1,3679	4,73	5,6888	0,0473	0,0181	0,03	0,369
	0,2219	0,1056	1,074822	1,3938	4,80	1,3542	1,135863	1,3698	4,60	5,6250	0,0610	0,0240	0,20	0,241
	0,2332	0,1097	1,074983	1,3969	4,90	1,1008	1,143730	1,3713	4,55	5,3575	0,0687	0,0256	0,35	0,205
9,9524	0,1371	0,1270	1,079313	1,3854	4,75	3,9196	1,120546	1,3686	4,64	9,8101	0,0412	0,0168	0,11	0,400
	0,1474	0,1353	1,075372	1,3911	4,80	2,1359	1,133464	1,3701	4,56	7,9016	0,0581	0,0210	0,24	0,270
	0,2034	0,0960	1,077997	1,3856	4,80	3,7672	1,119993	1,3688	4,70	9,9807	0,0420	0,0168	0,10	0,377



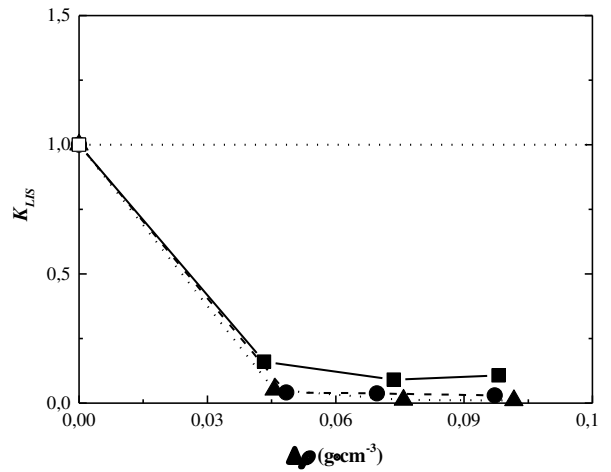
(a) PPG<sub>400</sub> + NaSulf + água + BSA a 20 °C



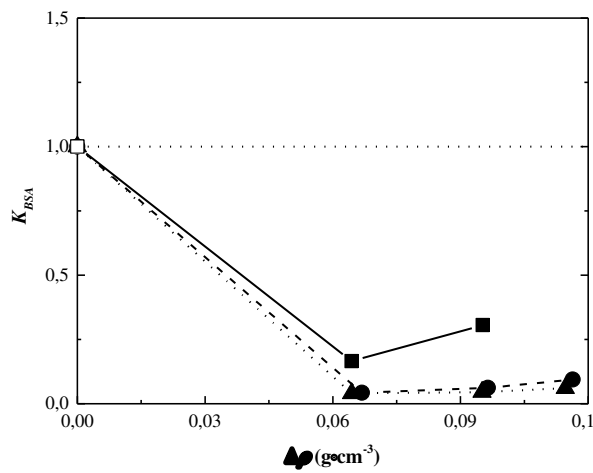
(b) PPG<sub>400</sub> + NaSulf + água + LIS a 20 °C



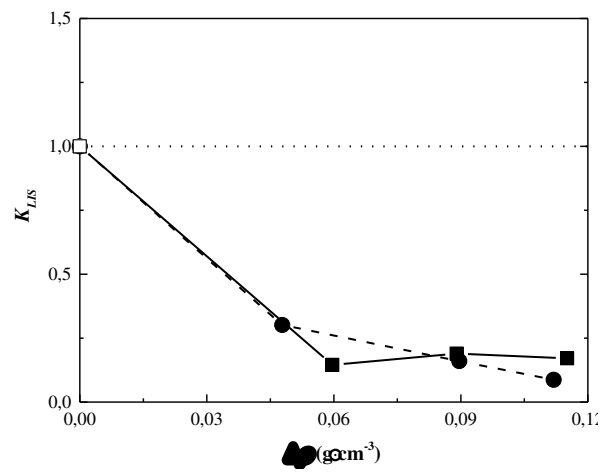
(c) PPG<sub>400</sub> + NaTart + água + BSA a 20 °C



(d) PPG<sub>400</sub> + NaTart + água + LIS a 20 °C



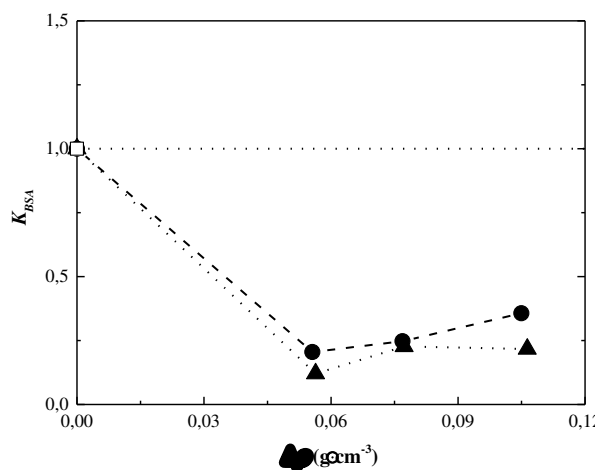
(e) PPG<sub>400</sub> + NaCit + água + BSA a 20 °C



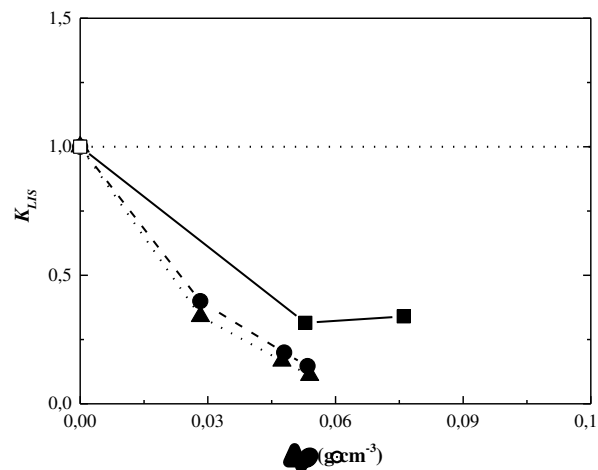
(f) PPG<sub>400</sub> + NaCit + água + LIS a 20 °C

**Figura 5.26. Coeficientes de partição para BSA e LIS para os sistemas estudados com PPG<sub>400</sub>: ■, 1 mg·g<sup>-1</sup>; ●, 5 mg·g<sup>-1</sup>; ▲, 10 mg·g<sup>-1</sup>; □, ponto crítico.**

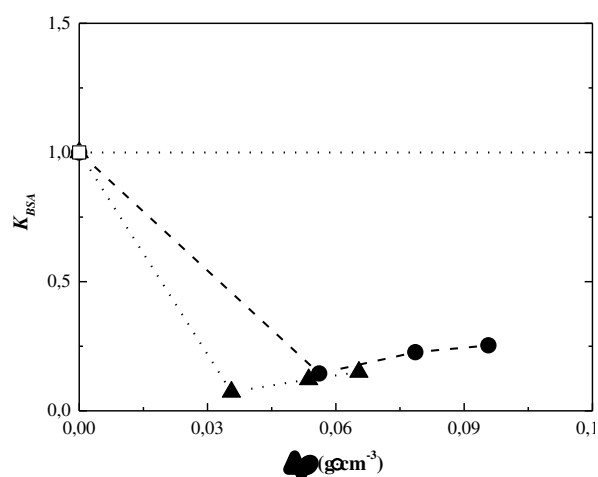




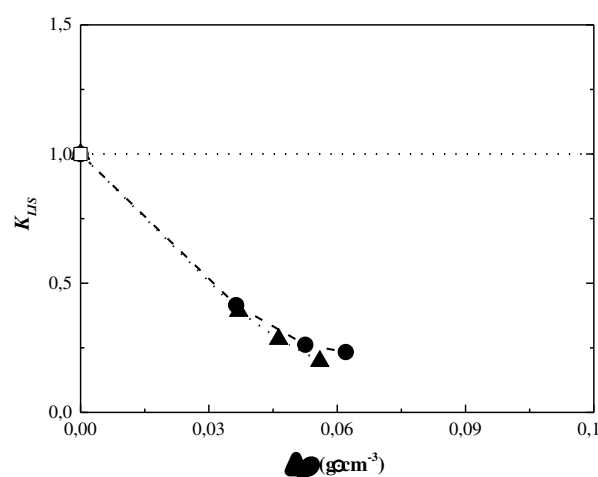
(a) L35 + NaSulf + água + BSA a 20 °C



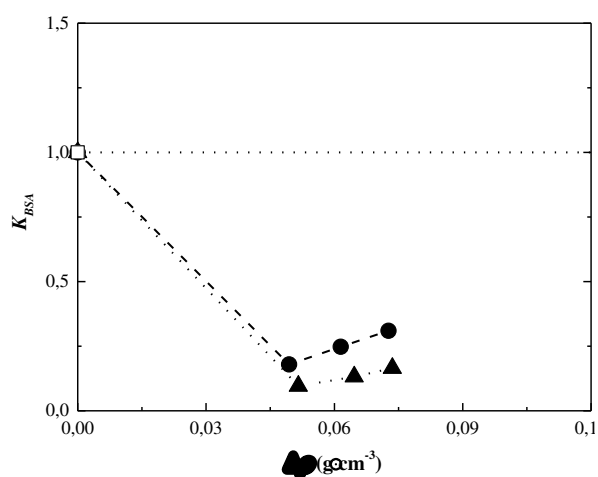
(b) L35 + NaSulf + água + LIS a 20 °C



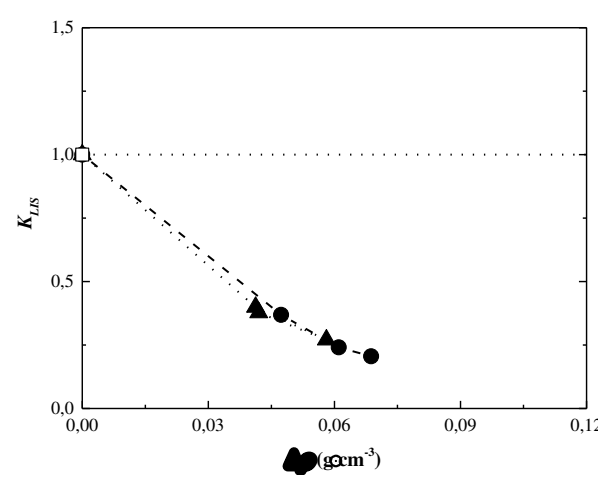
(c) L35 + NaTart + água + BSA a 20 °C



(d) L35 + NaTart + água + LIS a 20 °C



(e) L35 + NaCit + água + BSA a 20 °C



(f) L35 + NaCit + água + LIS a 20 °C

**Figura 5.27. Coeficientes de partição para BSA e LIS para os sistemas estudados com L35: ■, 1 mg·g<sup>-1</sup>; ●, 5 mg·g<sup>-1</sup>; ▲, 10 mg·g<sup>-1</sup>; □, ponto crítico.**

## 6. CONCLUSÕES

O equilíbrio líquido-líquido em sistemas de duas fases aquosas apresenta grande quantidade de dados reportados na literatura. Sua aplicação na separação de biomoléculas é tratada principalmente sob o contexto do coeficiente de partição, os quais foram um dos objetivos cumpridos desta pesquisa.

Propriedades termofísicas de sistemas monocomponente, binários, ternários e quaternários, que compõem SABs formados por polímero + sal + água, foram determinadas com sucesso e a influência dos compostos utilizados foi investigada por meio de perfis de densidade, índice de refração e pH.

Por meio dos resultados de densidade para polímero + água, verificou-se que a interação entre PPG<sub>400</sub> e água é a mais forte entre os polímeros estudados. Isto pode ser explicado com base nas interações moleculares atrativas entre o átomo de hidrogênio da água e o oxigênio do PPG<sub>400</sub> diminuem o volume excedente, ou aumentam o desvio da densidade. Para as soluções salinas binárias o aumento da densidade apresenta ordem inversa ao aumento da massa molar do sal. Além disso, constatou-se que o sal com maior massa molar apresenta maior volume aparente na diluição infinita e em todas as composições estudadas.

Os resultados de índice de refração para os sistemas binários e ternários estudados indicam que a variação desta propriedade com a fração mássica de água é linear e praticamente invariante para frações mássicas de água entre 0,7 e 1,0. Para os sistemas binários de sal + água, do índice de refração destas soluções apresenta a mesma ordem do aumento da massa molar do sal, porém o efeito é pequeno comparado com o efeito causado na densidade.

Pontos de névoa determinados para os sistemas com polímero + água indicaram que os sistemas PPG<sub>400</sub> e L35 apresentam pontos de névoa acima de 47 e 79 °C, respectivamente. Os sistemas com EO<sub>20</sub>PO<sub>80</sub> apresentam uma região de imiscibilidade, a qual dependendo da composição, apresenta dois pontos de névoa. Os pontos de névoa puderam ser constatados também pelos dados de expansividade térmica em que, em temperaturas próximas aos pontos de névoa, a inclinação da curva muda subitamente.

Dados de ELL ternário para SABs formados por polímero + sal + água inexistentes na literatura foram determinados. Para cada sistema mediu-se a composição e as propriedades termofísicas, contribuindo assim para uma literatura que, apesar de ampla, apresenta poucos trabalhos com este foco. Um sistema foi estudado a 25 °C e sete a 20 °C. Dentre estes, o sistema que apresentou maior região bifásica foi o formado por L35 + NaSulf + água.

A partição de BSA e lisozima em sistemas aquosos bifásicos também foi determinada e os valores do coeficiente de distribuição indicam que estas biomoléculas solubilizam mais na fase rica em sal do que na rica em polímero, ou seja, dos resultados obtidos, nenhum sistema apresenta fase polimérica com maiores concentrações de biomolécula que a fase salina. Isto pode ser explicado por um efeito de *salting in*, em que o sal interage mais com a biomolécula alvo da partição que o polímero.

Portanto, este trabalho é uma contribuição significativa do Laboratório de Equilíbrio de Fases da FEQ/Unicamp na área de pesquisa básica em Engenharia Química, fornecendo resultados precisos envolvendo propriedades termodinâmicas, equilíbrio de fases e partição de biomoléculas, dados estes que podem ser necessários para o projeto de processos que envolvam os sistemas aqui estudados.

## **7. SUGESTÕES FUTURAS**

Algumas sugestões futuras formuladas a partir dos resultados levantados neste trabalho estão listadas abaixo:

a) Realização de prospecções científicas e tecnológicas, por meio da busca de artigos científicos e patentes, com foco em biomoléculas estudadas;

b) Determinação das propriedades termofísicas dos sistemas binários biomolécula + água, como por exemplo, o fornecimento de resultados sobre propriedades parciais molares de sistemas contendo macromoléculas;

c) Estudar metodologias de *scale-up* de processos de separação de biomoléculas com base em sistemas aquosos bifásicos.

## **REFERÊNCIAS**

ABRAMS, D. S.; PRAUSNITZ, J. M. Statistical Thermodynamics of Liquid Mixtures: A New Expression for the Excess Gibbs Energy of Partly or Completely Miscible Systems. **AIChE Journal**, v, 21, p. 116-128. 1975.

ALBERTSSON, P.-A. **Partition of Cell Particles and Macromolecules**, 3a Ed., Interscience, Nova Iorque, 1986.

ALFA AESAR. B21798 Polyethylene glycol 600. Disponível em: <<https://www.alfa.com/pt/catalog/B21798/>>. Acesso em: 24 jul. 2016.

ALMEIDA, M. C.; VENÂNCIO, A.; TEIXEIRA, J. A.; AIRES-BARROS, M. R. Cutinase Purification on Poly(ethylene glycol) Hydroxypropyl Starch Aqueous Two-Phase Systems. **Journal of Chromatography B**, v. 711, p. 151-159. 1998.

ALVES, J. G. L. F.; CHUMPITAZ, L. D. A.; SILVA, L. H. M.; FRANCO, T. T.; MEIRELLES, A. J. A. Partitioning of Whey Proteins, Bovine Serum Albumin and Porcine Insulin in Aqueous Two-Phase Systems. **Journal of Chromatography B**, v. 743, p. 235-239. 2000.

ANANTHAPADMANABHAN, K. P.; GODDARD, E. D. Aqueous biphasic formation in polyethylene oxide-inorganic salts systems. **Langmuir**, v. 3, p. 25-31. 1987.

ANDREWS, B. A.; ASENJO, J. A. Protein Partitioning Equilibrium Between the Aqueous Poly(ethylene glycol) and Salt Phases and the Solid Protein Phase in Poly(ethylene glycol) + Salt Two-Phase Systems. **Journal of Chromatography B**, v. 685, p. 15-20. 1996.

BAE, Y. C.; LAMBERT, S. M.; SOANE, D. S.; PRAUSNITZ, J. M. Cloud-Point Curves of Polymer Solutions from Thermo-optical Measurements. **Macromolecules**, v. 24, p. 4403-4407. 1991.

BARONE, G.; GIANCOLA, C.; VERDOLIVA, A. DSC studies on the denaturation and aggregation of serum albumins. **Thermochimica Acta**, v. 199, p. 197-205. 1992.

BAYARRI, M.; OULAHAL, N.; DEGRAEVE, P.; GHARSALLAOUI, A. Properties of lysozyme/low methoxyl (LM) pectin complexes for antimicrobial edible food packaging. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 18–25. 2014.

BERGGREN, K.; JOHANSSON, H. O.; TJERNELD, F. Effects of salts and the Surface Hydrophobicity of Proteins on Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems containing Thermoseparating Ethylene Oxide-Propylene Oxide Copolymers. **Journal of Chromatography A**, v. 718, p. 67-79. 1995.

BERGGREN, K.; NILSSON, A.; JOHANSSON, G.; BANDMANN, N.; NYGREN, P. Å.; TJERNELD, F. Partitioning of Peptides and Recombinant Protein-Peptide Fusions in Thermoseparating Aqueous Two-Phase Systems: Effect of Peptide Primary Structure. **Journal of Chromatography B**, v. 743, p. 295-306. 2000.

BERNARDO, S.; MOHAMED, R. S.; LOH, W. Partitioning of Amino Acids in Aqueous Two-Phase Systems containing Polymers, Block Copolymers and Salts. **XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ)**. Águas de São Pedro, 356, 1-10. 2000.

BLAKE, C. C. F.; GRACE, D. E. P.; JOHNSON, L. N.; PERKINS, S. J.; PHILLIPS, D. C.; CASSELS, R.; DOBSON, C. M.; POULSEN, F. M.; WILLIAMS, R. J. P. **Physical and chemical properties of lysozyme, Ciba Foundation Symposium 60 — Molecular Interactions and Activity in Proteins**, John Wiley & Sons, Ltd., 2008, pp. 137–185.

BLÁZQUEZ, G.; CAMACHO, F.; GONZÁLEZ-TELLO, P.; ALARCÓN, F. J. Partition Coefficients of  $\alpha$ -Amylase in Aqueous Two-Phase Systems PEG +  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  at 298 K. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1379, p. 191-197. 1998.

CAMPESE, G. M.; RODRIGUES, E. M. G.; TAMBOURGI, E.B.; PESSOA JR., A. Determination of cloud-point temperatures for different copolymers. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 20, p. 335-337. 2003.

CHATTOPADHYAY, D. K.; RAJU, N. P.; VAIRAMANI, M.; RAJU, K.V.S.N. Structural investigations of polypropylene glycol (PPG) and isophorone diisocyanate (IPDI) based polyurethane prepolymer by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF)-mass spectrometry. **Progress in Organic Coatings**, v. 62, p. 117–122. 2008.

CHELUGET, E. L.; GELINAS, S.; VERA, J. H.; WEBER, M. E. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Mixtures of Poly(propylene glycol) with NaCl. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 39, p. 127-130. 1994.

CLARIANT. Polyglykol 1000 – PEG 20. Disponível em:  
<<http://www.clariant.com/en/Solutions/Products/2013/12/09/18/29/Polyglykol-1000>>. Acesso em: 22 jul. 2016.

COLÍN, A. C.; RUBIO, R. G.; COMPOSTIZO, A. Equation of state of a blend of water-soluble polymers: poly(propylene glycol) 1 poly(ethylene glycol). **Polymer**, v. 41, p. 7407–7414. 2000.

COSTA, S. A.; PESSOA JR., A.; ROBERTO, I. C. Partitioning of Xylanolytic Complex from *Penicillium janthinellum* by an Aqueous Two-Phase System. **Journal of Chromatography B**, v. 743, p. 339-348. 2000.

CUNNINGHAME, R. G.; MALCOLM, G. N. The Heats of Mixing of Aqueous Solutions of Polypropylene glycol 400 and Polyethylene Glycol 300. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 65, p. 1454-1456. 1961.

DASTGIR, M. G.; PEEVA, L. G.; LIVINGSTON, A. G.; MORLEY, T. A.; STEINKE, J. H. G. The synthesis of polypropylene glycol based polyethers and their use in membranes for the membrane aromatic recovery system (MARS). **Journal of Membrane Science**, v. 261, p. 87–97, 2005.

DEMBCZYNSKI, R.; BIAŁAS, W. Pilot-scale separation of lysozyme from hen egg white by integrating aqueous two-phase partitioning and membrane separation processes. **Process Biochemistry**, v. 48, p. 1992–1998. 2013.

DEMBCZYŃSKI, R.; BIAŁAS, W.; REGULSKI, K.; JANKOWSKI, T. Lysozyme extraction from hen egg white in an aqueous two-phase system composed of ethylene oxide–propylene oxide thermoseparating copolymer and potassium phosphate. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 369-374. 2010.

DERR, E. L.; DEAL, C. H. Analytical Solution of Groups: Correlation of Activity Coefficients through Structural Group Parameters. **Institute of Chemical Engineers Symposium Series**, v. 32, p. 44-51. 1969.

DREISBACH, F.; LÖSCH, H. W.; HARTING, P. Highest Pressure Adsorption Equilibria Data: Measurement with Magnetic Suspension Balance and Analysis with a New Adsorbent/Adsorbate-Volume. **Adsorption**, v. 8, p. 95-109, 2002.

EITEMAN, M. A.; GAINER, J. L. Peptide Hydrophobicity and Partitioning in Poly(ethylene glycol)/Magnesium Sulfate Aqueous Two-Phase Systems. **Biotechnology Progress**, v. 6, p. 479-484. 1990.

ELIASSI, A.; PARACH, A. Cloud Points of Poly(propylene glycol) Aqueous Mixtures at Various Concentrations. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, p. 4010–4012. 2010.

FARAVASH, R. S.; MODARRESS, H.; NASERNEJAD, B. Structural and Partitioning Studies of Bovine Serum Albumin in Mixture of (Poly(ethylene glycol) +  $K_2HPO_4$  +  $H_2O$ ). **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 52, p. 71-76. 2007.

FELE, L.; FERMEGLIA, M. Partition Coefficients of Proteins in Poly(ethylene glycol) + Dextran + Water at 298 K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 41, p. 331-334. 1996.

FORCINITI, D.; HALL, C. K. Protein partitioning at isoelectric point: influence of polymer molecular weight and concentration and protein size. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 38, p. 986–994. 1991.

FRANCESCONI, R.; OTTANI, S. Correlation of density and refraction index for liquid binary mixtures containing polyglycols. Use of the group contributions in the Lorentz–Lorenz, Gladstone–Dale and Vogel equations to evaluate the density of mixtures. **Journal of Molecular Liquids**, v. 133, p. 125–133. 2007.

FRANCO, T. T.; ANDREWS, A. T.; ASENJO, J. A. Use of Chemically Modified Proteins to Study the Effect of a Single Protein Property on Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems: Effect of Surface Hydrophobicity. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 49, p. 300-308. 1996.

FREDENSLUND, Aa.; GMEHLING, J.; RASMUSSEN, P. **Vapour-Liquid Equilibria using UNIFAC**. Amsterdam: Elsevier, 1977.



FREDENSLUND, Aa.; JONES, R. L.; PRAUSNITZ, J. M. Group Contribution Estimation of Activity Coefficients in Nonideal Mixtures. **AIChE Journal**, v. 21, p. 1086-1098. 1975.

FREDERICKS, W. J.; HAMMONDS, M. C.; HOWARD, S. B.; ROSENBERGER, F. Density, thermal expansivity, viscosity and refractive index of lysozyme solutions at crystal growth concentrations. **Journal of Crystal Growth**, v. 141, p. 183-192. 1994.

GALERA-GÓMEZ, P. A.; GU, T. Cloud Point of Mixtures of Polypropylene Glycol and Triton X-100 in Aqueous Solutions. **Langmuir**, v. 12, p. 2602-2604. 1996.

GARCÍA-ABUÍN, A.; GOMEZ-DÍAZ, D.; LA RUBIA, M. D.; NAVAZA, J. M. Density, Speed of Sound, Viscosity, Refractive Index, and Excess Volume of N-Methyl-2-pyrrolidone þ Ethanol (or Water or Ethanolamine) from T = (293.15 to 323.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 56, p. 646–651. 2011.

GEKKO, K.; ARAGA, M.; KAMIYAMA, T.; OHMAE, E.; AKASAKA, K. Pressure dependence of the apparent specific volume of bovine serum albumin: Insight into the difference between isothermal and adiabatic compressibilities. **Biophysical Chemistry**, v. 144, p. 67–71. 2009.

GIANCOLA, C.; DE SENA, C.; FESSAS, D.; GRAZIANO, G.; BARONE, G. DSC studies on bovine serum albumin denaturation effects of ionic strength and SDS concentration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 20, p. 193-204. 1997.

GOMES, P. B.; MELO, M. C. B.; DUARTE, M. A.; TORRES, M. R. F.; XAVIER, A. T. Polietilenoglicol na constipação intestinal crônica funcional em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, n. 2, p. 245-50. 2011.

HAGHTALAB, A.; MOKHTARANI, B.; MAURER, G. Experimental Results and Thermodynamic Modeling of the Partitioning of Lysozyme, Bovine Serum Albumin, and  $\alpha$ -Amylase in Aqueous Two-Phase Systems of PEG and ( $K_2HPO_4$  or  $Na_2SO_4$ ). **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 48, p. 1170-1177. 2003.

HAMMER, S.; PFENIG, A.; STUMPF, M. Liquid-Liquid and Vapor-Liquid Equilibria in Water + Poly(ethylene glycol) + Sodium Sulfate. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 39, p. 409-413. 1994.

- HAMZEZHARDEH, S.; ZAFARANI-MOATTAR, M. T. Phase separation in aqueous solutions of polypropylene glycol and sodium citrate: Effects of temperature and pH. **Fluid Phase Equilibria**, v. 385, p. 37–47. 2014.
- HAN, J. H.; LEE, C.-H. Effects of salts and poly(ethylene glycol)-palmitate on the partitioning of proteins and *Bacillus subtilis* neutral protease in aqueous two-phase systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 9, p. 109-116. 1997.
- HARAGUCHI, L. H.; MOHAMED, R. S.; LOH, W.; PESSÔA FILHO, P. A. Phase equilibrium and insulin partitioning in aqueous two-phase systems containing block copolymers and potassium phosphate. **Fluid Phase Equilibria**, v. 215, p. 1–15. 2004.
- HARRIS, P. A.; KARLSTRÖM, TJERNELD, F. Enzyme Purification using Temperature Induced Phase Formation. **Bioseparation**, v. 2, p. 237-246. 1991.
- HAZRA, C.; SAMANTA, T.; MAHALINGAM, V. A resonance energy transfer approach for the selective detection of aromatic amino acids. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 2, p. 10157-10163. 2014.
- HO-GUTIERREZ, I. V.; CHELUGET, E. L.; VERA, J. H.; WEBER, M. E. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Mixtures of Poly(ethylene glycol) with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or NaCl. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 39, p. 245-248. 1994.
- HUDDLESTON, J.; ABELAIRA, J. C.; WANG, R.; LYDIATT, A. Protein Partition Between the Different Phases comprising Poly(ethylene glycol)-Salt Aqueous Two-Phase Systems, Hydrophobic Interaction Chromatography and Precipitation: A Generic Description in Terms of Salting-out Effects. **Journal of Chromatography B**, v. 680, p. 31-41. 1996.
- IDOUX, J. P; MCCURRY, C. K.; AMINABHAVI, T. M. Densities, Viscosities, Speeds of Sound, and Water Solubilities of Some Polypropylene Glycol Ether Derivatives in the Temperature Range 273.15-323.15 K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 39, p. 261-265. 1994.
- ISGROVE, F. H.; WILLIAMS, R. J. H.; NIVEN, G. W.; ANDREWS, A. T. Aqueous Two Phase Systems: a Novel Approach for the Separation of Proteose Peptones. **Journal of Chromatography B**, v. 711, p. 91-96. 1998.

- JOHANSSON, G.; RECZEY, K. Concentration and Purification of  $\beta$ -Glucosidase from *Aspergillus niger* by using Aqueous Two-Phase Partitioning. **Journal of Chromatography B**, v. 711, p. 161-172. 1998.
- JOHANSSON, H. O.; KARLSTRÖM, G.; TJERNELD, F. Experimental and Theoretical Study of Phase Separation in Aqueous Solutions of Clouding Polymers and Carboxylic Acids. **Macromolecules**, v. 26, p. 4478-4483. 1993.
- KOJIMA, K.; TOCHIGI, K. **Prediction of Vapor-Liquid Equilibria by the ASOG Method**. Tóquio: Elsevier, 1979.
- KRACEK, F. C.; GIBSON, R. E. The Polymorphism of Sodium Sulphate. II. The Densities on Anhydrous Sodium Sulfate at 25 degrees. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 33, p. 1304–1308. 1929.
- KRONER, K. H.; HUSTEDT, H.; KULA, M-R. Evaluation of crude dextran as phase forming polymer for the extraction of enzymes in aqueous two-phase systems in large scale. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 24, p. 1015–1045. 1982.
- LEE, H.; VENABLE, R. M.; MACKERREL Jr., A. D.; PASTOR, R. W. Molecular Dynamics Studies of Polyethylene Oxide and Polyethylene Glycol: Hydrodynamic Radius and Shape Anisotropy. **Biophysical Journal**, v. 95, p. 1590-1599. 2008.
- LEI, X.; DIAMOND, A. L.; HSU, J. T. Equilibrium Phase Behavior of the Poly(ethylene glycol)/Potassium Phosphate/Water Two-Phase System at 4 °C. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 35, p. 420-423. 1990.
- LEMOS, L. R. DE; SANTOS, I. J. B.; RODRIGUES, G. D.; FERREIRA, G. M. D.; SILVA, L. H. M. DA; SILVA, M. C. H. DA; CARVALHO, R. M. M. DE. Phase Compositions of Aqueous Two-Phase Systems Formed by L35 and Salts at Different Temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, p. 1193–1199. 2010.
- Lewis, J. C., Snell, N. S., Hirschmann, D. J.; Fraenkel-Conrat, H. (1950). Amino acid composition of egg proteins, **Journal of Biological Chemistry**, v. 186, p. 23-35. 1950.

LI, M.; WANG, Y.-X.; ZHU, Z.-Q. Liquid-Liquid Equilibria for Random Copolymer of Ethylene Oxide + Propylene Oxide + Salt + Water. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 43, p. 93-96. 1998.

LIMA, A. S.; ALEGRE, R. M.; MEIRELLES, A. J. A. Partitioning of Pectinolytic Enzymes in Polyethylene Glycol/Potassium Phosphate Aqueous Two-Phase Systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 63-68. 2002.

LIU, S. Q.; YANG, C.; HUANG, Y.; DING, X.; LI, Y.; FAN, W. M.; HEDRICK, J. L.; YANG, Y.-Y. Antimicrobial and Antifouling Hydrogels Formed In Situ from Polycarbonate and Poly(ethylene glycol) via Michael Addition. **Advanced Materials**, v. 24, p. 6484-6489. 2012.

MALCOLM, G. N.; ROWLINSON, J. S. The Thermodynamic Properties of Aqueous Solutions of Polyethylene Glycol, Polypropylene Glycol and Dioxane. **Transactions of the Faraday Society**, v. 53, p. 921-931. 1957.

MARINI, A.; IMELIO, N.; PICÓ, G.; ROMANINI, D.; FARRUGGIA, B. Isolation of a *Aspergillus niger* lipase from a solid culture medium with aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography B**, v. 879, p. 2135-2141, 2011.

MARTINS, J. P.; COIMBRA, J. S. R.; OLIVEIRA, F. C. DE; SANAIOTTI, G.; SILVA, C. A. S. DA; LUIS HENRIQUE MENDES DA SILVA, L. H. M. DA; SILVA, M. C. H. DA. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Two-Phase System Composed of Poly(ethylene glycol) 400 and Sulfate Salts. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, p. 1247–1251. 2010b.

MARTINS, J. P.; DA SILVA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M.; SENRA, T. D. A.; FERREIRA, G. M. D.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A. Liquid-Liquid Phase Equilibrium of Triblock Copolymer F68, Poly(ethylene oxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide), with Sulfate Salts. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, p. 1618–1622. 2010a.

MARTINS, J. P.; MAGESTE, A. B.; DA SILVA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M.; PATRÍCIO, P. R.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A. Liquid-Liquid Equilibria of an Aqueous Two-Phase System Formed by a Triblock Copolymer and Sodium Salts at Different Temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 54, p. 2891–2894. 2009.

- MERCHUK, J. C.; ANDREWS, B. A.; ASENJO, J. A. Aqueous Two-Phase Systems for Protein Separation. Studies on Phase Inversion. **Journal of Chromatography B**, v. 711, p. 285-293. 1998.
- MONTEIRO FILHO, E. S.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A.; SILVA, L. H. M.; MEIRELLES, A. J. A. Liquid-Liquid Equilibrium for Ternary Systems containing a Sugar + a Synthetic Polymer + Water. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 47, p. 1346-1350. 2002.
- MONTEIRO FILHO, E. S.; PESSÔA FILHO, P. A.; MEIRELLES, A. J. A. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Biphasic Systems Containing Ethylene Oxide-Propylene Oxide Block Copolymers and Maltodextrins. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 59, 2310-2319. 2014.
- MONTEIRO FILHO, Elias de Souza. **Equilíbrio de Fases de Sistemas Contendo Polímeros Sintéticos e Carboidratos em Meio Aquoso**. Campinas: UNICAMP, 2009. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- MURUGESAN, T.; PERUMALSAMY, M. Liquid-liquid equilibria of poly(ethyleneglycol) 2000 + sodium citrate + water at (25, 30, 35, 40, and 45) °C. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 50, p. 1392-1395. 2000.
- NANDINI, K. E.; RASTOGI, N. K. Liquid-liquid extraction of lipase using aqueous two-phase systems. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 295-303, 2011.
- NELDER, J.A.; MEAD, R. A simplex method for function minimization. **Computer Journal**, v. 7, p. 308-313. 1965.
- NILSSON, A.; JOHANSSON, H. O.; MANNESSE, M.; EGMOND, M. R.; TJERNELD, F. Partitioning of Peptide-Tagged Proteins in Aqueous Two-Phase Systems using Hydrophobically Modified Micelle-forming Thermoseparating Polymer. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1601, p. 138-148. 2002a.
- NILSSON, A.; MANNESSE, M.; EGMOND, M. R.; TJERNELD, F. Cutinase-Peptide Fusions in Thermoseparating Aqueous Two-Phase Systems. Prediction of Partitioning and

Enhanced Tag Efficiency by Detergent Addition. **Journal of Chromatography A.**, v. 946, p. 141-155. 2002b.

NILSSON, A.; NEVES-PETERSEN, M. T.; JOHANSSON, H.-O.; JANSSON, J.; SCHILLÉN, K.; TJERNELD, F.; PETERSEN, S. B. Tryptophan-tagged cutinase studied by steady state fluorescence for understanding of tag interactions in aqueous two-phase systems. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1646, p. 57-66. 2003.

OISHI, T.; PRAUSNITZ, J. M. Estimation of Solvent Activities in Polymer Solutions Using a Group-Contribution Method. **Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development**, v. 17, p.333-339. 1978.

OLIVEIRA, L. H. DE; SILVA JR., J. L. DA; AZNAR, M. Apparent and Partial Molar Volumes at Infinite Dilution and SolidLiquid Equilibria of Dibenzothiophene + Alkane Systems. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 56, p. 3955–3962. 2011

OLIVEIRA, Leonardo Hadlich de. **Estudo Termodinâmico do Equilíbrio Líquido-líquido visando a Remoção de Enxofre do Óleo Diesel utilizando Líquidos Iônicos**. Campinas: UNICAMP, 2009. 133 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

OLIVEIRA, M. C de; ABREU FILHO, M. A. N. DE; PESSÔA FILHO, P. A. Phase equilibrium and protein partitioning in aqueous two-phase systems containing ammonium carbamate and block copolymers PEO–PPO–PEO. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, p. 311–318. 2007.

PACÁK, P. Molar refractivity and interactions in solutions I. Molar refractivity of some monovalent ions in aqueous and dimethyl sulfoxide solutions. **Chemical Papers**, v. 43, p. 489-500. 1989.

PEI, Y.; WANG, J.; LIU, L.; WU, K.; ZHAO, Y. Liquid-Liquid Equilibria of Aqueous Biphasic Systems Containing Selected Imidazolium Ionic Liquids and Salts. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 52, p. 2026-2031, 2007.

PENG, D.-Y.; ROBINSON, D. B. A New Two-Constant Equation of State. **Industrial and Engineering Chemistry Fundamentals**, v. 15, p. 59-64. 1976.

PENG, Q.; LI, Z.-C.; LI, Y. Experiments, correlations and prediction of protein partition coefficient in aqueous two-phase systems containing PEG and  $K_2HPO_4$ - $KH_2PO_4$ . **Fluid Phase Equilibria**, v. 107, p. 303-315. 1995.

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

PERRY, R. H.; GREEN, D. W.; MALONEY, J. O. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. 7a. Ed., cap. 21. McGraw-Hill: Nova Iorque.

PERSSON, J.; JOHANSSON, H. O.; TJERNELD, F. Purification of Protein and Recycling of Polymers in a New Aqueous Two-Phase System using Two Thermoseparating Polymers. **Journal of Chromatography A.**, v. 864, p. 31-48. 1999.

PERSSON, J.; KAUL, A.; TJERNELD, F. Polymer recycling in aqueous two-phase extractions using thermoseparating ethylene oxide-propylene oxide copolymers. **Journal of Chromatography B**, v. 743, p. 115-126. 2000.

PRATA, A. S.; SGARBIERI, V. C. Composition and physicochemical properties of two protein fractions of bovine blood serum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 964-972. 2008.

PRAUSNITZ, J. M.; LICHTENTHALER, R. N.; AZEVEDO, E.G. **Molecular Thermodynamics of Fluid-Phase Equilibria**. Englewood Cliffs (NJ): Prentice-Hall Inc., 1986.

RAHBARI-SISAKHT, M.; TAGHIZADEH, M.; ELIASSI, A. Densities and Viscosities of Binary Mixtures of Poly(ethylene glycol) and Poly(propylene glycol) in Water and Ethanol in the 293.15-338.15 K Temperature Range. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 48, p. 1221-1224. 2003.

REDLICH, O.; MEYER, D. M. The Molal Volumes of Electrolytes. **Chemical Reviews**, v. 64, 221-227. 1964.

REED III, T. M. The Polarizability of Molecules in Liquid Mixtures. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 63, p. 1798-1803. 1959.

RENON, H.; PRAUSNITZ, J.M. Estimation of parameters for the NRTL equation for excess gibbs energies of strongly nonideal liquid mixtures. **Industrial and Engineering Chemistry Process Design and Development**, v. 8, p. 413-419. 1969.

RENON, H.; PRAUSNITZ, J.M. Local compositions in thermodynamic excess functions for liquid mixtures. **AIChE Journal**, v. 14, p. 135-144. 1968.

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

SADEGHI, R.; JAMEHBOZORG, B. Volumetric and viscosity studies of interactions between sodium phosphate salts and poly(propylene glycol) 400 in aqueous solutions at different temperatures. **Fluid Phase Equilibria**, v. 284, p. 86–98. 2009.

SADEGHI, R.; ZIAMAJIDI, F. Effect of Aqueous Solution of Tri-potassium Citrate on the Volumetric Behavior of Poly(propylene glycol) 400 at T ) (288.15 to 313.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 52, p. 1268-1272. 2007.

SALABAT, A.; DASHTI, H.; NASIRZADEH, K. Measurement and Correlation of Water Activities and Refractive Indices for the Systems PPG425 + (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + H<sub>2</sub>O and PPG425 + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + H<sub>2</sub>O at 298.15 K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 49, p. 980-982. 2004.

SALABAT, A.; SADEGHI, R. Water activities of ternary mixtures of PPG425 +K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> +H<sub>2</sub>O and PPG425 + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> +H<sub>2</sub>O at 298.15 K: Experiments and correlation. **Fluid Phase Equilibria**, v. 252, p. 47–52. 2007.

SANO, Y. Optical Anisotropy of Bovine Serum Albumin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 124, p. 403-406. 1988.

SÉ, R. A. G.; AZNAR, M. Liquid-Liquid Equilibrium of the Aqueous Two-Phase System Water + PEG 4000 + Potassium Phosphate at Four Temperatures: Experimental Determination and Thermodynamic Modeling. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 47, p. 1401-1405. 2002a.



- SÉ, R. A. G.; AZNAR, M. Prediction of Phase Equilibrium of Aqueous Two Phase Systems Water + Poly(ethylene glycol) + Salt. **Latin American Applied Research**, v. 31, p. 427-432. 2001.
- SÉ, R. A. G.; AZNAR, M. Thermodynamic Modelling of Phase Equilibrium for Water + Poly(ethylene glycol) + Salt Aqueous Two-Phase Systems. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 19, p. 255-266. 2002b.
- SELBER, K.; TJERNELD, F.; COLLÉN, A.; HYYTIÄ, T.; NAKARI-SETÄLÄ, T.; BAILEY, M.; FAGERSTRÖM, R.; KAN, J.; VAN DER LAAN, J.; PENTTILÄ, M.; KULA, M.-R. Large-scale separation and production of engineered proteins, designed for facilitated recovery in detergent-based aqueous two-phase extraction systems. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 889–896.
- SHANBHAG, V. P.; AXELSSON, C.-G. Hydrophobic Interaction Determined by Partition in Aqueous Two-Phase Systems. **European Journal of Biochemistry**, v. 60, p. 17-22. 1975.
- SHANMUGAM, G.; POLAVARAPU, P. L. Vibrational circular dichroism spectra of protein films: thermal denaturation of bovine serum albumin. **Biophysical Chemistry**, v. 111, p. 73–77. 2004.
- SILVA, L. H. M.; COIMBRA, J. S. R.; MEIRELLES, A. J. A. Equilibrium Phase Behavior of Poly(ethylene glycol) + Potassium Phosphate + Water Two-Phase Systems at Various pH and Temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 42, p. 398-401. 1997.
- SILVA, L. H. M.; MEIRELLES, A. J. A. Bovine Serum Albumin,  $\alpha$ -lactoalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin Partitioning in Polyethylene Glycol/Maltodextrin Aqueous Two-Phase Systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 279-282. 2000.
- SILVA, L. H. M.; MEIRELLES, A. J. A. PEG + Potassium Phosphate + Urea Aqueous Two-Phase Systems: Phase Equilibrium and Protein Partitioning. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 46, p. 251-255. 2001.
- SILVA, M. C. H. DA; SILVA, L. H. M.; DA; JÚNIOR, J. A.; GUIMARÃES, R. O.; MARTINS, J. P. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Mixture of Triblock Copolymers L35 and F68 with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, or MgSO<sub>4</sub>. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 51, p. 2260-2264. 2006.

SNYDER, S. M.; COLE, K. D.; SZLAG, D. C. Phase Compositions, Viscosities and Densities for Aqueous Two-Phase Systems Composed of Polyethylene Glycol and Various Salts at 25 °C. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 37, p. 268-274. 1992.

SØRENSEN, J. M.; MAGNUSSEN, T.; RASMUSSEN, P.; FREDENSLUND, A. Liquid-liquid equilibrium data: their retrieval, correlation and prediction. Part II: Correlation. **Fluid Phase Equilibria**, v. 3, p. 47-82. 1979.

SOUSA, R. C. S. DE, COIMBRA, J. S. R.; SILVA, L. H. M. DA; SILVA, M. C. H. DA; ROJAS, E. E. G.; VICENTE, A. A. A. Thermodynamic studies of partitioning behavior of lysozyme and conalbumin in aqueous two-phase systems. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 2579–2584. 2009.

SOUZA, R. L. DE; BARBOSA, J. M. P; ZANIN, G. M.; LOBÃO, M. W. N.; SOARES, C. M. F.; LIMA, A. S. Partitioning of Porcine Pancreatic Lipase in a Two-Phase Systems of Polyethylene Glycol/Potassium Phosphate Aqueous. **Applied Biochemistry and Biotechnolog**, v. 161, p. 288 – 300. 2010.

STEWART, R. M.; TODD, P. A Polyethylene Glycol - Sodium Chloride Multiphase System for Extraction of Acid Hydrolysates. **Frontiers in Bioprocessing II**. Washington: ACS Symposium Series, 1992.

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

SUN, T.; TEJA, A. S. Density, Viscosity and Thermal Conductivity of Aqueous Solutions of Propylene Glycol, Dipropylene Glycol, and Tripropylene Glycol between 290 K and 460 K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 49, p. 1311-1317. 2004.

SVENSSON, M.; BERGGREN, K.; VEIDE, A.; TJERNELD, F. Aqueous two-phase systems containing self-associating block copolymers Partitioning of hydrophilic and hydrophobic biomolecules. **Journal of Chromatography A**, v. 839, p. 71–83. 1999.

SVENSSON, M.; LINSE, P.; TJERNELD, F. Phase Behavior in Aqueous Two-Phase Systems Containing Micelle-Forming Block Copolymers. **Macromolecules**, v. 28, p. 3597-3603. 1995.

TAGHIZADEH, M.; ELIASSI, A.; RAHBARI-SISAKHT, M. Experimental Results and Modeling of Solvent Activities in Binary Polymer Solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 96, p. 1059–1063. 2005.

TAN, S. N.; FORNASIERO, D.; SEDEV, R.; RALSTON, J. The interfacial conformation of polypropylene glycols and their foam properties. **Minerals Engineering**, v. 19, p. 703-712. 2006.

TRIVEDI, S.; BHANOT, C.; PANDEY, S. Densities of {poly(ethylene glycol) + water} over the temperature range (283.15 to 363.15) K. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 42, p. 1367–1371. 2010.

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

TUBÍO, G.; PELLEGRINI, L.; NERLI, B. B.; PICÓ, G. A. Liquid-Liquid Equilibria of Aqueous Two-Phase Systems Containing Poly(ethylene glycols) of Different Molecular Weight and Sodium Citrate. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 51, p. 209-212. 2006.

VIRTUOSO, L. S.; LIMA, L. R. P.; VELLO, K. A. S. F.; COUTO, H. H. C.; ALVES, M. M.; GARCIA, J. S.; DA SILVA, J. M. S. F. Bovine serum albumin partitioning in aqueous two-phase systems. **Revista CENIC Ciências Químicas**, v. 41, p. 1-9, 2010.

VIRTUOSO, L. S.; VELLO, K. A. S. F.; DE OLIVEIRA, A. A.; JUNQUEIRA, C. M.; MESQUITA, A. F.; LEMES, N. H. T.; DE CARVALHO, R. M. M.; DA SILVA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M. Measurement and Modeling of Phase Equilibrium in Aqueous Two-Phase Systems: L35 + Sodium Citrate + Water, L35 Sodium Tartrate + Water, and L35 + Sodium Hydrogen Sulfite + Water at Different Temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 57, p. 462–468. 2012.

VOROS, N.; PROUST, P.; FREDENSLUND, AA. Liquid-Liquid Phase Equilibria of Aqueous Two-Phase Systems containing Salts and Polyethylene Glycol. **Fluid Phase Equilibria**, v. 90, p. 333-353. 1993.

WALSH, G. **Proteins Biochemistry and Biotechnology**, 2a Ed., Wiley Blackwell, Hoboken, 2014.

WALTER, H., BROOKS, D.E., FISHER, D. **Partitioning in Aqueous Two-phase Systems: Theory, Methods, Uses and Applications in Biotechnology**. Academic Press, Orlando. 1985.

WATANABE, E. A.; POPOVA, E.; MIRANDA, E. A.; MAURER, G.; PESSÔA FILHO, P. A. Phase equilibria for salt induced lysozyme precipitation: Effect of salt type and temperature. **Fluid Phase Equilibria**, v. 281, p. 32-39, 2009.

WILSON, G. M. Vapour-liquid equilibrium. XI. A new expression for the excess free energy of mixing. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, p. 127-130. 1964.

XIE, X.; YAN, Y.; HAN, J.; WANG, Y.; YIN, G. GUAN, W. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Two-Phase Systems of PPG400 and Biodegradable Salts at Temperatures of (298.15, 308.15, and 318.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, p. 2857–2861. 2010.

XU, X.; MADEIRA, P. P.; MACEDO, E. A. Representation of liquid–liquid Equilibria for polymer-salt aqueous two-phase systems. **Chemical Engineering Science**, v. 59, p. 1153-1159. 2004.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; SADEGHI, R. Phase Diagram Data for Several PPG + Salt Aqueous Biphasic Systems at 25 °C. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 50, p. 947-950. 2005

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; SADEGHI, R.; HAMIDI, A. A. Liquid–liquid equilibria of an aqueous two-phase system containing polyethylene glycol and sodium citrate: experiment and correlation. **Fluid Phase Equilibria**, v. 219, p. 149–155. 2004a.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; SALABAT, A. Measurement and Correlation of Viscosities, Densities, and Water Activities for the System Poly(propylene glycol) + MgSO<sub>4</sub> + H<sub>2</sub>O at 25 °C. **Journal of Solution Chemistry**, v. 27, p. 663-673. 1998.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; SALABAT, A.; KABIRI-BADR, M. Volumetric Properties of PEG + Salt + Water. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 40, p. 559-562. 1995.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; SAMADI, F.; SADEGHI, M. Volumetric and ultrasonic studies of the system (water+polypropylene glycol 400) at temperatures from (283.15 to 313.15) K. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 36, p. 871–875. 2004b.

ZAFARANI-MOATTAR, M.; EMANIAN, S.; HAMZEHZADEH, S. Effect of Temperature on the Phase Equilibrium of the Aqueous Two-Phase Poly(propylene glycol) + Tripotassium Citrate System. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 53, p. 456-461. 2008.

ZAFARANI-MOATTAR, M.; GASEMI, J. Liquid-Liquid Equilibria of Aqueous Two-Phase Systems containing Polyethylene Glycol and Ammonium Dihydrogen Phosphate or Diammonium hydrogen Phosphate. Experiment and Correlation. **Fluid Phase Equilibria**, v. 198, p. 281-291. 2002.

ZAFARANI-MOATTAR, M.; HAMIDI, A. A. Liquid-Liquid Equilibria of Aqueous Two-Phase Poly(ethylene glycol)-Potassium Citrate System. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 48, p. 262-265. 2003.

ZAFARANI-MOATTAR, M.; SADEGHI, R. Measurement and Correlation of Liquid-Liquid Equilibria of the Aqueous Two-Phase System Polyvinylpyrrolidone-Sodium Dihydrogen Phosphate. **Fluid Phase Equilibria**, v. 203, p. 177-191. 2002.

ZAFARANI-MOATTAR, M.; SALABAT, A. Thermodynamics of magnesium sulfate–polypropylene glycol aqueous two-phase system. Experiment and correlation. **Fluid Phase Equilibria**, v. 152, p. 57-65. 2006.

ZASLAVSKY, B. Y. **Aqueous Two-phase Partitioning**. Marcel Dekker, Nova Iorque. 1995.

ZHANG, K.; YANG, J.; YU, X.; ZHANG, J.; WEI, X. Densities and Viscosities for Binary Mixtures of Poly(ethylene glycol) 400 þ Dimethyl Sulfoxide and Poly(ethylene glycol) 600 + Water at Different Temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 56, p. 3083–3088. 2011.

ZHANG, Y.; CREMER, P. S. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, p. 658–663. 2006.

ZIELENKIEWICZ, A.; ZIELENKIEWICZ, W. Comparison of enthalpy and apparent molar volume data on nucleating lysozyme solution at various  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2$  and  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  concentrations. **Journal of Molecular Liquids**, v. 121, p. 3–7. 2005.

ŽIVKOVIĆ, N. V.; ŠERBANOVIĆ, S. S.; KIJEVČANIN, M. LJ.; ŽIVKOVIC, E. M. Volumetric and Viscometric Behavior of Binary Systems 2-Butanol + PEG 200, + PEG 400, + Tetraethylene Glycol Dimethyl Ether, and + N-Methyl-2-pyrrolidone. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 58, p. 3332–3341. 2013.