

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

EDSON GERALDO MONTEIRO JUNIOR

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO DE
SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS CONTENDO PLURONIC L64[®] + ÁGUA + SAIS
DE SÓDIO**

Poços de Caldas

Setembro/2020

EDSON GERALDO MONTEIRO JUNIOR

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO DE
SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS CONTENDO PLURONIC L64[®] + ÁGUA + SAIS
DE SÓDIO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Termodinâmica.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Corrêa Basso

Poços de Caldas

Setembro/2020

Dados internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca campus Poços de Caldas

M764e Monteiro Junior, Edson Geraldo.
Estudo do comportamento do equilíbrio líquido-líquido de sistemas aquosos bifásicos contendo pluronic 164 ® + água + sais de sódio. / Edson Geraldo Monteiro Junior – Poços de Caldas /MG, 2020.

87 f.-

Orientador Rodrigo Corrêa Basso.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) –
Universidade Federal de Alfenas– Campus de Poços de Caldas, 2020.

Bibliografia

1. Equilíbrio líquido-líquido. 2. Sistemas aquosos bifásicos.3. Parâmetros termodinâmicos.
I. Basso, Rodrigo Corrêa. II. Título.

CDD - 660

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO DE SISTEMAS
AQUOSOS BIFÁSICOS CONTENDO PLURONIC L64 + ÁGUA + SAIS DE SÓDIO**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Engenharia Química.

Aprovada em: 18 de setembro de 2020.

Prof. Dr. Rodrigo Correa Basso

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Marcos Rogério Mafra

Instituição: Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. Luciano Sindra Virtuoso

Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Corrêa Basso, Professor do Magistério Superior**, em 21/09/2020, às 07:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Rogério Mafra, Usuário Externo**, em 22/09/2020, às 12:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciano Sindra Virtuoso, Professor do Magistério Superior**, em 25/09/2020, às 09:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0364389** e o código CRC **7971A2EA**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Edson e Noemi, que nunca recusaram amor e compreensão em todos os momentos de minha vida. A eles devo os exemplos de valores que nos fazem dignos como seres humanos. Em especial ao meu pai, que no momento em que pensei em desistir, aconselhou-me a seguir no caminho certo.

À Daniela de Cássia, minha esposa. Que tenhamos a certeza de que, pelo resto de nossas vidas, olharemos para o lado e enxergaremos um ao outro.

Ao João Victor, meu filho, que sempre espalha alegria e amor por onde passa e faz com que todos os meus dias sejam mais felizes pela sua presença.

Aos meus avós, que faziam o impossível para que pudesse ser estampado um sorriso em meu rosto.

Ao meu orientador, professor doutor Rodrigo Correa Basso, não só pelos conhecimentos passados durante a orientação, mas por toda a compreensão e ajuda durante esse período.

Ao professor Marlus Rolemborg, pela oferta de uma disciplina específica que contribuiu bastante para o desenvolvimento do projeto e possibilitou o cumprimento da carga horária necessária de aulas.

Ao colega Otto Quispe, por todo o conhecimento experimental e teórico compartilhado e que foram de grande valia para esta dissertação.

Aos demais colegas de laboratório, pelas horas convivas nestes dois anos.

Aos meus amigos e familiares que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para que esta etapa pudesse ser concretizada.

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia da Universidade Federal de Alfenas, pela oportunidade ofertada.

Ao IFSULDEMINAS, pelo Programa de Incentivo à Qualificação.

A Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG, Processo: TEC – APQ - 01412-16) pelo financiamento do projeto; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo: 420355/2016-2) pelo apoio com estrutura física complementar.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“Lembre-se que as pessoas podem tirar tudo
de você, menos o seu conhecimento”*

(EINSTEIN, 1947)

RESUMO

Os sistemas aquosos bifásicos constituem-se de duas fases líquidas em equilíbrio termodinâmico. São sistemas com potencial de aplicação na substituição e simplificação de etapas em processos de extração e purificação, em especial de biocompostos. Assim, este trabalho objetiva a avaliação experimental do comportamento do equilíbrio líquido-líquido de sistemas aquosos bifásicos constituídos por Pluronic L64 ® + água + sais de sódio bem como de sistemas contendo glicose, variando-se o pH do meio e avaliando o efeito da temperatura sobre estes sistemas também por meio de comparação com dados da literatura. Neste estudo foram discutidos: as variações de energia de Gibbs, de entalpia e de entropia de micelização; a variação de energia de Gibbs de solvatação e o efeito dos volumes de hidratação dos íons sobre o comportamento de separação de fases. As curvas binodais foram obtidas por titulação turbidimétrica e as composições das linhas de amarração foram calculadas seguindo a metodologia de Merchuk. Foi observado que o sulfato de sódio apresentou maior efeito de separação de fases, seguido pelo citrato de sódio e tartarato de sódio. Maiores valores de pH resultam em menores regiões bifásicas, efeito também observado em função do aumento da temperatura. Os coeficientes de partição mostraram que há maior distribuição de polímero e sal entre as fases à medida que o eletrólito é adicionado, enquanto que o coeficiente de partição da glicose não sofreu alterações significativas. A variação da energia livre de Gibbs de micelização indica que a separação de fases nos sistemas é espontânea e que a 293,15K os resultados estão relacionados com a energia de Gibbs de hidratação dos íons. Por outro lado, os resultados a 278,15K e 298,15K indicam a predominância do menor volume parcial molar do sulfato de sódio sobre o processo de separação de fases. A análise da variação de entropia de micelização indicou ainda que tratam-se de sistemas exotérmicos e que houve alteração na conformação do polímero em solução em maiores concentrações de sal. A variação da entropia de micelização mostrou que os sistemas são mais desordenados em menores concentrações de sal e que a ordem adicionada ao sistema em razão da formação de micelas poliméricas é superior à desordem acrescentada pela adição de sal. Neste contexto, o presente estudo adicionou novas interpretações sobre o fenômeno de separação de fases para os sistemas estudados por meio de uma abordagem baseada exclusivamente em parâmetros termodinâmicos.

Palavras-chave: Equilíbrio líquido-líquido; Sistemas aquosos bifásicos; Pluronic L64 ®; Volume iônico de hidratação; Parâmetros termodinâmicos

ABSTRACT

Two-phase aqueous systems consist of two liquid phases in thermodynamic equilibrium. These are systems with potential for application in the replacement and simplification of stages in extraction and purification processes, especially biocomposites. Thus, this work aims to experimentally evaluate the liquid-liquid balance behavior of two-phase aqueous systems consisting of Pluronic L64 ® + water + sodium salts as well as systems containing glucose, varying the pH of the medium and evaluating the effect of temperature on these systems also by comparison with data from the literature. In this study, the following were discussed: variations in Gibbs energy, enthalpy and entropy of mycelization; the Gibbs energy variation of solvation and the effect of ion hydration volumes on the phase separation behavior. The binodal curves were obtained by turbidimetric titration and the compositions of the tie-lines were calculated following the Merchuk methodology. It was observed that sodium sulfate showed a greater phase separation effect, followed by sodium citrate and sodium tartrate. Higher pH values result in smaller biphasic regions, an effect also observed due to the increase in temperature. The partition coefficients showed that there is a greater distribution of polymer and salt between the phases as the electrolyte is added, while the glucose partition coefficient did not change significantly. The variation in Gibbs free energy from micellization indicates that the phase separation in the systems is spontaneous and that at 293.15K the results are related to the Gibbs energy of ion hydration. On the other hand, the results at 278.15K and 298.15K indicate the predominance of the lower partial molar volume of sodium sulfate over the phase separation process. The analysis of the entropy variation of mycelization also indicated that they are exothermic systems and that there was a change in the conformation of the polymer in solution at higher concentrations of salt. The variation in mycelization entropy showed that the systems are more disordered at lower concentrations of salt and that the order added to the system due to the formation of polymeric micelles is higher than the disorder added by the addition of salt. In this context, the present study added new interpretations on the phenomenon of phase separation for the systems studied through an approach based exclusively on thermodynamic parameters.

Keywords: Liquid-liquid balance; Two-phase aqueous systems; Pluronic L64 ®; Ionic volume of hydration; Thermodynamic parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de fases em coordenadas retangulares. _____	25
Figura 2 - Diagrama de fases em coordenadas triangulares. _____	25
Figura 3 - Estrutura molecular do Pluronic L64 ® _____	30
Figura 4 - Esquema para determinação das curvas binodais. _____	33
Figura 5 - Fluxograma de obtenção das curvas binodais com pH = 7,5. _____	34
Figura 6 - Fluxograma de obtenção das curvas binodais para diferentes pHs para sistemas com sulfato de sódio. _____	35
Figura 7 - Fluxograma de obtenção das curvas binodais para diferentes pHs para sistemas com citrato de sódio e tartarato de sódio. _____	36
Figura 8 - Fluxograma do processo de obtenção da curva binodal para sistemas com glicose. _____	37
Figura 9 - Fluxograma de obtenção das composições das linhas de amarração. _____	38
Figura 10 - Fluxograma de obtenção do coeficiente de partição da glicose. _____	41
Figura 11 - Curvas binodais para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio em pHs (—) 5,0, (—) 7,5 e (—) 10,0/ citrato de sódio em pHs (--) 5,0, (--) 7,5 e (--) 10,0/ tartarato de sódio em pHs (···) 5,0, (···) 7,5 e (···) 10,0 _____	45
Figura 12 - Linhas de amarração para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●)5,0 e (●)10,0. _____	55
Figura 13 - Linhas de amarração para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + citrato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●)5,0 e (●)10,0. _____	55
Figura 14 - Linhas de amarração para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + tartarato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●)5,0 e (●)10,0. _____	56
Figura 15 - Coeficientes de distribuição do polímero para sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio a (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0; Pluronic L64 ® + água + citrato de sódio a (■) 7,5, (■) 5,0 e (■) 10,0 e Pluronic L64 ® + água + tartarato de sódio a (▲) 7,5, (▲) 5,0 e (▲) 10,0. _____	58

Figura 16 - Coeficientes de distribuição do sal para sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio a (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0; Pluronic L64 ® + água + citrato de sódio a (■) 7,5, (■) 5,0 e (■) 10,0 e Pluronic L64 ® + água + tartarato de sódio a (▲) 7,5, (▲) 5,0 e (▲) 10,0. _____ 58

Figura 17 - Curvas binodais para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio em (–) 278K, (–) 288K e (–) 298K com os dados retirados de Rodrigues *et al* (2009)/ citrato de sódio em (–) 278K, (–) 293K e (–) 298K com os dados retirados de Andrade *et al* (2011)/ tartarato de sódio em (–) 278K, (–) 293K e (–) 298K com os dados retirados de Andrade *et al* (2011) _____ 59

Figura 18 - Variação de energia micelização de Gibbs para sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio a (●) 278,15K, (●) 288,15K e (●) 298,15K; Pluronic L64 ® + água + citrato de sódio a (■) 278,15K, (■) 293,15K e (■) 298,15K e Pluronic L64 ® + água + tartarato de sódio a (▲) 278,15K, (▲) 293,15K e (▲) 298,15K _____ 62

Figura 19 - Variação da entalpia de micelização para o sistema constituído por Pluronic L64 ® + água + (●) sulfato de sódio, (●) citrato de sódio ou (●) tartarato de sódio _____ 63

Figura 20 - Variação de entropia de micelização para sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio a (●) 278,15K, (●) 288,15K e (●) 298,15K; Pluronic L64 ® + água + citrato de sódio a (■) 278,15K, (■) 293,15K e (■) 298,15K e Pluronic L64 ® + água + tartarato de sódio a (▲) 278,15K, (▲) 293,15K e (▲) 298,15K. _____ 64

Figura 21 - Comportamento do sistema contendo Pluronic L64 ®, glicose e água. _____ 67

Figura 22 - Coeficiente de partição da glicose em sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + (●) sulfato de sódio, (◆) citrato de sódio e (■) tartarato de sódio. _____ 69

Figura 23 – Curvas binodais e linhas de amarração em termos de fração mássica para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●)5,0 e (●)10,0. _____ 78

Figura 24 - Curvas binodais e linhas de amarração em termos de fração mássica para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + citrato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●)5,0 e (●)10,0. _____ 79

Figura 25 - Curvas binodais e linhas de amarração em termos de fração mássica para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + tartarato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●)5,0 e (●)10,0. _____ 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos sistemas sem a presença de sal. _____	44
Tabela 2 - Ajustes matemáticos para os sistemas contendo Pluronic L64 ® + sal + água em diferentes pHs. _____	48
Tabela 3 - Dados de especiação do citrato de sódio em função do pH do sistema _____	50
Tabela 4 - Dados de especiação do sulfato de sódio em função do pH do sistema _____	50
Tabela 5 - Dados de especiação do tartarato de sódio em função do pH do sistema _____	51
Tabela 6 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio + água em diferentes pHs. _____	52
Tabela 7 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + citrato de sódio + água em diferentes pHs. _____	53
Tabela 8 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + tartarato de sódio + água em diferentes pHs. _____	54
Tabela 9 - Energias de Gibbs de hidratação, eletrostrição, neutralização e assimetria dos ânions _____	62
Tabela 10 - Volume molar parcial padrão, volume de eletrostrição 01 e volume de eletrostrição 02 dos ânions _____	63
Tabela 11 - Contribuições entrópicas do sal em cada sistema _____	65
Tabela 12 - Composição das linhas de amarração para os sistemas contendo Pluronic L64 ®, glicose e água em pH 7,5. _____	68
Tabela 13 - Dados sobre o coeficiente de partição da glicose _____	70
Tabela 14 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio + água em diferentes pHs. _____	80
Tabela 15 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + citrato de sódio + água em diferentes pHs. _____	81
Tabela 16 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + tartarato de sódio + água em diferentes pHs. _____	82

Tabela 17 – Dados retirados do trabalho de Rodrigues *et al* (2009) para sulfato de sódio __ 85

Tabela 18 - Dados retirados do trabalho de Andrade et al (2011) para citrato de sódio ____ 86

Tabela 19 - Dados retirados do trabalho de Andrade et al (2011) para tartarato de sódio ____ 87

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS (SABs)	16
3.1.1	Histórico	16
3.1.2	Equilíbrio termodinâmico	17
3.1.3	Equilíbrio líquido-líquido	18
3.1.4	Propriedades termodinâmicas	20
3.1.5	Estudo das propriedades termodinâmicas aplicadas em SABs	21
3.1.6	Processo de Micelização	22
3.1.7	Processo de hidratação do íon	23
3.1.8	Formas de representação de equilíbrio líquido-líquido	24
3.1.9	Influência da temperatura no comportamento do Equilíbrio Líquido-Líquido dos SABs	26
3.1.10	Influência do pH no comportamento do Equilíbrio Líquido-Líquido dos SABs	28
3.1.11	Influência dos sais no comportamento do Equilíbrio Líquido-Líquido dos SABs	29
3.1.12	SABs contendo Pluronic L64 [®]	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1	COMPONENTES	32
4.2	EQUIPAMENTOS	32
4.3	MÉTODOS EXPERIMENTAIS	33
4.3.1	Teste de separação de fases do sistema Pluronic L64 [®] e água	33
4.3.2	Determinação das curvas binodais com pH 7,5	33
4.3.3	Determinação das curvas binodais a diferentes pHs	34
4.3.4	Determinação das curvas binodais no sistema com Pluronic L64 [®] + água + glicose	36
4.3.5	Obtenção experimental das composições das linhas de amarração para sistemas contendo Pluronic L64 [®] + água + sal	37
4.3.5.1	Obtenção das composições das linhas de amarração	38
4.3.6	Obtenção das composições das linhas de amarração para sistemas contendo Pluronic L64 [®] + água + glicose	39
4.3.7	Obtenção do coeficiente de partição da glicose	40
4.4	MÉTODOS DE CÁLCULO	42
4.4.1	Cálculo da contribuição entrópica	42
4.4.2	Cálculo dos volumes dos íons	42
4.4.3	Cálculo das energias de Gibbs de neutralização, eletrostrição e assimetria dos íons	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	44
5.1	COMPORTAMENTO DO SISTEMA POLÍMERO + ÁGUA	44

5.2	INFLUÊNCIA DOS ÂNIOS SO_4^{-2} , $C_6H_5O_7^{-3}$ E $C_4H_4O_6^{-2}$ NAS CURVAS BINODAIS	44
5.3	INFLUÊNCIA DO pH NAS CURVAS BINODAIS	46
5.4	MODELAGEM MATEMÁTICAS DAS CURVAS BINODAIS	47
5.5	COMPOSIÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO	49
5.6	COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DOS COMPONENTES	56
5.7	INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NAS CURVAS BINODAIS	59
5.8	ANÁLISE DAS PROPRIEDADES TERMODINÂMICAS	61
5.9	COMPORTAMENTO DOS SISTEMAS CONTENDO GLICOSE	66
6	CONCLUSÕES	72
	REFERÊNCIAS	73
	APÊNDICE A – CURVAS BINODAIS E LINHAS DE AMARRAÇÃO EM TERMOS DE FRAÇÃO MÁSSICA	78
	APÊNDICE B – COMPOSIÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO EM TERMOS DE FRAÇÃO MÁSSICA	80
	APÊNDICE C – AJUSTES UTILIZADOS PARA CÁLCULO DA ENTALPIA	83
	ANEXO I – DADOS RETIRADOS DO TRABALHO DE RODRIGUES <i>et al</i> (2009)	85
	ANEXO II – DADOS RETIRADOS DO TRABALHO DE ANDRADE <i>et al</i> (2011)	86

1 INTRODUÇÃO

Na área de biotecnologia existe uma grande preocupação com as técnicas de purificação de enzimas utilizadas nas plantas bioquímicas, uma vez que o custo de tal etapa representa grande parte do custo total da produção destes biocompostos. Atualmente são empregadas em associação, principalmente, técnicas de filtração, centrifugação e extração líquido-líquido na purificação desses componentes. Além do custo, estas técnicas podem apresentar ambientes desfavoráveis à preservação de proteínas, já que a utilização de solventes orgânicos pode modificar o produto de interesse, podendo resultar, em alguns casos, na sua desnaturação. Na tentativa de viabilizar projetos mais atrativos economicamente e que possam fornecer, além disso, produtos mais baratos, tecnologias cada vez mais avançadas tem sido empregadas e tem contribuído significativamente para o avanço do setor. Tal situação também está alinhada às descobertas e novas formulações de componentes químicos que podem fornecer à enzima um ambiente favorável para sua fabricação.

Dessa forma, a necessidade de técnicas de purificação que apresentem elevados índices de recuperação e pureza do produto obtido sem a utilização de componentes que agredam o produto de interesse e que sejam, além destes fatores, economicamente viáveis, é importante, pois sua utilização pode ocasionar grande economia de recursos e tornar o produto final mais acessível em várias processos industriais aplicados atualmente. Nesse sentido os sistemas aquosos bifásicos (SABs), também chamados de ATPS (acrônimo do termo em inglês *Aqueous Two-Phase System*) apresentam-se como uma alternativa com potencial promissor de aplicação, já que são sistemas em que há, em ambas as fases, a presença majoritária de água, formando um ambiente favorável à proteínas e organismos celulares. Além desse fato, os SABs também apresentam outras características importantes, como a espontaneidade do processo, o fato de ser ambientalmente seguro e a facilidade de transferência de componentes entre as fases, uma vez que possuem baixos valores de tensões superficiais.

A separação de fases em SABs ocorre em uma dada faixa de concentração dos componentes e temperatura do sistema, sendo que concentrações fora desta faixa dão origem a um sistema homogêneo, não havendo separação de fases. Por este motivo, o conhecimento prévio das características do sistema empregado é de fundamental importância para o sucesso da operação. Nesta coexistência de fases, sob o ponto de vista termodinâmico, as propriedades intensivas se mantém constante ao longo do processo, tais como temperatura, pressão e

potencial químico dos componentes, porém com alterações consideráveis em parâmetros extensivos do sistema, como a quantidade de cada componente presente em cada uma das fases.

A separação de fases em SABs foi observado pela primeira vez por Beijerinck, em 1896, entretanto, seus estudos começaram a ser aprimorados por Albertsson, anos mais tarde, que analisou o comportamento do equilíbrio líquido-líquido de uma gama de sistemas contendo polietileno glicol + dextrana + água.

O fenômeno de separação de fases depende das interações moleculares dos constituintes dos sistemas. Estas interações também são as responsáveis por todas as demais propriedades físico-químicas de ambas as fases. Podem existir, para cada sistema, pares de componentes com interações termodinamicamente favoráveis ou desfavoráveis à separação de fases. Além disso, essas interações são dependentes do estado termodinâmico em que o sistema se encontra, ou seja, de sua composição, temperatura e pressão. No caso específico de SABs compostos por polímero + sal + água, pode-se dizer, de maneira genérica, que a separação de fases ocorre graças à hidratação das moléculas de sal que ocorre após sua adição, fazendo com que as micelas originárias do rearranjo polimérico em solução deem origem à uma nova fase distinta dentro do sistema.

Neste contexto, alguns fatores podem influenciar o comportamento do SAB, o que dificulta o conhecimento do comportamento do equilíbrio líquido-líquido deste tipo de sistema. Parâmetros como pH, tipo de sal, tipo do polímero e temperatura podem viabilizar ou inviabilizar determinados conjuntos de espécies químicas para a formação de SABs. Esta gama de fatores que podem ter influência sobre um sistema, somado à falta de estudos aprofundados sobre o assunto acabam inviabilizando sua aplicação em larga escala industrial atualmente.

É possível encontrar, na literatura, trabalhos que relacionam o aumento da temperatura com o aumento da região bifásica do sistema, assim como trabalhos que indicam a diminuição da região bifásica em função do aumento do parâmetro. Esse comportamento também é observado para os demais parâmetros que influenciam o comportamento do equilíbrio líquido-líquido do sistema, como o pH e o tipo de sal utilizado, e isso indica a peculiaridade de cada combinação de componentes e situações específicas de estados termodinâmicos alcançados em cada circunstância e também a necessidade de estudos aprofundados sobre a combinação de diferentes componentes para que sua aplicação em escala industrial possa ser viabilizada.

Desta forma, o presente trabalho visa o estudo do comportamento do equilíbrio líquido-líquido dos sistemas aquosos bifásicos compostos por polímero Pluronic L64 ® + água + sais de sódio que possam ser aplicados em processos de purificação de biocompostos, em especial proteínas. Os componentes escolhidos justificam-se pelo baixo conhecimento prévio de informações acerca de sistemas em que estão presentes e a possibilidade de comparação de utilização de um sal inorgânico e sais orgânicos biodegradáveis, além da falta de estudos sobre a influência do pH e também de parâmetros termodinâmicos importantes, objetivando caracterizar e obter dados que ajudem a conhecer conjuntos de espécies químicas que possam viabilizar a aplicação dos SABs em maior escala. O comportamento dos sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + glicose também foi estudado, já que a glicose é um componente importante e está presente em concentrações relevantes em vários processos biotecnológicos, principalmente nos que utilizam etapas de fermentação ao longo da cadeia de produção, assim como também foi verificada como é a distribuição desse açúcar em sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + sais de sódio em temperatura constante.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o comportamento do equilíbrio líquido-líquido dos sistemas aquosos bifásicos compostos por polímero Pluronic L64 ® + água + sais (sulfato de sódio ou citrato de sódio ou tartarato de sódio).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as curvas binodais para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio ou citrato de sódio ou tartarato de sódio para valores de pHs de 5,0, 7,5 e 10,0;
- Calcular as composições das linhas de amarração dos sistemas compostos por Pluronic L64 ® + água + sais nos pHs 5,0, 7,5 e 10,0;
- Calcular os valores de energia de Gibbs, entalpia e entropia para os sistemas estudados;
- Analisar o coeficiente de distribuição dos componentes entre as fases de cada sistema;
- Obter a curva binodal para o sistema constituído por Pluronic L64 ® + água + glicose;
- Avaliar a composição das linhas de amarração para o sistema constituído por Pluronic L64 ® + água + glicose;
- Analisar a partição da glicose em sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + água + sais em pH 7,0.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS (SABS)

Os SABS são sistemas em equilíbrio líquido-líquido formado por duas fases em que há, majoritariamente em ambas, água. Comumente são sistemas formados por polímero1 + polímero2 + água, álcool + sal + água ou polímero + sal + água, sendo este último o mais utilizado (SOUSA *et al*, 2016). Estes sistemas apresentam características importantes de trabalho como baixo custo, baixa toxicidade, pequenos valores de tensões superficiais entre as fases além do ambiente termodinamicamente favorável a compostos biológicos (NASCIMENTO *et al*, 2016).

3.1.1 Histórico

As primeiras observações relacionadas aos SABS são de 1896, quando Beijerinck notou que soluções aquosas constituídas de ágar e gelatina ou ágar e amido, quando misturadas em determinadas faixas de temperatura e concentração, formavam misturas turvas. Após um determinado tempo, estas misturas separavam-se de forma espontânea em duas fases límpidas, sendo a fase superior rica em gelatina ou amido e a fase inferior rica em ágar (BEIJERINCK, 1986).

Posteriormente, Ostwald e Hertel observaram que diferentes tipos de amido davam origem à diferentes diagramas de fases. Tal resultado foi importante pois já demonstrava que diferentes componentes presentes nos sistemas tinham grandes influências nas interações moleculares do processo e, conseqüentemente, sobre a composição de cada uma das fases (OSTWALD; HERTEL, 1929).

No final da década de 1940, Dobry e Boyer-Kawenoki estudaram a miscibilidade de uma variedade de polímeros dissolvidos em soluções aquosas e também em solventes orgânicos. Os resultados mostraram que a grande maioria dos sistemas estudados apresentavam a formação de duas fases límpidas (DOBRY; KAWENOKI, 1947).

Entretanto, apenas com os trabalhos de Albertsson em 1956, a evidência do grande potencial dos SABS foi realmente mostrada. O estudo compreendia sistemas formados por

polietilenoglicol – PEG – e dextrana e mostrava que os valores da tensão superficial do sistema eram influenciados pela massa molar dos componentes presentes, sendo este fator influente também sobre o comprimento da linha de amarração – CLA (ALBERTSSON, 1963; ALBERTSSON; RYDER, 1971).

A partir de então, uma grande quantidade de trabalhos e estudos foram realizados com o objetivo de descobrir, aplicar e caracterizar novos SABs visando a partição de produtos específicos.

3.1.2 Equilíbrio termodinâmico

Os SABs constituem-se de duas fases líquidas em equilíbrio termodinâmico. Para que este equilíbrio seja estabelecido, é necessário que coexistam os equilíbrios mecânico, térmico e químico, que são representados, respectivamente, pelas Equações 01, 02 e 03.

$$T^{(\alpha)} = T^{(\beta)} = \dots = T^{(\pi)} \quad (01)$$

$$P^{(\alpha)} = P^{(\beta)} = \dots = P^{(\pi)} \quad (02)$$

$$\mu_i^{(\alpha)} = \mu_i^{(\beta)} = \dots = \mu_i^{(\pi)} \quad (03)$$

Em que T é a temperatura, P significa pressão, μ representa o potencial químico da espécie i e α e β representam as fases em equilíbrio presentes no sistema.

Para o estado de equilíbrio termodinâmico, o número de propriedades intensivas independentes necessárias para a determinação das propriedades de uma fase é conhecido como graus de liberdade e pode ser obtido através da Regra das Fases de Gibbs, demonstrada pela Equação 04 (KORETSKY, 2007).

$$\tau = m - \pi + 2 \quad (04)$$

Em que τ é o número de graus de liberdade do sistema, m representa o número de componentes químico e π a quantidade de fases.

Em um sistema binário em equilíbrio composto por duas fases, a regra das fases de Gibbs permite concluir que duas variáveis, tais como pressão e temperatura, determinam completamente a composição desse sistema. Cada componente adicional acrescenta também um novo grau de liberdade, sendo este a sua concentração em uma das fases. Dessa forma, para temperatura e pressão constantes, caso sua composição em uma das fases seja especificada, a concentração na outra fase não pode ser alterada sem que haja nova alteração no sistema (PRAUSNITZ; LICHTENTHALER; AZEVEDO, 1999)

3.1.3 Equilíbrio líquido-líquido

Lewis (1961) demonstrou que o termo referente ao equilíbrio químico e que, até então, era definido em termos de potencial químico, poderia ser melhor determinado utilizando-se a fugacidade do componente. Neste sentido, o equilíbrio termodinâmico passa a ser representado pela temperatura, pressão e fugacidade, substituindo-se a Equação 03 pela Equação 05, abaixo.

$$f_i^{(\alpha)} = f_i^{(\beta)} = \dots = f_i^{(\pi)} \quad (05)$$

Em que f é a fugacidade do componente i na fase α , β ... e π .

De acordo com Treybal (1963), a variação da pressão exerce pouquíssima influência para sistemas líquidos, portanto, o critério de equilíbrio mecânico pode ser desprezado, já que os sistemas são trabalhados à pressão ambiente. Adicionalmente, tratam-se de sistemas em que a temperatura é mantida constante durante todo o processo de separação de fases, isto significa que o critério de equilíbrio térmico é atendido. Consequentemente, o critério de equilíbrio termodinâmico passa a ser apenas o equilíbrio químico, ou seja, a igualdade da fugacidade de cada componente em cada uma das fases. Dessa forma, a Equação 06 demonstra que este critério pode ser definido utilizando-se como estado de referência a Regra de Lewis-Randall para o cálculo da fugacidade na fase líquida.

$$x_i^{(\alpha)} \gamma_i^{(\alpha)} f_i^0 = x_i^{(\beta)} \gamma_i^{(\beta)} f_i^0 \quad (06)$$

Em que x_i representa a fração molar do componente i nas fases α e β , γ é o coeficiente de atividade da espécie e f_i^0 a fugacidade do componente no estado de referência padrão. Este último termo pode ser cancelado, pois tratam-se de sistemas em que ambas as fases são líquidas e, portanto, o estado de referência padrão é o mesmo para ambos os termos. Sendo assim, após o cancelamento de ambos os termos referentes à fugacidade no estado de referência, tem-se então a equação que representa o equilíbrio líquido-líquido existente em um SAB, demonstrada pela Equação 07 (KORETSKY, 2007).

$$x_i^{(\alpha)} \gamma_i^{(\alpha)} = x_i^{(\beta)} \gamma_i^{(\beta)} \quad (07)$$

O cálculo do coeficiente de atividade é realizado por meio da energia livre de Gibbs em excesso, que por sua vez é escrita em termos da energia livre de Gibbs parcial molar, conforme demonstra a Equação 08 (HILLERT, 2008).

$$RT \ln \gamma_i = g_i^E = \left(\frac{\partial g^E}{\partial n_i} \right)_{P, T, n_{j \neq i}} \quad (08)$$

Em que R é a constante universal dos gases, T é a temperatura, g^E representa a energia de Gibbs em excesso do componente i , n é o número de mols do componente i presente no sistema, e os índices P , T e $n_{j \neq i}$ indicam que a derivada parcial deve ser feita mantendo-se estes parâmetros constantes.

A formação de duas fases aquosas durante o processo de mistura dos componentes do sistema – polímero + água + sal – depende das interações moleculares entre seus constituintes. Tais interações são expressas na forma da energia livre de Gibbs, conforme já exposto. Estas mesmas interações são as responsáveis por todas as demais características do sistema, como a relação de volume entre as fases, a distribuição das diferentes espécies, as

características da interface e do coeficiente de partição de determinado soluto, caso seja utilizado.

Em sistemas em equilíbrio, cada par de componentes dá origem a interações moleculares que podem ser favoráveis ou desfavoráveis à formação de fases distintas e que são influenciadas pela temperatura em que se encontram. Pode-se dizer que nos sistemas que possuem $\Delta G_{\text{mis}} < 0$, a mistura dos componentes forma um sistema homogêneo. Para os casos em que $\Delta G_{\text{mis}} > 0$, o sistema procura um novo arranjo com a menor energia livre possível que resulta na formação de duas fases. Em sistemas com temperatura e pressão constantes, essa variação da energia livre da mistura ocorre apenas em função da variação na composição de um dos componentes presentes no sistema (SILVA; LOH, 2006).

Zang, Karlstrom e Lindman (1994), verificaram que num sistema formado por dextrana + polietilenoglicol + água existem interações desfavoráveis decorrentes da interação dos dois polímeros e que este mecanismo é o responsável pela separação das fases. O estudo concluiu que a associação de surfactantes iônicos à polímeros não-iônicos pode acarretar aumento da solubilidade do composto não-iônico em decorrência da concentração de íons em uma das fases, o que gera uma outra fase rica em composto não-iônico e água.

Já Thalberg e Lindman (1993) observaram um comportamento contrário no estudo de dois sistemas: o primeiro contendo dodecilsulfato de sódio + brometo de sódio + água e outro com dodecilsulfato de sódio + hidreto de sódio + água, no qual o contato entre segmentos diferentes do surfactante com os eletrólitos deram origem a fortes interações moleculares. Neste caso a separação de fases ocorreu devido às interações eletrostáticas existentes entre cargas positivas do surfactante com cargas negativas do brometo de sódio, no primeiro caso, e cargas também positivas do hidreto de sódio para o segundo sistema.

3.1.4 Propriedades termodinâmicas

O conhecimento das propriedades termodinâmicas de um sistema é de fundamental importância para que se tenha a correta interpretação de grande parte dos fenômenos físicos e químicos que estão ocorrendo e em quais níveis de grandeza estas mudanças acontecem. A energia livre de Gibbs, por exemplo, é um parâmetro que permite avaliar como ocorrem as interações moleculares do processo. Trata-se de uma propriedade importante pois seu valor indica se um processo pode ocorrer de forma espontânea ou se é necessário o fornecimento de

alguma força motriz para que ele aconteça (SMITH *et al*, 2007). Além disso, a variação de energia livre de Gibbs de micelização é função das interações resultantes das espécies presentes em solução, dando origem a uma contribuição entálpica, bem como das diferentes distribuições das moléculas na solução, o que dá origem à contribuição entrópica (SILVA, LOH; 2006).

Outra propriedade fundamental para a análise termodinâmica de um processo, a variação da entalpia de micelização pode ser obtida, conforme publicado por Sadeghi e Jamehbozorg (2009), através do valor do coeficiente angular do gráfico plotado de $\Delta G/T$ em função de $1/T$, conforme Equação 09.

$$\frac{d(\Delta G_{mic}/T)}{d(1/T)} = \Delta H_{mic} \quad (09)$$

Por fim, pode-se, através da equação de Gibbs-Helmholtz, calcular a entropia de micelização do sistema com os valores obtidos de energia livre de Gibbs e variação de entalpia, conforme Equação 10.

$$\Delta S_{mic} = \frac{\Delta H_{mic} - \Delta G_{mic}}{T} \quad (10)$$

Entalpia e entropia são propriedades importantes, pois demonstram as variações de energia existentes em decorrência de interações moleculares entre os componentes do sistema, no caso da entalpia, e as variações de energia provenientes da conformação e ocupação do espaço disponível pelas moléculas desses componentes, no caso da entropia.

3.1.5 Estudo das propriedades termodinâmicas aplicadas em SABS

Sadeghi e Jamehbozorg (2009) verificaram que a separação de fases ocorrida em um sistema contendo poli(propileno glicol) + água + hidrogenofosfato dissódico ou

hidrogenofosfato trisódico é um processo endotérmico, já que a entalpia calculada ficou entre 56,40 e 82,60 kJ/mol para os sistemas contendo 0,01 a 0,04 de fração molar de sal. O trabalho mostrou ainda que no processo ocorreu um aumento da entropia resultante da desordem provocada pela solvatação do polímero na separação de fases.

Silva e Loh (2000) analisaram sistemas contendo poli(óxido de etileno) + água + dextrana ou sais de sódio e lítio e concluíram que, no caso dos sistemas contendo dois polímeros e água, a contribuição entálpica não foi tão relevante para a formação de duas fases, enquanto que para os sistemas contendo sal, este parâmetro mostrou-se importante durante o processo. Em ambos os casos o processo foi acompanhado de um aumento da entalpia.

Um outro estudo verificou em SABs contendo poli(vinilpirrolidona) + água + cloreto de sódio/cloreto de potássio/brometo de potássio/sulfato de sódio/sulfato de magnésio/fosfato de sódio que, em todos os casos, os valores de energia livre de Gibbs de hidratação foram negativos, conforme esperado. Por outro lado, os sistemas apresentaram valores de variação de entalpia e variação de entropia positivos, o que levou os autores a sugerirem que as moléculas de polímero estavam soltas, desordenadas e dissolvidas em solução, aumentando a desordem dos sistemas. O trabalho concluiu ainda que a dessolvatação do polímero apresentou uma contribuição importante para que os valores sofressem essa inversão, saindo de negativos em relação à energia livre de Gibbs de hidratação e passando para positivos para as variações de entalpia e entropia (DAN; GOSH; MOULIK, 2008).

3.1.6 Processo de Micelização

Os polímeros surfactantes possuem duas regiões distintas: uma parte que tem afinidade com a água, chamada de região hidrofílica, e uma outra parte denominada hidrofóbica, que não possui afinidade com a água. Quando estão em solução, o processo que ocorre tende a maximizar o contato da parte hidrofílica com a água e minimizar este contato com a parte hidrofóbica, dando origem às micelas (TANFORD, 1980).

A micela formada após a interação entre polímero e água possui, na maioria dos casos, a cabeça do polímero localizada em sua superfície, já que se trata da parte hidrofílica do componente e que mantém contato com a água, enquanto que sua parte interna é composta pela parte hidrofóbica. As micelas podem ser de diferentes tamanhos e formatos, sendo esta característica uma função do polímero utilizado e das condições do meio em que se

encontram. É possível, ainda, que um mesmo composto forme diferentes tipos de micelas também em função de sua concentração em solução.

A presença das micelas em solução resulta em uma mudança significativa de suas propriedades físicas e químicas, e a concentração em que ocorre o início da formação desses agregados micelares é chamado concentração micelar crítica (CMC). Outro fator importante para a caracterização do processo é o número de agregação, que representa a quantidade média de moléculas presentes em uma micela (SANTOS, 2014).

Conforme demonstrado por Corkill, Goodman e Harrold (1964), em SABs a energia livre de Gibbs de micelização das moléculas do polímero pode ser calculada através da Equação 11, devido à consideração de que o ponto de turvação é o ponto de separação de fases e, portanto, no qual ocorre o limite de solubilidade do sistema, além da consideração de que todas as micelas presentes formam uma nova fase no sistema.

$$\Delta G_{mic} = RT \ln(x) \quad (11)$$

Em que x é a fração molar de polímero.

3.1.7 Processo de hidratação do íon

Marcus (1991) detalhou o fenômeno de hidratação de íons em sistemas aquosos. Segundo o estudo, ao acrescentar o soluto ao sistema, o ambiente do íon é dividido em três camadas, sendo a primeira denominada camada de hidratação e as outras duas as camadas de eletrostrição 01 e eletrostrição 02. A interação do íon com a água ocorre em três etapas: inicialmente, ocorre a formação de uma cavidade na água dentro da camada de hidratação e o íon perde sua valência, ficando como uma espécie neutra. O íon é, então, transferido para a cavidade criada na água e no último estágio o íon é recarregado à carga original. O trabalho realizado na interação consiste na absorção de energia necessária para a criação da cavidade na camada de hidratação e na liberação de energia que ocorre após a interação, resultante da interação elétrica entre o sal e o solvente por meio de forças de dispersão ou dipolo induzido. A carga elétrica do íon e a energia elétrica deste campo resultam em uma saturação dielétrica.

O trabalho eletrostático realizado pela espécie é desconsiderado, uma vez as quantidades equivalentes de cátions e ânions presentes em solução se anulam. Essas três etapas são as principais contribuições para a energia livre de Gibbs de hidratação da molécula e estão englobadas na Equação 12, pela qual podemos calcular a Energia de Gibbs de hidratação da molécula.

$$\Delta G_{hid} = \Delta G_{neut} + \Delta G_{elet} \quad (12)$$

Sendo ΔG_{neut} a energia livre de Gibbs referente à primeira etapa do processo, ou seja, a formação da cavidade na molécula de água dentro da concha de hidratação e ΔG_{elet} a parcela referente à saturação dielétrica, em um fenômeno chamado eletrostrição.

Ainda, Marcus (1991) observou também que a equação 09 se aplica a uma gama de íons com valores calculados bem próximos dos resultados obtidos experimentalmente. Entretanto, observou-se que em pequenos íons ($r < 0,25$ nm) e para íons com cargas múltiplas, existe um erro considerável nos valores encontrados em virtude de a quantidade de trabalho feito para a criação da cavidade nas moléculas de água dentro da camada de hidratação serem superiores à energia livre de Gibbs liberada quando ocorre a interação do íon com o solvente através de sua carga, por forças de dispersão e dipolo-dipolo. Para corrigir o erro encontrado, o autor utiliza a energia livre de Gibbs de assimetria, que é função do raio iônico e da carga da espécie, e a Equação 12 se torna a Equação 13, conforme abaixo.

$$\Delta G_{hid} = \Delta G_{neut} + \Delta G_{elet} + \Delta G_{ass} \quad (13)$$

Em que ΔG_{ass} é a energia livre de Gibbs de assimetria.

3.1.8 Formas de representação de equilíbrio líquido-líquido

A separação das fases é representada por meio de diagramas de fases, podendo estes serem retangulares ou triangulares, conforme Figuras 01 e 02, respectivamente.

A curva binodal separa a região monofásica da região na qual há formação de duas fases. As linhas de amarração ligam dois pontos de composição de duas fases em equilíbrio e qualquer ponto sobre uma determinada linha de amarração que esteja dentro da região bifásica possui fases superiores com propriedades intensivas iguais – densidade, volume molar e concentração dos componentes, por exemplo, entretanto com variáveis extensivas – massa e volume – diferentes. O mesmo raciocínio é aplicado à fase inferior (SILVA; LOH, 2006).

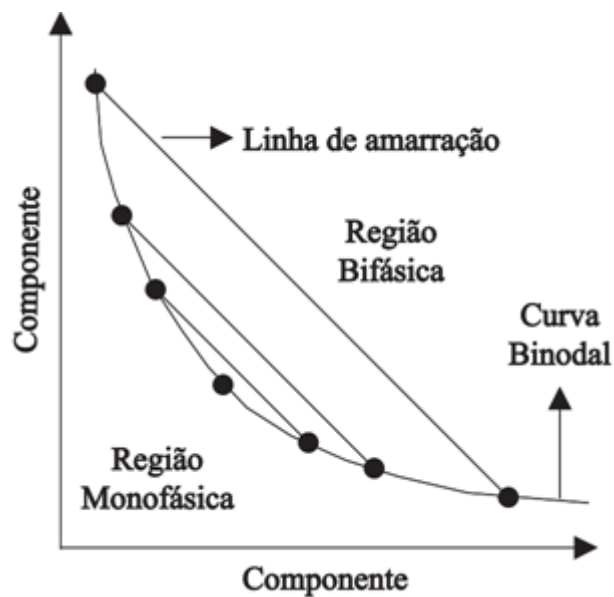


Figura 1 - Diagrama de fases em coordenadas retangulares.

Fonte: Próprio autor.

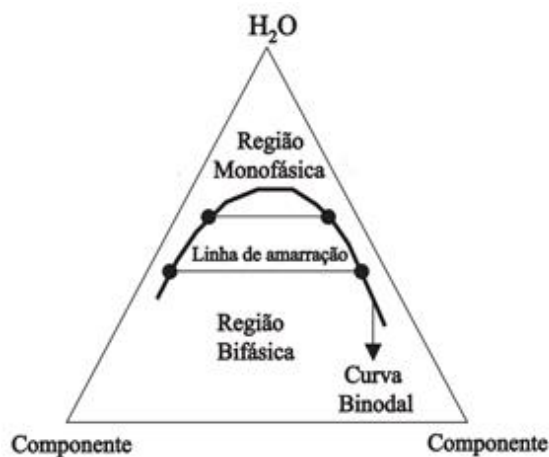


Figura 2 - Diagrama de fases em coordenadas triangulares.

Fonte: Próprio autor.

A diferença de composição entre a fase rica em polímero (FRP) e a fase rica em sal (FRS) pode ser mensurada pelo comprimento da linha de amarração – CLA, calculado através da Equação 14. Quanto maior o CLA, maior a diferença das propriedades termodinâmicas intensivas (densidade, viscosidade, composição, etc) entre a fase superior e inferior, uma vez que há maior diferença na fração mássica de sal e polímero entre as duas fases (SILVA; LOH, 2006).

$$CLA = \sqrt{(X_{sal}^{FRS} - X_{sal}^{FRP})^2 + (X_{polímero}^{FRS} - X_{polímero}^{FRP})^2} \quad (14)$$

Em que x representa as frações molares dos componentes nas duas fases.

Ainda, a inclinação das linhas de amarração – ILA é calculada através da Equação 15. Ela indica a variação da fração molar de polímero na composição de cada uma das fases em função da variação da fração molar de sal também em cada fase (TEIXEIRA, 2009).

$$ILA = \frac{X_{polímero}^{FRS} - X_{polímero}^{FRP}}{X_{sal}^{FRS} - X_{sal}^{FRP}} \quad (15)$$

3.1.9 Influência da temperatura no comportamento do Equilíbrio Líquido-Líquido dos SABs

A temperatura é um parâmetro que possui influência no comportamento de equilíbrio nos SABs, já que altera a miscibilidade entre os componentes do sistema, possuindo um efeito na composição das fases em equilíbrio. Pode ocasionar o aumento ou diminuição da região bifásica, assim como seu aparecimento ou desaparecimento em alguns casos, variando de acordo com o tipo de sistema, polímero e sais utilizados (SARUBBO, 2000).

Existem relatos na literatura de que o aumento da temperatura resulta em uma diminuição de miscibilidade dos componentes presentes nos SABs e maior efeito de exclusão entre moléculas de sal e polímero, apesar do fato de as interações entre monômeros de óxido

de etileno e os cátions presentes nos sais serem endotérmicas. Sabe-se, porém, que o processo de micelização dos polímeros também é endotérmico e que as interações entre monômeros de óxido de etileno e entre monômeros de óxido de propileno que ocorrem durante o processo de separação de fases liberam moléculas de água que, anteriormente, estavam solvatando o polímero, o que leva a um aumento da entropia translacional das moléculas de água. Em consequência disso, observa-se que, na maioria dos casos, o aumento da temperatura resulta em regiões bifásicas maiores, indicando também que o processo de separação de fases é, em geral, endotérmico (TEIXEIRA, 2009).

Foi observado que o aumento da temperatura ocasionou um aumento da região bifásica para sistemas constituídos por polipropilenoglicol (400 g/mol) + citrato de sódio + água, após ensaios nas temperaturas de 20, 35 e 45°C e para sistemas polipropilenoglicol + tartarato de sódio + água nas mesmas temperaturas (HAMZEZHARDEH; ZAFARINI, 2015).

Efeito semelhante foi notado em sistemas com Pluronic L64 ® + sulfato de lítio + água após experimentos realizados a 5 e 25°C, resultando em um deslocamento da curva binodal no sentido de menor concentração dos componentes no diagrama de fases. Entretanto, o mesmo polímero em sistemas com sulfato de magnésio, sulfato de sódio e sulfato de zinco resultou em deslocamentos das curvas binodais no sentido de maior concentração de componentes, ou seja, na presença destes três últimos sais o aumento da temperatura promoveu uma diminuição da região bifásica (RODRIGUES *et al*, 2009). A presença de succinato de sódio, tartarato de sódio ou citrato de sódio em SABs contendo Pluronic L64 ® + água também resultou em diminuição da região bifásica em função do aumento da temperatura (ANDRADE *et al*, 2011).

Já nos sistemas constituídos por polipropilenoglicol + sulfato de sódio + água e polipropilenoglicol + sulfato de magnésio + água nas temperaturas de 25, 35 e 45°C foi observado que esse aumento não resultou em efeito sobre o comportamento da curva binodal (TEIXEIRA, 2009).

Também foi relatado que alterações na temperatura influenciam diretamente a partição do polímero entre as fases do sistema. Em consequência dessa influência, a região bifásica também é alterada, como no caso dos sistemas formados por polietilenoglicol + dextrana + água, em que foi observado um aumento da concentração de polietilenoglicol na fase superior e uma diminuição da concentração na fase inferior dos sistemas em equilíbrio líquido-líquido, após aumento da temperatura (FORCINITI; HALL, 1991).

Alguns trabalhos demonstram, ainda, uma relação direta entre a temperatura e o coeficiente de partição de biomoléculas, nos quais obtiveram um aumento do coeficiente de partição com o aumento da temperatura (JOHANSSON *et al*, 1984), enquanto que outros comprovaram a não existência de uma relação entre as duas variáveis (TJERNELD *et al*, 1985).

3.1.10 Influência do pH no comportamento do Equilíbrio Líquido-Líquido dos SABs

O pH possui influência sobre o comportamento do equilíbrio líquido-líquido pois altera as cargas da superfície dos íons salinos presentes nos sistemas. Em pHs baixos, existem maiores quantidades de íons H^+ presentes nos sistemas, fazendo com que os íons tenham a tendência de ficarem com carga líquida maior devido à inibição da desprotonação. De modo contrário, em pHs elevados os íons podem apresentar-se carregados negativamente em função da existência de íons OH^- no meio. Cada íon comporta-se de uma maneira diferente em cada meio, e essas alterações nas cargas de cada espécie pode influenciar nas interações existentes entre o sal e o polímero, resultando em um aumento na região bifásica, em caso de enfraquecimento dessas interações ou numa diminuição da região de separação de fases, caso a alteração de pH fortaleça as ligações sal-polímero (SILVA *et al*, 2013).

Sistemas formados por polipropilenoglicol + citrato de sódio/ácido cítrico + água a alteração do pH ocasionou um deslocamento significativo da região bifásica, resultando num aumento desta com o aumento dos valores de pH (NASCIMENTO *et al*, 2016).

Não foram observadas influências significativas provenientes da alteração dos valores de pH em sistemas contendo polietilenoglicol (4000 g/mol) + fosfato de potássio + água e polietilenoglicol (400 g/mol) + fosfato de potássio + água (PADILHA *et al*, 2011).

Em sistemas formados por poli(etileno glicol) + poli(ácido acrílico) + água e em sistemas contendo poli(etileno glicol) + cloreto de sódio + água, após estudos em pHs 6,0, 7,0 e 8,0, foi observado que o aumento do pH ocasionou um aumento da região bifásica em ambos os casos (SARAVANAN *et al*, 2008).

3.1.11 Influência dos sais no comportamento do Equilíbrio Líquido-Líquido dos SABs

A adição de sais aos sistemas objetiva aumentar a região bifásica ou, em muitos casos, fazer com que ela exista. Os íons salinos interferem no fenômeno da solvatação, mecanismo de dissolução no qual íons negativos e positivos são envolvidos por moléculas de água através de ligações de hidrogênio. A solvatação através da adição de moléculas de sal promove diferença na hidrofobicidade entre as fases e agrega novas interações moleculares através das ligações entre água e íons salinos, atraindo as moléculas deste primeiro componente e fazendo com que exista menos água disponível para a solubilização dos demais compostos. (JOHANSSON; KARLSTROM; TJERNELD, 1997).

De maneira geral, pode-se dizer que quanto maior a carga do ânion do sal, maior é a sua capacidade em promover o efeito *salting out*. Além disso, há relatos também de que ânions mais polarizáveis e que possuem interações mais fortes com a água são mais eficientes em promover a separação das fases. Essas interações com as moléculas de água podem ser expressas em termos da energia livre de hidratação, que é a diferença entre a energia livre de um soluto em água e no vácuo. Essa energia livre de hidratação está relacionada, entre outros fatores, com a espontaneidade do processo e aos efeitos hidrofóbicos e hidrofílicos existentes.

O volume molar do ânion também afeta o processo de separação de fases, já que ânions com volumes menores tendem a apresentar interações mais fortes com as moléculas de polímero e água devido ao fato de apresentarem maior densidade de cargas ao redor do íon. Essa densidade maior facilita as interações com as espécies presentes nos sistemas, e quanto maior as interações entre os íons salinos e as moléculas de polímero e água, maior será a tendência em separação das fases pois será necessária uma menor concentração de ânions para que a saturação do polímero ocorra (NASCIMENTO *et al*, 2018).

Entretanto, o trabalho publicado por Teixeira (2009) mostra também a importância da quantidade de estruturas de ressonância das espécies químicas presentes nos SABs na determinação do comportamento de separação de fases. O estudo constatou que espécies que apresentam maior número de estruturas de ressonância apresentam maior deslocalização das cargas e que este fator pode ocasionar maior estabilização da nuvem eletrônica sobre o ânion, o que leva a interações menores entre o sal e o polímero, diminuindo a tendência em separação de fases.

3.1.12 SABs contendo Pluronic L64®

O Pluronic L64® é um copolímero composto por poli(óxido de etileno) - PEO e poli(óxido de propileno) – PPO dispostos em triblocos da forma PEO-PPO-PEO. São sintetizados pela adição do óxido de propileno para a formação do poli(óxido de propileno) e, em sequência, a adição de monômeros de óxido de etileno a moléculas específicas de PPO de baixa massa molar já sintetizadas. Em sua fabricação é utilizado, ainda, catalisador alcalino, sendo, em geral, o hidróxido de sódio ou potássio e estão disponíveis em uma gama de massas molares e razões PPO/PEO, o que confere à cada copolímero características únicas e distintas dos demais. No caso específico do Pluronic L64®, a razão PPO/PEO é de 2,5 e sua massa molar é cerca de 2.450 g/mol (ALEXANDRIDIS, HATTON, 1995). A figura 03 mostra sua estrutura molecular.

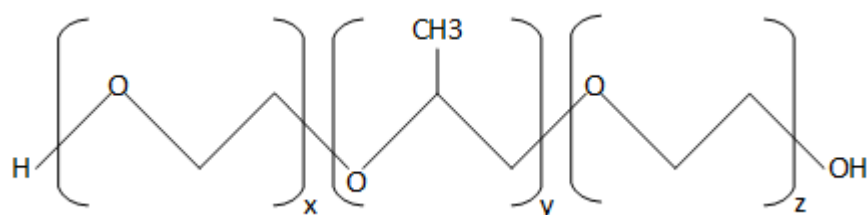


Figura 3 - Estrutura molecular do Pluronic L64®

Fonte: Próprio autor

Em que x , y e z são as quantidades de monômeros de óxido de etileno, óxido de propileno e óxido de etileno, respectivamente, contidos na estrutura molecular do Pluronic.

Andrade *et al* (2011) verificaram que SABs contendo Pluronic L64® + água + citrato de amônio/succinato de sódio /tartarato de sódio/citrato de sódio apresentaram caráter exotérmico na separação de fases, ao contrário da maioria dos sistemas contendo sais inorgânicos verificados pelos autores. O mesmo trabalho concluiu que os íons presentes nas soluções interagem-se de modo que fosse atingido um valor máximo de entropia, após o qual não se obtinha mais nenhum acréscimo de desordem e que, neste ponto, a separação de fases era ainda mais favorável nos sistemas. O trabalho verificou também que o citrato de sódio foi o sal que apresentou maior eficiência na separação de fases, e que isto pode estar associado ao

aumento da entalpia translacional das moléculas de água liberadas durante a separação de fases.

Yeredla *et al* (2016) concluíram que, em SABs contendo Pluronic F127 + água + dextrana à 37°C, 24 °C e 4°C, a diminuição da temperatura resultou numa diminuição da região bifásica em virtude da diminuição da solubilidade dos monômeros de poli(propileno glicol) com o aumento da temperatura, indicando que essa alteração tornou o polímero mais hidrofóbico. O trabalho verificou também que, mesmo em baixas concentrações de ambos os componentes do sistema (cerca de 6% (m/m) de Pluronic F127 e 3% (m/m) de dextrana), houve a separação de fases, indicando que não são necessárias concentrações superiores de sais para que a separação de fases aconteça.

Adicionalmente, Vicente *et al* (2019) estudaram SABs contendo Pluronic L35 + água + fosfato dipotássico/fosfato monopotássico/fosfato tripotássico à 25 °C e verificaram que a capacidade de promover a separação de fases seguiu a ordem decrescente $K_3PO_4 > K_2HPO_4 > KH_2PO_4$, corroborando com a hipótese apontada pelos autores de que a capacidade de realização do efeito *salting out* crescia em função do aumento dos cátions dos sais presentes nos sistemas. O trabalho estudou também os efeitos da adição de 1% (m/m) de um surfactante (Triton X-100) ao sistema, e verificou que essa adição não resultou em alterações significativas em relação à posição da curva binodal dos sistemas elaborados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção são elencados os compostos e equipamentos utilizados durante os experimentos realizados, além da descrição detalhada de como foi feita cada etapa no laboratório.

4.1 COMPONENTES

- Pluronic L64 ® – Sigma Aldrich – pureza > 99,0%
- Sulfato de sódio anidro – Synth – pureza > 99,0 %
- Citrato de sódio anidro – Synth – pureza > 99,0 %
- Tartarato de sódio dihidratado – Synth – pureza > 99,0 %
- Ácido sulfúrico – Dinâmica – pureza 97,0-98,0 %
- Ácido tartárico – Synth – pureza > 99,5 %
- Ácido cítrico – Synth – pureza > 99,0 %
- Hidróxido de sódio – Dinâmica – pureza > 99,0 %
- D-glicose anidra – Synth – pureza > 99,0 %
- Ácido 3,5-dinitrosalicílico – Dinâmica – pureza > 99,0 %
- Tartarato duplo de sódio e potássio – Synth – pureza > 99,0 %
- Água bi-desmineralizada

4.2 EQUIPAMENTOS

- Agitador magnético – Gehaka – modelo AA-840
- Banho termostático – Tecnal – modelo TE-2005
- Balança analítica – Shimadzu – modelo AUY-220
- pHmetro – Tecnal – modelo TEC-7
- Agitador tipo vortex – Gehaka – modelo AV-2
- Espectrofotômetro UV-visível – Bel Photonic Brasil – modelo M51

4.3 MÉTODOS EXPERIMENTAIS

4.3.1 Teste de separação de fases do sistema Pluronic L64® e água

Para determinar se o sistema constituído apenas por polímero e água apresenta região bifásica pesou-se, em tubos falcon de polipropileno, quantidades previamente determinadas dos dois componentes para a faixa de frações mássicas de polímero na mistura entre 95 e 40%, em seguida agitando-se a mistura com o auxílio do agitador tipo vortex. O sistema foi deixado em repouso por 48 horas com temperatura controlada pelo banho termostático à 20°C. Após o período, observou-se a formação de uma única fase líquida e límpida.

4.3.2 Determinação das curvas binodais com pH 7,5

A determinação das curvas binodais dos sistemas constituídos por polímero + sal + água e, conseqüentemente, a determinação de suas regiões bifásicas foi realizada através do método de titulação turbidimétrica. Este método consistiu em titular uma solução salina (frações mássicas de sal de 10 a 30%) em uma mistura de polímero e água (frações mássicas de polímero de 60 a 2%) contida na célula de vidro encamisada conectada ao banho termostático para controle de temperatura e com o auxílio do agitador magnético, conforme ilustrado pela Figura 04.

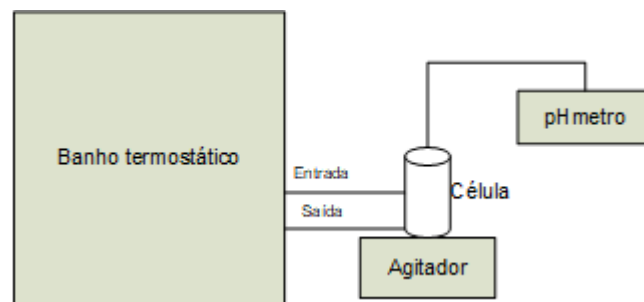


Figura 4 - Esquema para determinação das curvas binodais.

Fonte: Próprio autor

A titulação era interrompida ao detectar-se o ponto de névoa no sistema. Neste momento, acrescentava-se 40 gotas de água para que o sistema retornasse à região monofásica, caracterizada por uma mistura límpida e transparente. Novamente ocorria a titulação de solução salina até a formação do ponto de névoa e o procedimento era repetido até que fossem cobertas a região compreendida entre 50% e 1% (m/m) de polímero.

O gotejamento foi realizado com o auxílio de seringas de polipropileno com êmbolo de mesmo material e as massas contidas nas seringas eram anotadas antes e depois de cada adição de solução salina e água para que pudessem ser calculadas as frações mássicas de cada componente no instante de turvação e limpidez. A Figura 05 mostra um fluxograma com as etapas do processo.

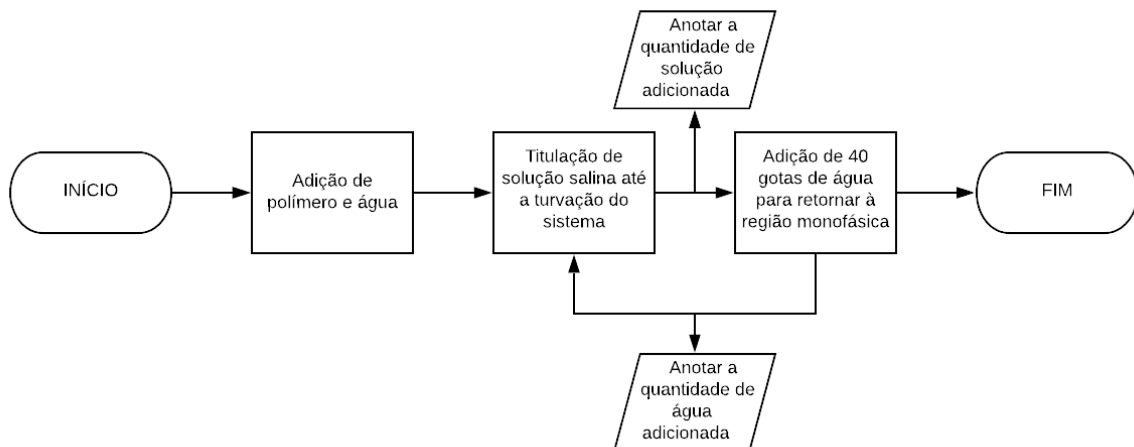


Figura 5 - Fluxograma de obtenção das curvas binodais com pH = 7,5.

Fonte: Próprio autor.

4.3.3 Determinação das curvas binodais a diferentes pHs

O método de determinação das frações mássicas dos componentes presentes nos sistemas e a montagem experimental, conforme Figura 04, foi bastante similar ao descrito no item anterior, sendo necessário, basicamente, apenas ajustes nos pHs.

Para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio, inicialmente tinha-se a mistura com polímero e água com pH 7,5. O ajuste para pH = 5,0 foi

realizado adicionando-se algumas gotas de ácido sulfúrico até o valor desejado, sendo este medido através do medidor de pH com eletrodo padrão de platina. A este sistema era adicionada solução de sulfato de sódio até a turvação do sistema e, depois, 40 gotas de água para que retornasse à região monofásica. Neste momento o pH era ajustado novamente para o valor determinado com a adição do ácido e o experimento repetido até a cobertura da faixa de frações mássicas desejada. Em relação ao mesmo sistema, porém para $\text{pH} = 10,0$, o procedimento foi similar, porém com a adição de hidróxido de sódio em vez de ácido sulfúrico para a obtenção do pH alcalino no início e após as adições de água realizadas. A Figura 06 ilustra o processo na forma de fluxograma.

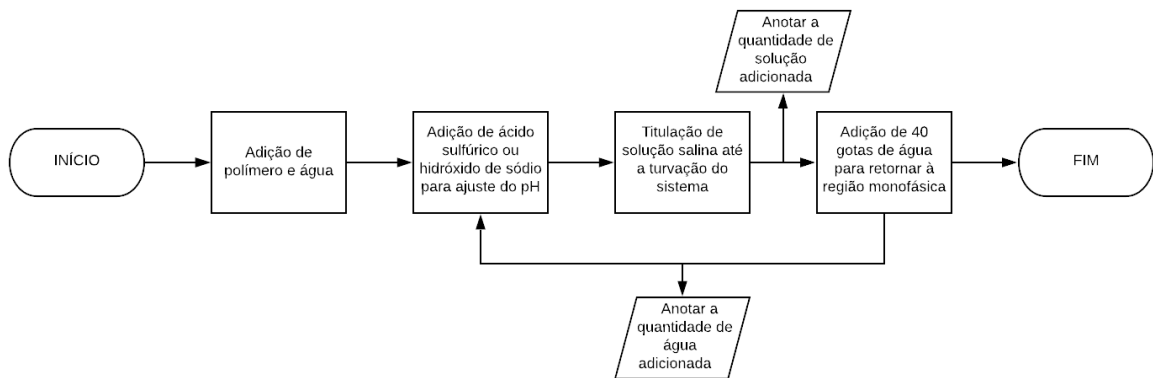


Figura 6 - Fluxograma de obtenção das curvas binodais para diferentes pHs para sistemas com sulfato de sódio.

Fonte: Próprio autor.

Para os sistemas contendo Pluronic L64 ® + citrato de sódio ou tartarato de sódio + água, o ajuste do $\text{pH} = 5,0$ era realizado utilizando-se soluções tampões de citrato de sódio/ácido cítrico ou tartarato de sódio/ácido tartárico. Inicialmente tinha-se apenas a mistura com polímero e água, à qual era adicionada a solução tampão correspondente até o valor de pH desejado. Depois, adicionou-se solução salina até a turvação do sistema e 40 gotas de água para o retorno à região monofásica, conforme Figura 07. As massas adicionadas de solução tampão também foram anotadas, uma vez que não eram massas pequenas o suficiente para serem desconsideradas e também continham o sal, interferindo diretamente na fração mássica final do componente.

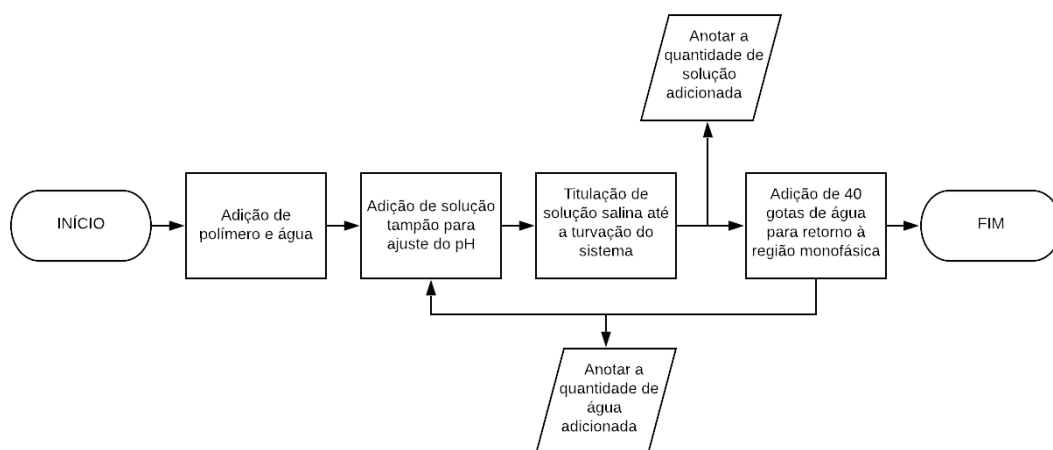


Figura 7 – Fluxograma de obtenção das curvas binodais para diferentes pHs para sistemas com citrato de sódio e tartarato de sódio.

Fonte: Próprio autor.

Para os sistemas com citrato e tartarato de sódio, porém para o ajuste de $\text{pH} = 10,0$, utilizou-se a adição de hidróxido de sódio, similar ao processo com o sulfato de sódio, uma vez que não se é possível a obtenção de tampões com estes sais nesta faixa de pH . Como a quantidade de hidróxido necessária para atingir o pH desejado era baixa, sua fração mássica pôde ser desconsiderada para plotar o gráfico.

4.3.4 Determinação das curvas binodais no sistema com Pluronic L64[®] + água + glicose

Para os sistemas nos quais a presença de sal foi substituída pela glicose, a montagem do sistema foi semelhante ao mostrado pela Figura 6. Inicialmente tinha-se a mistura límpida de polímero e água na célula, a qual era adicionada glicose pura até que sua fração mássica atingisse 25%. Após atingir tal valor, adicionou-se solução de glicose (40% m/m) até a obtenção do ponto de névoa. Depois, 40 gotas de água eram adicionadas ao sistema para que retornasse à região monofásica. O processo era repetido até a cobertura da faixa de frações mássicas suficientes para a obtenção da curva binodal. A Figura 08 mostra o processo na forma de fluxograma.

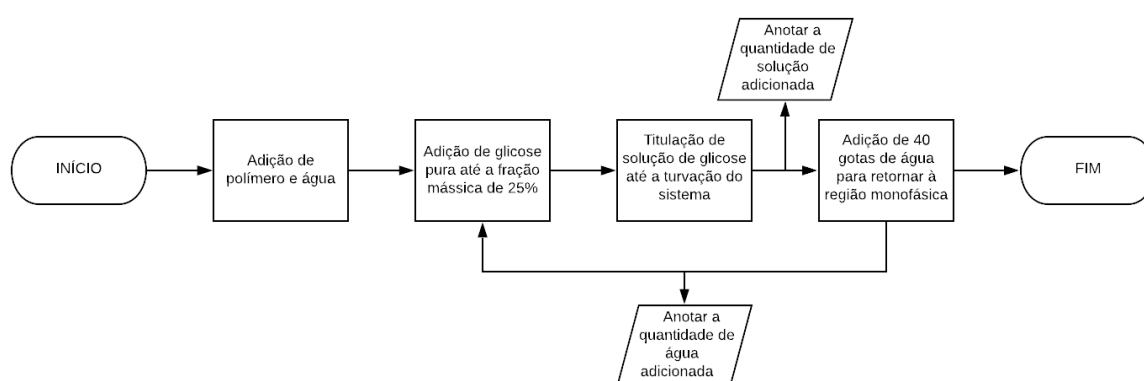


Figura 8 - Fluxograma do processo de obtenção da curva binodal para sistemas com glicose.

Fonte: Próprio autor.

4.3.5 Obtenção experimental das composições das linhas de amarração para sistemas contendo Pluronic L64® + água + sal

As frações mássicas dos componentes em cada fase em equilíbrio no sistema foram obtidas de acordo com a metodologia proposta por Merchuk (1998). Os ensaios experimentais deste método são descritos a seguir.

As composições iniciais de cada sistema foram selecionadas na região bifásica obtida através das curvas binodais. Cada componente teve sua massa previamente determinada de modo a resultar na melhor combinação de linhas de amarração e uma massa total do sistema de aproximadamente 12g. Essas massas foram pesadas e adicionadas a tubos falcon, que por sua vez foram agitados vigorosamente com o auxílio do agitador vortex para a completa homogeneização do sistema. Os tubos foram então deixados em repouso em banho termostático com controle de temperatura por um período mínimo de 48 horas. Após este tempo e observada a limpidez de cada fase e a completa definição da interface, separou-se as fases superior e inferior com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e pesou-se cada uma delas separadamente, sendo a região da interface descartada. O processo é mostrado na forma de fluxograma pela Figura 09.

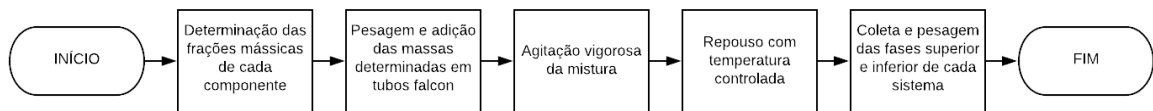


Figura 9 - Fluxograma de obtenção das composições das linhas de amarração.

Fonte: Próprio autor.

4.3.5.1 Obtenção das composições das linhas de amarração

De posse dos valores das massas das fases superior e inferior e as frações mássicas iniciais de cada componente na mistura, conforme descrito no item 4.3.5, calculou-se as linhas de amarração segundo o método proposto por Merchuk (1998). Este método consiste na resolução do sistema constituído pelas Equações 19 a 22.

$$w_{polímero}^{FRP} = \left(\frac{w_{polímero}^{PM}}{\alpha} \right) - \left(\frac{(1 - \alpha)}{\alpha} \right) w_{polímero}^{FRS} \quad (19)$$

$$w_{sal}^{FRP} = \left(\frac{w_{sal}^{PM}}{\alpha} \right) - \left(\frac{(1 - \alpha)}{\alpha} \right) w_{sal}^{FRS} \quad (20)$$

$$w_{polímero}^{FRP} = f(w_{sal}^{FRP}) \quad (21)$$

$$w_{polímero}^{FRS} = f(w_{sal}^{FRS}) \quad (22)$$

O valor de α é obtido a partir da Equação 23.

$$\alpha = \frac{\text{massa da fase superior}}{\text{massa total da mistura inicial}} \quad (23)$$

Em w representa a fração mássica do componente (polímero ou sal), FRP significa fase rica em polímero, FRS expressa a fase rica em sal, PM o ponto de mistura inicial selecionado na região bifásica e $f(w^{FRP})$ e $f(w^{FRS})$ remetem às equações de ajuste das curvas binodais, às quais trazem a relação entre a fração mássica de polímero em função da fração mássica de sal.

Conforme pode ser observado, trata-se de um sistema de quatro equações com quatro incógnitas – as frações mássicas de polímero e sal nas fases superior e inferior. A resolução do sistema e, conseqüentemente, a obtenção destes valores permite obter os valores de composição das linhas de amarração referentes ao ponto inicial escolhido na região de separação de fases.

4.3.6 Obtenção das composições das linhas de amarração para sistemas contendo Pluronic L64® + água + glicose

Para os sistemas contendo glicose, inicialmente também foram selecionadas as composições de cada componente para a mistura na região bifásica e calculadas as massas necessárias para um total de aproximadamente 12g. Após isso, adicionou-se, primeiramente, as massas necessárias de água e glicose aos tubos falcon, sendo a mistura agitada vigorosamente e colocada em banho-maria aquecido para que a solubilização acontecesse completamente. Após a solubilização, adicionou-se a quantidade determinada de polímero ao sistema, sendo este novamente agitado e aquecido para total homogeneização. Depois, deixou-se em repouso em banho com temperatura controlada por, pelo menos, 48 horas. Finalizado o período, observou-se se as fases límpidas e transparentes e a interface definida e separou-se as fases com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e realizou-se a pesagem das fases separadamente com o descarte da interface. A metodologia de cálculo para a obtenção das frações mássicas dos pontos das linhas de amarração também seguiu a metodologia descrita no item 4.4.

4.3.7 Obtenção do coeficiente de partição da glicose

O coeficiente de partição da glicose foi obtido em sistemas quaternários constituídos por Pluronic L64 ® + água + sal (sulfato de sódio, citrato de sódio ou tartarato de sódio) + glicose. A fração mássica deste último compreendeu valores entre 0,01 e 0,09, enquanto que para os demais foram selecionadas frações mássicas que permitissem o trabalho dentro da região bifásica das curvas binodais já obtidas e de modo que a massa total do sistema fosse de 12g. Os componentes foram adicionados em tubos falcon e completamente homogeneizados com o auxílio do agitador tipo vortex. O sistema foi deixado em banho termostático com temperatura controlada em 20 °C por 48 horas, até que houvesse a completa separação das fases e ambas apresentassem límpida e transparente. Neste momento eram coletadas amostras de cada uma das fases e prosseguia-se com a determinação analítica da quantidade de glicose presente em cada uma delas através do método de determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), conforme descrito por Vasconcelos, Pinto e De Aragão (2013).

O reagente DNS foi preparado através da mistura de uma solução “A” constituída por 10,0g de ácido 3,5-dinitrosalicílico dissolvidos em 200mL de uma solução de hidróxido de sódio 2M com uma solução “B” feita pela dissolução de 300g de tartarato duplo de sódio e potássio em 500mL de água. Após a mistura das duas soluções, o volume foi completado para 1.000mL.

A análise da quantidade de glicose iniciou-se com a mistura, em tubo de ensaio, de 0,5mL de reagente DNS e 0,5mL da amostra de cada uma das fases coletadas. Os tubos de ensaio foram agitados vigorosamente e, então, colocados em um béquer com água em ebulição por 15 minutos. Após esse período, os tubos foram imersos em banhos de gelo por 2 minutos para interromper a reação. A mistura do tubo de ensaio foi diluída com água até o volume final de 5mL e, por fim, homogeneizadas. Após isso, fez-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-visível a 540nm, após a calibração do equipamento com um branco preparado sem a presença de glicose.

A curva de calibração foi elaborada conforme descrito utilizando-se soluções de diferentes concentrações conhecidas de glicose, conforme apêndice A. A concentração de glicose nas amostras das fases foi obtida através da Equação 16.

$$C_G = abs * f * d \quad (16)$$

Em que C_G é a concentração de glicose na amostra, abs é a absorvância obtida no espectrofotômetro, d é o inverso do fator de diluição da amostra e f o fato de concentração, obtido pela Equação 17.

$$f = \frac{1}{\alpha} \quad (17)$$

Em que α é o coeficiente angular da curva de calibração.

Após a obtenção dos valores da concentração de glicose em cada uma das fases, o coeficiente de partição foi obtido pela Equação 18.

$$K_G = \frac{C_G^{FI}}{C_G^{FS}} \quad (18)$$

Em que K_G é o coeficiente de partição da glicose e C_G são as concentrações de glicose na fase inferior (FI) e fase superior (FS).

O processo completo está descrito está ilustrado na Figura 10.

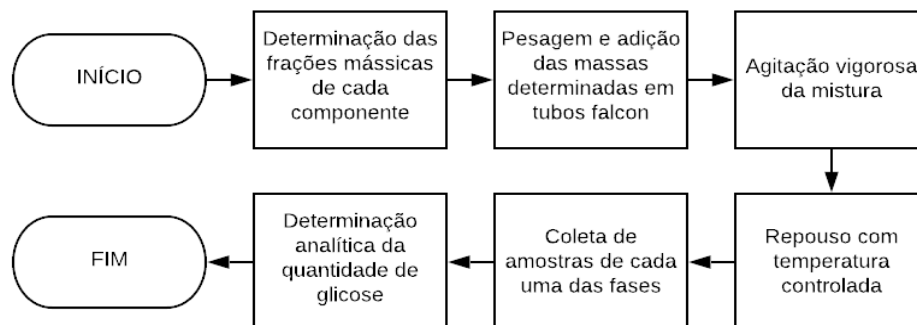


Figura 10 - Fluxograma de obtenção do coeficiente de partição da glicose.
Fonte: Próprio autor.

4.4 MÉTODOS DE CÁLCULO

4.4.1 Cálculo da contribuição entrópica

A contribuição entrópica de cada sal em cada sistema estudado foi calculada conforme a equação 24:

$$\xi = \frac{T * \Delta S}{\Delta H + T * \Delta S} \quad (24)$$

Em que ξ é a contribuição entrópica de cada espécie ao sistema, T é a temperatura, ΔH é a variação de entalpia de micelização e ΔS representa a variação de entropia de micelização do sistema.

4.4.2 Cálculo dos volumes dos íons

Os volumes de eletrostrição 01 e eletrostrição 02 foram calculados conforme as Equações 25 e 26, respectivamente (MARCUS, 1993).

$$V_{\text{eletrostrição01}} = -59,27 * |z| * \frac{\Delta r}{r + \Delta r} \quad (25)$$

$$V_{\text{eletrostrição02}} = -417,50 * z^2 * \frac{1}{r + \Delta r} \quad (26)$$

Em que r é o raio efetivo do ânion; z é a carga do ânion e Δr é a espessura da camada esférica de água imobilizada ao redor do íon.

4.4.3 Cálculo das energias de Gibbs de neutralização, eletrostrição e assimetria dos íons

As energias de Gibbs de neutralização, eletrostrição e assimetria dos ânions foram calculadas conforme equações 27, 28 e 29, respectivamente (MARCUS, 1987).

$$\Delta G_{neut} = 41 - 87 \cdot r + 1200 \cdot r^2 \quad (27)$$

$$\Delta G_{elet} = -64.5 \cdot z^2 \left[0.44 \cdot \frac{\Delta r}{r} + 0.987 \right] / (r + \Delta r) \quad (28)$$

$$\Delta G_{ass} = 120 \cdot r \cdot z^3 \quad (29)$$

Em que r é o raio efetivo do ânion; z é a carga do ânion e Δr é a espessura da camada esférica de água imobilizada ao redor do íon.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 COMPORTAMENTO DO SISTEMA POLÍMERO + ÁGUA

A Tabela 01 mostra as composições para o sistema formado apenas por Pluronic L64[®] + água à 20 °C. Observa-se que não houve a formação de duas fases, havendo somente a formação de uma mistura homogênea, límpida e transparente, demonstrando que a temperatura escolhida está abaixo da temperatura micelar crítica, ou seja, abaixo do estado em que há agregação dos monômeros e formação de micelas em água.

Tabela 1 - Composição dos sistemas sem a presença de sal.

Xpolímero	Xágua
0,1557	0,8443
0,0827	0,9174
0,0386	0,9615
0,0232	0,9767
0,0149	0,9851
0,0103	0,9897
0,0068	0,9931

Fonte: Próprio autor.

Além disso, também é possível concluir que é necessária a adição de um terceiro componente para que ocorra a separação de fases no sistema a uma temperatura de 20 °C.

5.2 INFLUÊNCIA DOS ÂNIONS SO_4^{-2} , $C_6H_5O_7^{-3}$ E $C_4H_4O_6^{-2}$ NAS CURVAS BINODAIS

Os ânions apresentaram influência direta no comportamento das curvas binodais, conforme pode ser observado através da Figura 11, que apresentam os comportamentos

obtidos para sistemas compostos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio ou citrato de sódio ou tartarato de sódio + água para valores de pH iguais a 5,0, 7,5 e 10,0.

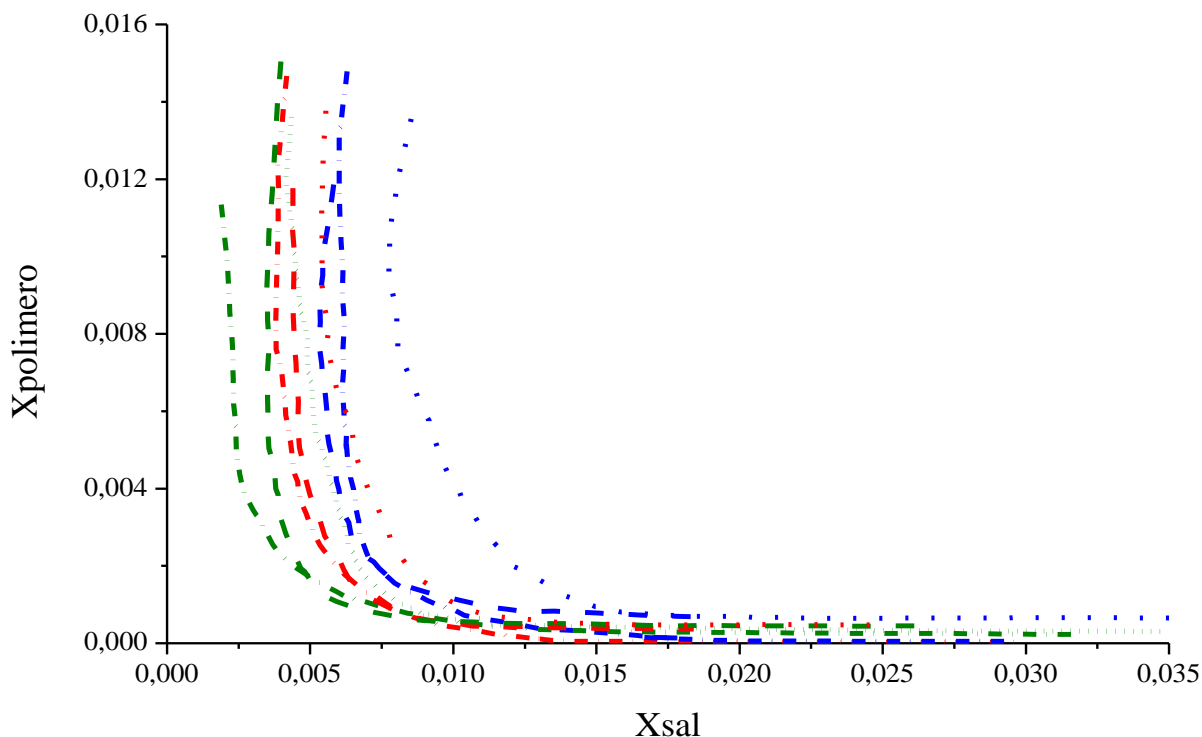


Figura 11 – Curvas binodais para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio em pHs (•-•-•) 5,0, (•-•-•) 7,5 e (•-•-•) 10,0/ citrato de sódio em pHs (- - -) 5,0, (- - -) 7,5 e (- - -) 10,0/ tartarato de sódio em pHs (•••) 5,0, (•••) 7,5 e (•••) 10,0
Fonte: Próprio autor.

Na figura 11 é possível observar que em um mesmo pH, o efeito dos ânions na região de separação de fases se dá na ordem $\text{SO}_4^{2-} > \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-} > \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$. Considerando uma fração molar de polímero de cerca de 0,0100 em todos os sistemas, pode-se observar que, para que ocorra separação de fases, em pH 10,0, as frações molares de sulfato de sódio, citrato de sódio e tartarato de sódio foram de, respectivamente, cerca de 0,0020, 0,0035 e 0,0045; enquanto que em pH 5,0 as frações molares foram de 0,0060, 0,0055 e 0,0075, respectivamente.

Tendo em vista que os três sais possuem o mesmo cátion, a diferença no comportamento das curvas binodais pode ser atribuída aos ânions SO_4^{2-} , $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ e $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$. Neste ponto, os resultados não corroboram com descritos por Ghaffari *et al* (2009), que concluiu que o efeito *salting out* é crescente em função da valência dos ânions. Neste caso seguiram a ordem crescente: $\text{SO}_4^{2-} > \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-} > \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$.

Conforme relatado por Silva e Luís (2000), existe uma correlação entre a separação de fases em SABs e a entalpia de hidratação dos compostos utilizados. Durante a mistura, há a interação entre os ânions dos sais com grupos de óxido de etileno existente no polímero, o que ocasiona a liberação de moléculas de água que, antes, o estavam solvatando. O polímero, após sofrer a desidratação, dá origem, então, a uma nova fase no sistema. Quanto maior a capacidade do íon em interagir com os grupos de óxido de etileno, menor a concentração dos íons necessária para que a água deixe de hidratar o polímero, levando a formação de uma nova fase. Os resultados obtidos para o efeito do ânion nas curvas binodais sugerem que o menor volume iônico do sulfato de sódio contribuiu para que a região bifásica deste sistema tenha sido superior às dos demais sais, já que o menor volume permite uma interação mais forte com esses grupos óxidos de etileno em virtude do aumento da densidade de cargas elétricas do íon.

5.3 INFLUÊNCIA DO pH NAS CURVAS BINODAIS

A Figura 11 mostra as curvas binodais encontradas para os diferentes pHs estudados para o sulfato de sódio, citrato de sódio e tartarato de sódio.

A alteração do pH teve influência direta sobre a composição das curvas binodais dos sistemas estudados devido à presença de eletrólitos nos sistemas. A dissociação destes é uma função do referido parâmetros, o que modifica as interações que ocorrem entre as moléculas presentes e, conseqüentemente, influencia no processo de solvatação que ocorre nos ânions e cations, conforme reportado por Silva e Loh (2006). O sistema contendo Pluronic L64 ® + água + tartarato de sódio foi o que apresentou maior alteração no comportamento do equilíbrio líquido-líquido em relação ao pH. Importante salientar ainda que nos três casos o pH não teve influência sobre a forma das curvas binodais, as quais foram bastante similares para os sistemas estudados.

Nota-se que em todos os casos o aumento do pH resultou em um aumento da região bifásica, sendo, portanto, necessárias menores frações molares de polímero e sal para que a separação de fases aconteça. Conforme relatado por Barani e Alizera (2018), o aumento do efeito *salting-out* com o aumento do pH é resultado da diminuição das interações de hidrogênio da água com grupos do polímero no sistema.

Alguns trabalhos, como os publicados por Grilo e Antônio (2014) e Dan e Abhijit (2008) verificaram que os sais podem formar diferentes espécies em soluções em diferentes pHs através da alteração das cargas dos grupos ionizáveis em moléculas, o que também contribui para as diferenças observadas nos comportamentos das curvas binodais. Foi o caso, também, do estudo publicado por Videira e Aires-Barros (1994), que analisou sistemas contendo os ânions H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} e verificou que, nestes casos, a diminuição do pH resultou em maior protonação dos ânions, diminuindo a concentração de ânions multivalentes presentes, sendo necessárias maiores concentrações de sais para que a região bifásica seja formada.

No mesmo sentido, Nascimento *et al* (2018) reportou que o volume de vazios disponíveis para interações moleculares também é uma função do aumento do pH do sistema, já que esse aumento resulta em menos protonação dos ânions, aumentando os espaços vazios que poderiam ser ocupados por átomos de H^+ mas que estão disponíveis para interação entre o íon e o polímero. Isto explica o fato de que, em maiores valores de pH, foram necessárias menores quantidades de sais para que a separação de fases ocorresse. Segundo o trabalho, as espécies trivalentes, como o ânion citrato, formam novos ânion divalentes e monovalentes após a adição do ácido cítrico e aumento na quantidade de íons H^+ no sistema. Dessa forma, à medida que o pH aumenta, observa-se valências mais altas presentes no meio, sendo que estes íons com valências maiores possuem maior capacidade de realização do efeito *salting-out*.

5.4 MODELAGEM MATEMÁTICAS DAS CURVAS BINODAIS

Na modelagem matemática das curvas, utilizou-se os dados em termos de fração mássica, conforme disponíveis nos apêndices A e B. As curvas obtidas apresentaram coeficientes de determinação (R^2) satisfatórios, sendo que o menor índice encontrado foi de 0,9721, conforme pode ser observado na Tabela 02, que traz as equações representativas de cada sistema bem como os valores dos parâmetros obtidos pelos ajustes das equações. Neste ponto é importante elucidar que o objetivo da modelagem matemática era apenas obter a equação matemática que melhor representasse cada curva, por este houve equações ajustadas por polinômios e também por série de potência.

Os sistemas constituídos por sulfato de sódio e citrato de sódio em pH 10,0 apresentaram melhores ajustes através de uma função de potências. Os demais sistemas estudados apresentaram ajustes mais satisfatórios com a utilização de polinômios de 3º grau.

A curva que apresentou menor valor de R^2 foi referente ao sulfato de sódio com pH 7,5, 0,9721, enquanto que o conjunto com tartarato de sódio em mesmo pH foi o responsável pelo maior valor, 0,9972.

Tabela 2 - Ajustes matemáticos para os sistemas contendo Pluronic L64 ® + sal + água em diferentes pHs.

pH	Sal	Equação	R^2
5,0	Sulfato de sódio	$y = -521,86x^3 + 198,5x^2 - 23,916x + 0,9199$	0,9768
	Citrato de sódio	$y = -348,05x^3 + 152x^2 - 21,812x + 1,1005$	0,9921
	Tartarato de sódio	$y = -109,68x^3 + 67,048x^2 - 13,416x + 0,9285$	0,9965
7,5	Sulfato de sódio	$y = -438,27x^3 + 161,87x^2 - 18,756x + 0,6906$	0,9721
	Citrato de sódio	$y = -295,71x^3 + 131,98x^2 - 19,184x + 0,9426$	0,9939
	Tartarato de sódio	$y = -246x^3 + 114,01x^2 - 17,25x + 0,8922$	0,9972
10,0	Sulfato de sódio	$y = 0,0064x^{(-1,026)}$	0,9933
	Citrato de sódio	$y = 0,0041x^{(-1,27)}$	0,9732
	Tartarato de sódio	$y = -176,17x^3 + 92,821x^2 - 15,197x + 0,7833$	0,9811

Fonte: Próprio autor.

Em que y representa a fração mássica de polímero e x a fração mássica de sal em cada sistema.

A obtenção destas equações de ajustes se faz essencial para que o método proposto por Merchuk possa ser utilizado para a obtenção das composições das linhas de amarração, uma vez que a metodologia utiliza tais dados para a modelagem e resolução do sistema de equações obtidos através dos balanços de massa.

5.5 COMPOSIÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO

As composições das linhas de amarração foram calculadas conforme metodologia descrita por Merchuk (1997) e utilizando-se as equações 19-22. O comprimento da linha de amarração – CLA e a inclinação da linha de amarração – ILA foram encontrados utilizando-se as Equações 15 e 14, respectivamente.

As Figuras 12, 13 e 14 mostram as linhas de amarração calculadas através do método descrito e as curvas binodais obtidas experimentalmente. Os dados também estão dispostos nas Tabelas 03, 04 e 05. Na resolução dos sistemas de equações utilizou-se as equações apresentadas na Tabela 02.

Observa-se que, para os três sais, as ILAs nos sistemas com pHs 5,0 e 7,5 são semelhantes, concluindo-se que a alteração de um pH ácido para a neutralidade não tem influência significativa sobre este fator. O mesmo não ocorreu em pH 10,0, já que este apresentou relevante influência sobre as inclinações das linhas e modificou-as consideravelmente. Para os sistemas contendo sulfato e tartarato de sódio, o aumento para o pH básico resultou na diminuição das ILAs, indicando que no estado de equilíbrio, o incremento na concentração de sal na fase rica deste componente é inferior ao incremento na concentração de polímero na fase rica em polímero. Por outro lado, sistemas contendo citrato de sódio tiveram o efeito contrário, ou seja, o incremento na concentração de sal na fase rica em sal é superior ao incremento na concentração de polímero na fase rica em polímero, caracterizado pelo aumento dos valores de ILA. Valores maiores de pH ocasionam menor protonação dos ânions, diminuindo a quantidade de grupos multivalentes presentes no sistema e consequentemente o efeito *saltig-out*, especialmente do citrato de sódio, uma vez que é o único ânion trivalente estudado. Logo o incremento da concentração de sal deve ser maior em comparação à concentração de polímero em uma dada linha de amarração. O comportamento observado para os sistemas contendo citrato de sódio pode ser corroborado através da análise dos dados de especiação do sal, que indica que, em pH 5,0, o ânion encontra-se 25% em valência -1, 25% em valência -3 e 50% em valência -2. Por outro lado, em pH 10,0 o ânion encontra-se totalmente em valência -3, indicando que os valores maiores de pH diminuem a protonação do ânion e, consequentemente, a presença de ânions positivos e multivalentes no sistema, conforme podem ser vistos na Tabela 03. Não foram observadas relação entre os dados de especiação do sulfato e do tartarato e o comportamento das linhas de amarração dos sistemas, já que os dados para sulfato indicam que o ânion encontra-se totalmente em valência

-2 para os três pHs estudados, enquanto que os dados para tartarato de sódio mostram que o ânion encontra-se, em pH 5,0, com 50% em valência -1 e 50% em valência -2 e 100% em valência -2 para os pHs 7,5 e 10,0, conforme podem ser vistos pelas tabelas 04 e 05, respectivamente.

O aumento nos CLAs observados estão relacionadas diretamente ao aumento do efeito *salting out* produzido pelo sal. A influência do pH sobre os CLAs mostra que para os sistemas contendo citrato e tartarato de sódio o aumento do pH levou ao aumento dos CLAs, o que também indica o aumento da região bifásica notado nestes sistemas. Este efeito é devido à maior fração molar de cada sal presente no sistema e o conseqüente efeito *salting out* maior produzido por esta quantidade de sal.

Tabela 3 - Dados de especiação do citrato de sódio em função do pH do sistema

pH	C₆H₅O₇⁻³	C₆H₆O₇⁻²	C₆H₇O₇⁻¹
5,0	25%	50%	25%
7,5	100%	-	-
10,0	100%	-	-

Fonte: Chemicalize (2020).

Tabela 4 - Dados de especiação do sulfato de sódio em função do pH do sistema

pH	SO₄⁻²
5,0	100%
7,5	100%
10,0	100%

Fonte: Chemicalize (2020).

Tabela 5 - Dados de especiação do tartarato de sódio em função do pH do sistema

pH	$C_4H_5O_6^{-1}$	$C_4H_4O_6^{-2}$
5,0	50%	50%
7,5	-	100%
10,0	-	100%

Fonte: Chemicalize (2020).

Tabela 6 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio + água em diferentes pHs.

pH	Ponto de Mistura			FRP			FRS			CLA	ILA
	Xpolímero	Xsal	Xágua	Xpolímero	Xsal	Xágua	Xpolímero	Xsal	Xágua		
5,0	0,0030	0,0111	0,9859	0,0057	0,0067	0,9876	0,0004	0,0128	0,9868	0,3177	-5,5610
	0,0035	0,0125	0,9839	0,0095	0,0063	0,9842	0,0002	0,0146	0,9851	0,4597	-5,8514
	0,0039	0,0133	0,9828	0,0114	0,0061	0,9825	0,0004	0,0154	0,9843	0,4955	-5,8196
	0,0039	0,0126	0,9834	0,0123	0,0068	0,9809	0,0001	0,0166	0,9832	0,5324	-5,6871
	0,0044	0,0140	0,9816	0,0148	0,0058	0,9795	0,0001	0,0173	0,9826	0,5842	-5,6036
	0,0049	0,0150	0,9801	0,0154	0,0065	0,9781	0,0002	0,0181	0,9817	0,5869	-5,5088
7,5	0,0022	0,0093	0,9885	0,0067	0,0045	0,9888	0,0003	0,0114	0,9882	0,3649	-5,9810
	0,0024	0,0096	0,9880	0,0075	0,0043	0,9883	0,0002	0,0121	0,9877	0,4005	-5,9104
	0,0028	0,0103	0,9870	0,0088	0,0038	0,9873	0,0001	0,0131	0,9868	0,4532	-5,7618
	0,0033	0,0108	0,9860	0,0106	0,0039	0,9855	0,0001	0,0137	0,9863	0,5052	-6,0142
	0,0035	0,0115	0,9850	0,0122	0,0035	0,9842	0,0001	0,0146	0,9854	0,5476	-5,8491
10,0	0,0035	0,0100	0,9866	0,0054	0,0028	0,9918	0,0003	0,0214	0,9783	0,2970	-2,6132
	0,0039	0,0112	0,9849	0,0064	0,0030	0,9906	0,0003	0,0234	0,9763	0,3488	-2,8457
	0,0043	0,0124	0,9833	0,0076	0,0026	0,9898	0,0003	0,0255	0,9742	0,3960	-3,0866
	0,0048	0,0139	0,9813	0,0088	0,0028	0,9884	0,0002	0,0269	0,9728	0,4511	-3,3021
	0,0053	0,0153	0,9794	0,0097	0,0029	0,9874	0,0002	0,0293	0,9704	0,4796	-3,2740

Fonte: Próprio autor.

Tabela 7 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + citrato de sódio + água em diferentes pHs.

pH	Ponto de Mistura			FRP			FRS			CLA	ILA
	Xpolímero	Xsal	Xágua	Xpolímero	Xsal	Xágua	Xpolímero	Xsal	Xágua		
5,0	0,0025	0,0095	0,9879	0,0041	0,0061	0,9898	0,0009	0,0132	0,9859	0,2223	-2,2128
	0,0029	0,0098	0,9873	0,0051	0,0056	0,9893	0,0009	0,0139	0,9852	0,2698	-2,3477
	0,0033	0,0105	0,9862	0,0062	0,0053	0,9885	0,0009	0,0145	0,9845	0,3145	-2,4945
	0,0037	0,0113	0,9850	0,0075	0,0055	0,9870	0,0009	0,0156	0,9836	0,3652	-2,6542
	0,0042	0,0118	0,9840	0,0091	0,0054	0,9855	0,0008	0,0163	0,9829	0,4197	-2,8043
	0,0047	0,0127	0,9827	0,0106	0,0057	0,9837	0,0007	0,0177	0,9815	0,4632	-2,8121
7,5	0,0023	0,0082	0,9895	0,0038	0,0049	0,9912	0,0004	0,0121	0,9875	0,2490	-2,3941
	0,0025	0,0085	0,9889	0,0043	0,0050	0,9907	0,0005	0,0128	0,9867	0,2617	-2,3726
	0,0031	0,0093	0,9876	0,0055	0,0048	0,9897	0,0005	0,0141	0,9854	0,3153	-2,4397
	0,0034	0,0102	0,9864	0,0062	0,0049	0,9889	0,0004	0,0158	0,9838	0,3578	-2,3784
	0,0037	0,0110	0,9852	0,0073	0,0045	0,9882	0,0004	0,0172	0,9824	0,4056	-2,3614
10,0	0,0033	0,0091	0,9876	0,0099	0,0032	0,9869	0,0005	0,0113	0,9881	0,4533	-3,9268
	0,0039	0,0099	0,9861	0,0108	0,0034	0,9858	0,0005	0,0132	0,9863	0,4783	-3,5290
	0,0045	0,0111	0,9845	0,0120	0,0034	0,9847	0,0005	0,0147	0,9848	0,5132	-3,3375
	0,0050	0,0122	0,9828	0,0131	0,0041	0,9828	0,0005	0,0163	0,9832	0,5392	-3,2187
	0,0058	0,0136	0,9807	0,0149	0,0044	0,9807	0,0004	0,0191	0,9805	0,5806	-2,9559

Fonte: Próprio autor.

Tabela 8 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + tartarato de sódio + água em diferentes pHs.

pH	Pontos de Mistura			FRP			FRS			CLA	ILA
	Xpolímero	Xsal	Xágua	Xpolímero	Xsal	Xágua	Xpolímero	Xsal	Xágua		
5,0	0,0029	0,0136	0,9835	0,0051	0,0095	0,9854	0,0007	0,0178	0,9815	0,2786	-2,8911
	0,0034	0,0140	0,9826	0,0065	0,0086	0,9849	0,0006	0,0197	0,9797	0,3405	-2,7894
	0,0038	0,0153	0,9809	0,0077	0,0087	0,9835	0,0006	0,0206	0,9788	0,3856	-2,9251
	0,0042	0,0158	0,9800	0,0092	0,0081	0,9827	0,0006	0,0213	0,9781	0,4317	-2,9920
	0,0047	0,0169	0,9784	0,0108	0,0079	0,9813	0,0006	0,0227	0,9766	0,4741	-2,9795
7,5	0,0024	0,0126	0,9850	0,0057	0,0066	0,9877	0,0006	0,0159	0,9836	0,3101	-3,0472
	0,0030	0,0136	0,9834	0,0076	0,0058	0,9866	0,0005	0,0178	0,9817	0,3930	-3,0650
	0,0030	0,0152	0,9818	0,0090	0,0055	0,9855	0,0006	0,0191	0,9803	0,4352	-3,0534
	0,0034	0,0163	0,9804	0,0108	0,0051	0,9841	0,0006	0,0205	0,9789	0,4802	-3,0607
	0,0038	0,0178	0,9783	0,0131	0,0047	0,9822	0,0006	0,0224	0,9770	0,5356	-3,0323
10,0	0,0042	0,0136	0,9822	0,0081	0,0045	0,9874	0,0003	0,0221	0,9776	0,4361	-2,4754
	0,0046	0,0146	0,9807	0,0097	0,0046	0,9857	0,0004	0,0240	0,9756	0,4811	-2,5071
	0,0051	0,0171	0,9778	0,0115	0,0043	0,9842	0,0003	0,0272	0,9725	0,5386	-2,4342
	0,0058	0,0197	0,9745	0,0131	0,0047	0,9823	0,0003	0,0325	0,9672	0,5820	-2,2255
	0,0064	0,0222	0,9714	0,0141	0,0045	0,9815	0,0003	0,0359	0,9638	0,6067	-2,1081

Fonte: Próprio autor.

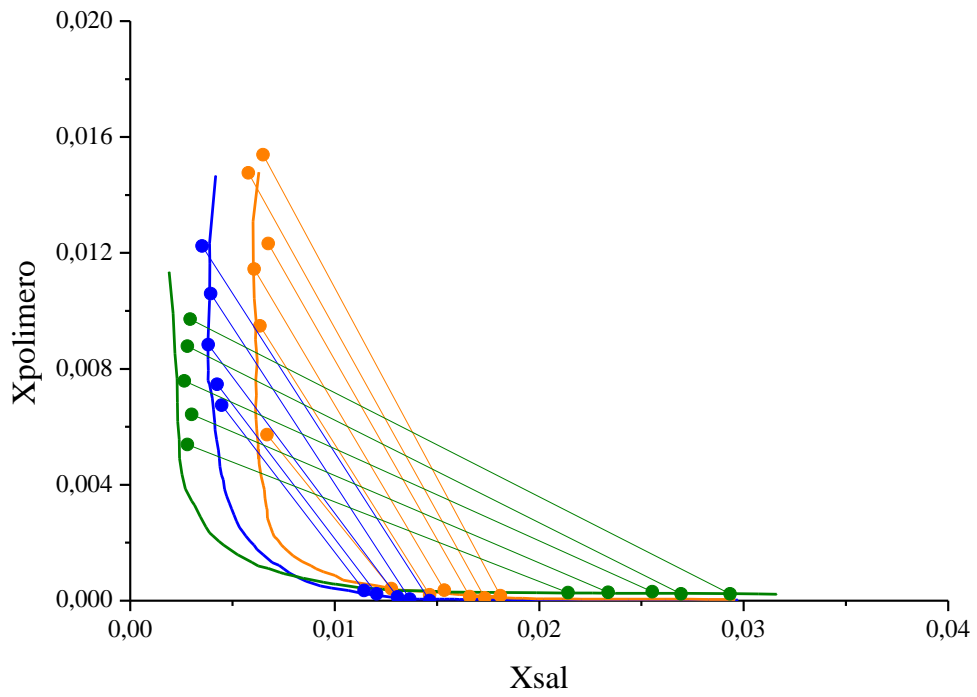


Figura 12 – Linhas de amarração para sistemas constituídos por Pluronic L64® + sulfato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0.

Fonte: Próprio autor.

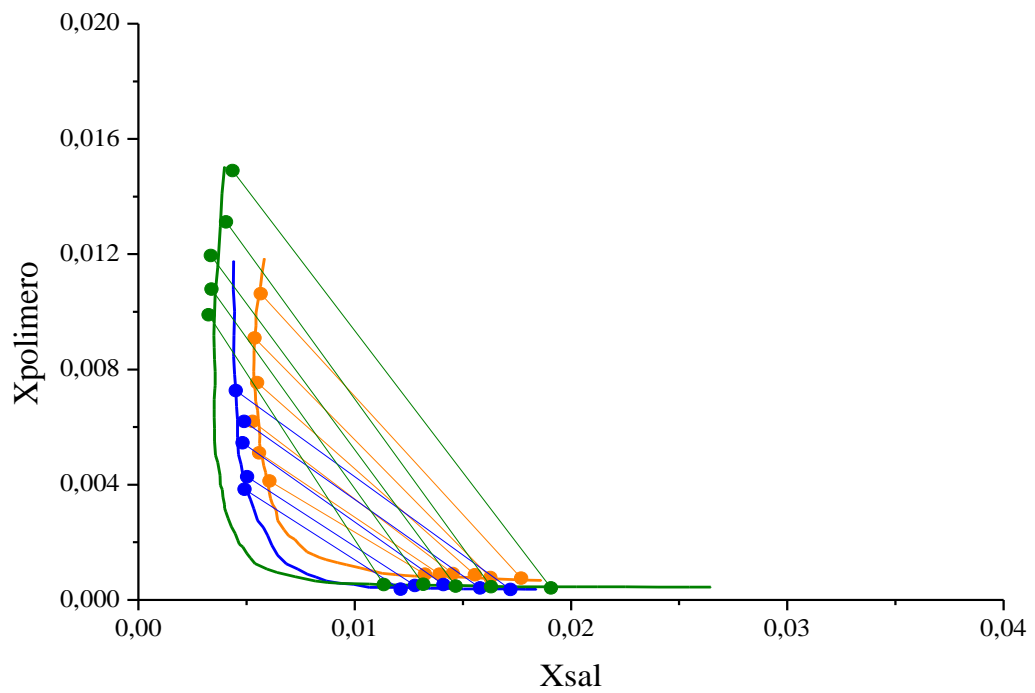


Figura 13 - Linhas de amarração para sistemas constituídos por Pluronic L64® + citrato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0.

Fonte: Próprio autor.

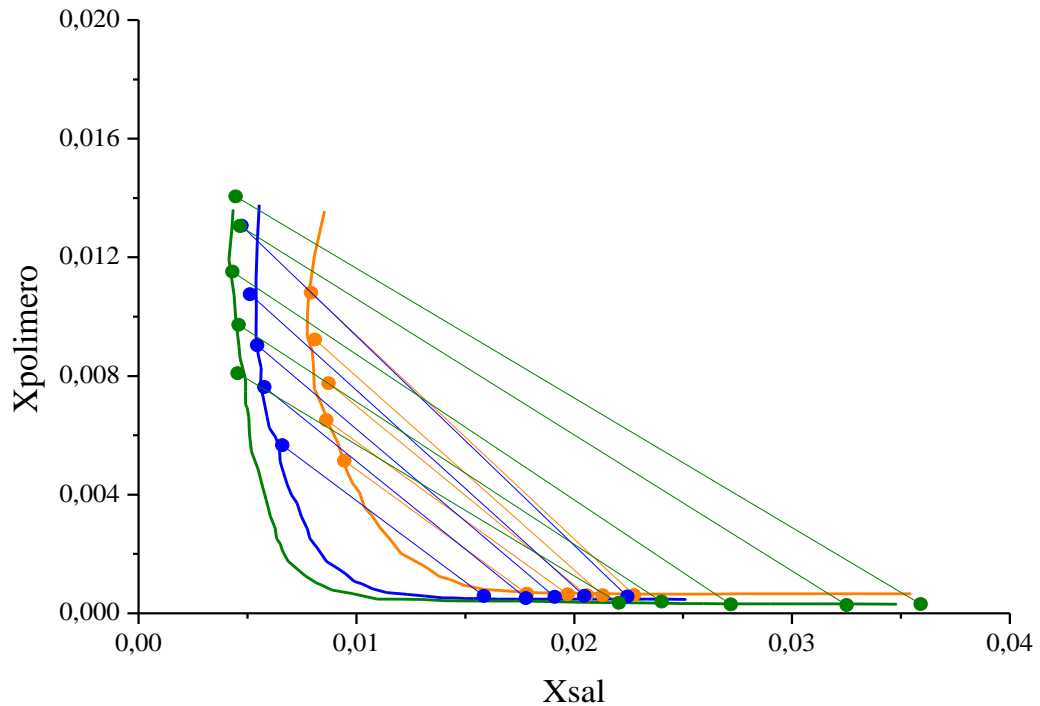


Figura 14 - Linhas de amarração para sistemas constituídos por Pluronic L64® + tartarato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0.

Fonte: Próprio autor.

Conforme publicado por Silva *et al* (2006), o CLA é um indicativo da partição de componentes formadores do sistema, uma vez que quanto menor o valor deste parâmetro, mais igualitária serão as partições desses componentes em cada uma das duas fases do sistema.

5.6 COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DOS COMPONENTES

O coeficiente de partição (k) de cada componente, definido como a razão entre sua fração molar na fase rica em polímero e sua fração molar na fase rica em sal, indica como ocorre a distribuição de cada espécie em cada linha de amarração e pode ser visualizado nas figuras 15 e 16 para o polímero e sal, respectivamente.

Observa-se que, em todos os sistemas, o coeficiente de distribuição do polímero aumentou em função do aumento da fração molar de sal adicionado, efeito contrário ao observado para o coeficiente de distribuição do sal, que teve seus valores diminuídos com o aumento da fração molar de sal em cada sistema. Todos os valores encontrados para o

coeficiente de partição do polímero são maiores do que 1,0, enquanto que, para o sal, todos os valores encontrados foram menores do que 1,0.

Nota-se que todos os sistemas com pH 10,0 apresentaram maiores coeficientes de partição para o polímero em cada uma das fases. Para sistemas contendo citrato de sódio, por exemplo, o coeficiente de partição do polímero, para fração molar de sal de 0,011, foi de 6,78, 10,27 e 24,88 para pHs 5,0, 7,5 e 10,0, respectivamente. Já para sistemas contendo tartarato de sódio, para a mesma fração molar de sal, os valores calculados foram de 12,90, 16,92 e 38,74 para pH 5,0, 7,5 e 10,0, respectivamente. Por outro lado, os sistemas com pH 7,5 e 5,0 apresentaram valores mais próximos de 1,0, indicando que os componentes se distribuem de forma mais equitativa entre as duas fases em comparação pH básico, como, por exemplo, o coeficiente de partição do sal obtido para o sistema contendo sulfato de sódio, que apresentou valores de 0,39, 0,29 e 0,10 para uma fração molar de sal de 0,011 e pHs 5,0, 7,5 e 10,0, respectivamente.

De acordo com o trabalho publicado por Sadeghi (2019), a adição de sal aumenta a competição dos íons desta espécie com o polímero pelas moléculas de água, o que ocasiona a partição destas moléculas da fase rica em polímero, na qual estava solvatando os monômeros, migrando para a fase rica em sal. Este processo aumenta a concentração de polímero na fase superior, afinal existem menos moléculas de água disponíveis nesta fase, e aumenta também a concentração de sal na fase inferior, pois estas moléculas, agora, estão sendo solvatadas pelas moléculas de água retiradas da fase superior.

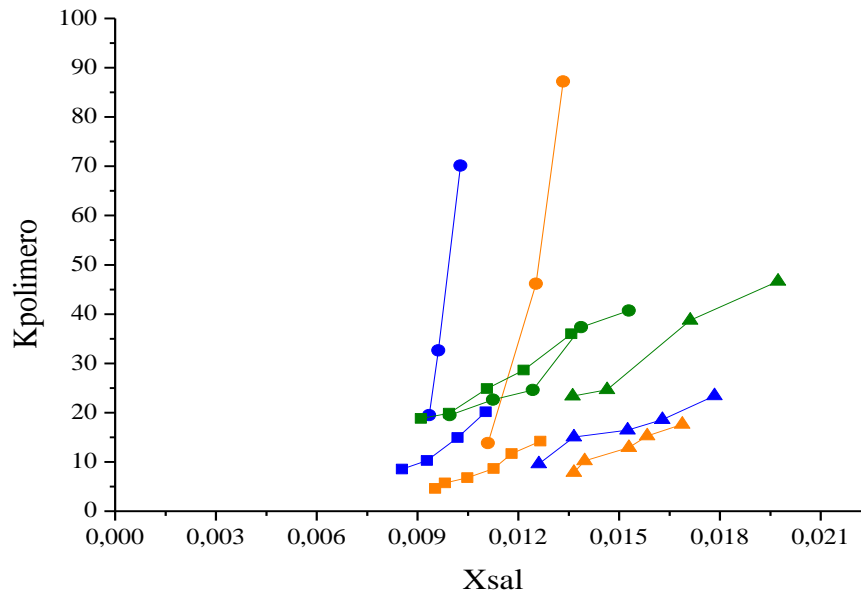


Figura 15 – Coeficientes de distribuição do polímero para sistemas contendo Pluronic L64® + água + sulfato de sódio a (●) 7,5, (○) 5,0 e (◐) 10,0; Pluronic L64® + água + citrato de sódio a (■) 7,5, (□) 5,0 e (◑) 10,0 e Pluronic L64® + água + tartarato de sódio a (▲) 7,5, (△) 5,0 e (◀) 10,0.

Fonte: Próprio autor

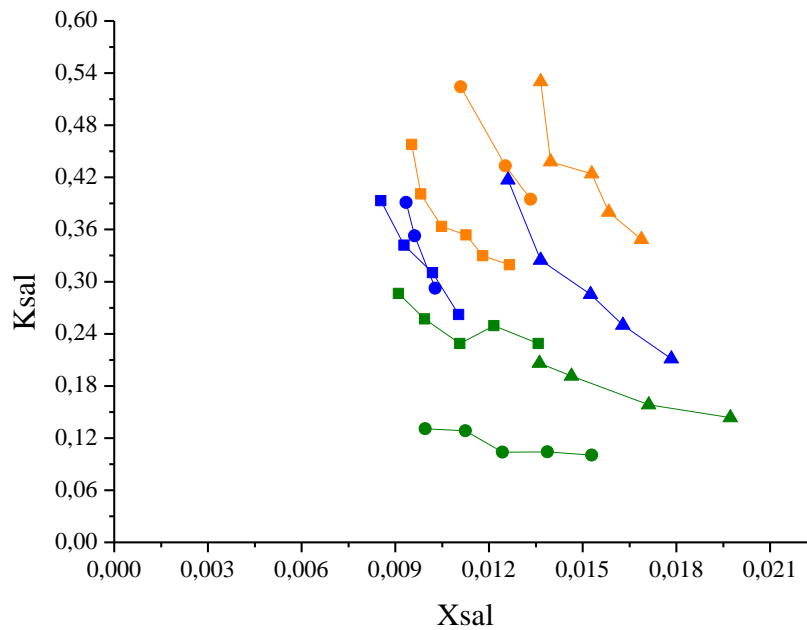


Figura 16 - Coeficientes de distribuição do sal para sistemas contendo Pluronic L64® + água + sulfato de sódio a (●) 7,5, (○) 5,0 e (◐) 10,0; Pluronic L64® + água + citrato de sódio a (■) 7,5, (□) 5,0 e (◑) 10,0 e Pluronic L64® + água + tartarato de sódio a (▲) 7,5, (△) 5,0 e (◀) 10,0.

Fonte: Próprio autor

5.7 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NAS CURVAS BINODAIS

A figura 17 mostra a influência da temperatura nas curvas binodais para os sistemas contendo Pluronic L64 ® + sulfato de sódio/citrato de sódio/tartarato de sódio + água,. Neste ponto é importante salientar que, uma vez que os dados experimentais obtidos neste trabalho estavam na mesma temperatura, mudando-se apenas o pH, foram coletados os dados experimentais em diferentes temperaturas do trabalho publicado por Rodrigues *et al* (2009) para que os sistemas contendo sulfato de sódio e os dados experimentais obtidos por Andrade *et al* (2011) para os sistemas contendo citrato de sódio e tartarato de sódio. Os dados retirados dos trabalhos estão disponíveis nos anexos I e II.

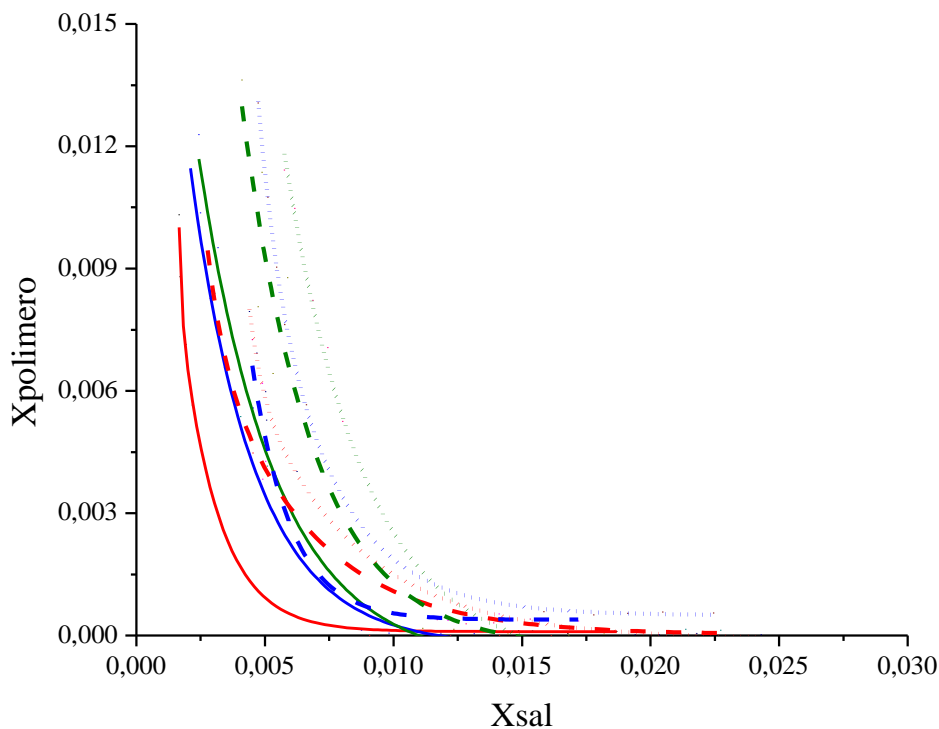


Figura 17 - Curvas binodais para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio em (—) 278K, (---) 288K e (---) 298K com os dados coletados de Rodrigues *et al* (2009)/ citrato de sódio em (---) 278K, (---) 293K e (---) 298K com os dados coletados de Andrade *et al* (2011)/ tartarato de sódio em (---) 278K, (---) 293K e (---) 298K com os dados coletados de Andrade *et al* (2011)

Fonte: Próprio autor.

Nota-se que, em todos os sistemas, o aumento da temperatura resultou numa diminuição da região bifásica, sendo, portanto, necessárias maiores concentrações de sal para que a separação de fases acontecesse. Para uma fração molar de 0,0060 de polímero no sistema contendo tartarato de sódio, por exemplo, são necessários 0,0050, 0,0065 e 0,0075, em fração molar de sal para 278K, 293K e 298K, respectivamente, para que a região bifásica seja alcançada. Nesta mesma fração molar de polímero e no sistema contendo citrato de sódio foram necessários 0,0035, 0,0050 e 0,0060, em fração molar de sal para 278K, 293K e 298K, respectivamente, para que a separação de fases fosse alcançada. Nos sistemas contendo sulfato de sódio as frações molares de sal foram, respectivamente, 0,0020, 0,0030 e 0,0045 para 278K, 288K e 298K. Logo, observa-se que o processo de separação de fases é exotérmico e que, em menores temperaturas, há maior segregação do polímero para a fase superior e maior afinidade entre as moléculas de água e sal, fazendo com que essas sejam atraídas e fiquem, majoritariamente, na fase inferior, semelhante ao processo observado em relação ao aumento de pH.

Embora a temperatura tenha exercido influência significativa sobre a composição da curva binodal, observa-se que, em todos os casos, a forma das curvas é a mesma, sendo possível afirmar, ainda, que em altas frações molares de sal (acima de 0,0120), todas as curvas apresentaram composição de polímero semelhantes, o que indica que, nestas quantidades, o efeito promovido pelo sal na separação de fases é bastante superior ao efeito da temperatura. O contrário também pode ser observado para baixas frações molares de sal (menores que 0,0050), em que se percebe uma diferença de posicionamento das curvas significativa.

O aumento da região bifásica em função da diminuição da temperatura para estes sistemas indica que essa diminuição torna o polímero mais hidrofóbico, acentuando as interações entre os monômeros de poli(propileno glicol) do polímero com a água e causando maior migração de suas moléculas para a fase rica em sal. Este efeito resulta em uma quantidade menor de água disponível para a solvatação do polímero, o que faz com que sejam necessárias menores concentrações de sal para que uma nova fase apareça.

5.8 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES TERMODINÂMICAS

Os resultados de variação de energia de Gibbs de micelização, mostrados pela Figura 18, evidenciam que os três sais utilizados resultaram em valores na faixa entre -16.000 e -12.000 J/mol, sendo os sistemas a 278,15 K os que apresentaram maior variação em relação ao parâmetro. Os valores negativos indicam a existência de um processo espontâneo para a formação de duas fases em todos os casos. Em módulo, observa-se que, para 278,15 K e 298,15 K a variação da energia de micelização de Gibbs seguiu a ordem crescente $C_4H_4O_6^{-2} < C_6H_5O_7^{-3} < SO_4^{-2}$, enquanto que para 293,15 K a ordem foi $C_4H_4O_6^{-2} < SO_4^{-2} < C_6H_5O_7^{-3}$. O resultado a 293,15 K segue a ordem de valências dos íons e indica que a micelização do polímero nesta condição está de acordo com a energia de Gibbs de hidratação das moléculas dos ânions dos sais, calculada através da Equação 10 e mostrada na Tabela 06. Neste caso, as contribuições das energias de Gibbs de eletrostrição e assimetria no processo de hidratação do ânion foram maiores do que as contribuições decorrentes dos volumes parciais molares dos ânions, mostrados na Tabela 07, no processo de micelização do polímero. A tabela mostra também que a menor energia de Gibbs de micelização para o citrato a 293,15 K aponta para o maior efeito de eletrostrição sofrido pelo ânion, mostrando que a variação da dimensão do íon sob o efeito das cargas elétricas possui contribuição determinante para os valores calculados. Por outro lado, o maior valor de energia de Gibbs de micelização para o sulfato a 278,15 K e 298,15 K sugerem que o menor volume parcial molar deste íon foi determinante no processo de estruturação de moléculas de água ao redor dos ânions e apresentou maior influência para a variação de energia de Gibbs de micelização do polímero em comparação às energias de eletrostrição e assimetria. Nestas duas temperaturas o menor volume parcial molar do sulfato permitiu maior aproximação e conseqüente interação entre as moléculas de água e do sal, o que é corroborado também pelo menor valor de energia de Gibbs de neutralização deste ânion.

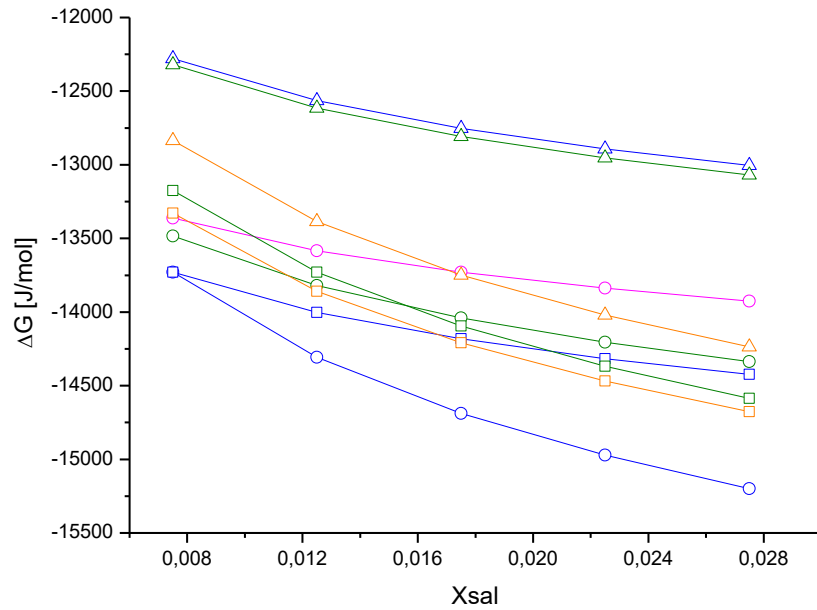


Figura 18 - Variação de energia micelização de Gibbs para sistemas contendo Pluronic L64[®] + água + sulfato de sódio a (●) 278,15K, (●) 288,15K e (●) 298,15K; Pluronic L64[®] + água + citrato de sódio a (■) 278,15K, (■) 293,15K e (■) 298,15K e Pluronic L64[®] + água + tartarato de sódio a (▲) 278,15K, (▲) 293,15K e (▲) 298,15K

Fonte: Próprio autor

Tabela 9 - Energias de Gibbs de hidratação, eletrostrição, neutralização e assimetria dos ânions

Ânion	$\Delta G_{\text{hidratação}}$ (kJ · mol ⁻¹)	$\Delta G_{\text{eletrostrição}}$ (kJ · mol ⁻¹)	$\Delta G_{\text{neutralização}}$ (kJ · mol ⁻¹)	$\Delta G_{\text{assimetria}}$ (kJ · mol ⁻¹)
Sulfato	-1110,54	-967,65	91,07	-233,96
Citrato	-2645,28	-1781,49	126,51	-990,30
Tartarato	-1007,53	-846,60	115,35	-276,27

Fonte: Marcus (1991).

Tabela 10 - Volume molar parcial padrão, volume de eletrostrição 01 e volume de eletrostrição 02 dos ânions

Ânion	\bar{V}_{molar} (cm ³ /mol)	$V_{\text{eletrostrição01}}$ (cm ³ /mol)	$V_{\text{eletrostrição02}}$ (cm ³ /mol)
Sulfato	137,2	-15,8	-65,3
Citrato	234,4	-15,9	-123,1
Tartarato	144,8	-9,2	-58,9

Fonte: Marcus (1994).

Já pela análise dos resultados de variação de entalpia de micelização, mostrados pela Figura 19, verifica-se que se tratam de sistemas exotérmicos, caracterizados pela liberação de energia durante o processo de separação de fases, uma vez que todos os valores encontrados foram negativos e corroborando com o resultado encontrado pela análise da influência da temperatura sobre as curvas binodais. Esse aumento da entalpia é causado pela alteração na conformação do polímero, ocasionando o aparecimento de novas interações polímero-sal. Essas contribuições entálpicas são bastante relevantes na separação de fases de sistemas contendo polímero e sal, mas são bem menos importantes em sistemas com dois polímeros e água (SARAVANAN *et al*, 2008).

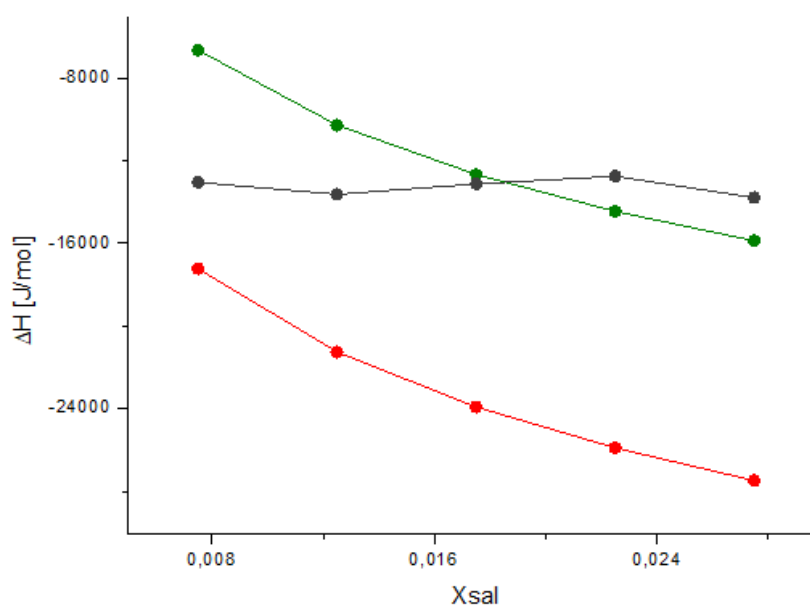


Figura 19 - Variação da entalpia de micelização para o sistema constituído por Pluronic L64 ® + água + (●) sulfato de sódio, (●) citrato de sódio ou (●) tartarato de sódio

Fonte: Próprio autor

Os resultados da variação da entropia, trazidos pela Figura 20, mostram que frações molares menores de sal resultam em sistemas mais desordenados para os conjuntos contendo sulfato de sódio e citrato de sódio, enquanto que para os sistemas contendo tartarato de sódio, o aumento da fração molar de sal não resultou em alterações significativas nos valores de entropia para as três temperaturas. As entropias podem se dever a existência de conjuntos de polímeros ligados entre si e ordenados em solução, e a diminuição de entropia observada deve-se ao fato de que a formação de micelas do polímero em uma nova fase em razão de sua desidratação acrescenta ordem ao sistema, sendo esta ordem superior à desordem provocada pela liberação de moléculas de água de solvatação em decorrência da interação entre os íons do sal e os grupos óxido de etileno presentes no Pluronic L64 ®. O trabalho publicado por Andrade (2011) explica que essa interação dos íons ocorre até atingir um ponto de saturação, após o qual não é observado mais aumento da entropia. Ao que parece, esta condição foi atingida para os sistemas contendo tartarato de sódio, no qual observa-se que seus valores de entalpia e entropia permaneceram constantes para a faixa calculada. Esse mesmo trabalho relatou que o comportamento observado em sistemas contendo citrato de sódio pode estar associado a um aumento da entropia translacional das moléculas de água que são liberadas com a adição de sal, o que pode ser sugerido ao notar-se que os sistemas com citrato de sódio foram os únicos a apresentarem entropia positiva.

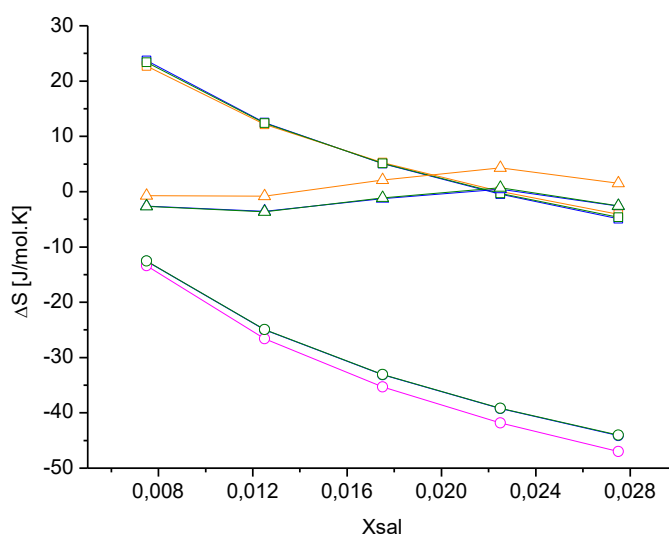


Figura 20 - Variação de entropia de micelização para sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + sulfato de sódio a (●) 278,15K, (●) 288,15K e (●) 298,15K; Pluronic L64 ® + água + citrato de sódio a (■) 278,15K, (■) 293,15K e (■) 298,15K e Pluronic L64 ® + água + tartarato de sódio a (▲) 278,15K, (▲) 293,15K e (▲) 298,15K.

Fonte: Próprio autor

A tabela 08 apresenta as contribuições entrópicas de cada ânion adicionado ao sistema.

Tabela 11 - Contribuições entrópicas do sal em cada sistema

Sulfato			
Xsal	278,15 K	288,15 K	298,15 K
0,0075	0,1687	0,1832	0,1784
0,0125	0,2463	0,2652	0,2591
0,0175	0,2783	0,2986	0,2921
0,0225	0,2965	0,3176	0,3109
0,0275	0,3087	0,3302	0,3234
Citrato			
Xsal	278,15	293,15	298,15
0,0075	0,4943	0,5001	0,5147
0,0125	0,2508	0,2578	0,2654
0,0175	0,1009	0,1080	0,1064
0,0225	0,0060	0,0010	0,0095
0,0275	0,0753	0,0703	0,0839
Tartarato			
Xsal	278,15	293,15	298,15
0,0075	0,0533	0,0164	0,0560
0,0125	0,0692	0,0174	0,0723
0,0175	0,0238	0,0451	0,0279
0,0225	0,0153	0,0902	0,0106
0,0275	0,0495	0,0314	0,0538

Fonte: Próprio autor.

Pela tabela, é possível observar que o citrato foi o responsável pelas maiores contribuições entrópicas, seguido pelo sulfato e, por último, o tartarato. Essas contribuições

seguem a ordem da densidade de cargas dos ânions, indicando que espécies com menor densidade de cargas causam mais desordem aos sistemas quando adicionados. Nota-se também que para os sistemas contendo sulfato, a contribuição entrópica foi maior para 288,15 K, seguido de 298,15 K e, por último, 278,15 K, enquanto que os sistemas contendo citrato seguiram a ordem $278,15\text{ K} < 293,15\text{ K} < 298,15\text{ K}$. Nos sistemas contendo tartarato, a contribuição entrópica do ânion não seguiu uma ordem específica, corroborando com a hipótese de que o sistema atingiu o ponto de saturação, ao passo que, após este ponto, não é observado mais incremento na entropia do sistema.

5.9 COMPORTAMENTO DOS SISTEMAS CONTENDO GLICOSE

A Figura 21 apresenta os resultados obtidos, enquanto que a Tabela 09 traz as composições das linhas de amarração calculadas também segundo a metodologia proposta por Merchuk.

Percebe-se que o efeito *sugaring out* provocado pela adição da glicose no sistema é bem menor quando comparado ao efeito *salting out* provocado pela adição dos sais. Comparando-o com o sistema em mesmo pH contendo tartarato de sódio – sistema em que foi necessário a maior fração molar de sal para a separação de fases, observa-se que, enquanto que para o sal foram necessários cerca de 0,0050 de fração molar para iniciar a separação, no caso do açúcar foram necessários aproximadamente 0,040 para que o mesmo efeito fosse atingido. Atribui-se o resultado à menor capacidade das moléculas de glicose de serem solvatadas e, portanto, atraírem moléculas de água para si provocando a separação de fases devido à menor quantidade de água disponível para a solvatação do polímero.

De acordo com o estudo de Galema *et al* (1990), a hidratação de moléculas de carboidrato é função da razão entre a quantidade de grupos hidroxila posicionados axialmente e radialmente. Segundo a publicação, quanto menor a razão apresentada maior é a capacidade de hidratação e, portanto, menores quantidades do carboidrato são necessárias para a separação de fases. O estudo foi comprovado por Cardoso (2013), que analisou os efeitos *sugaring out* provocados por vários carboidratos e concluiu que os açúcares que mais contribuíram para a separação de fases em sistemas compostos por acetonitrila + água + carboidrato são a manose e a galactose. De acordo com o trabalho, a glicose é um dos carboidratos que apresentaram o menor efeito de separação de fases para o sistema estudado.

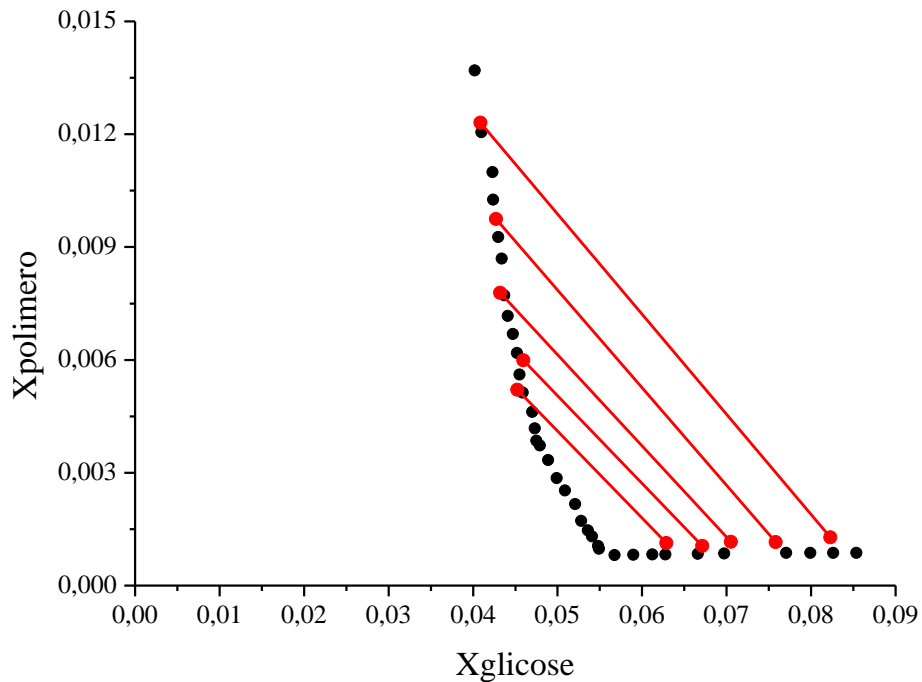


Figura 21 - Comportamento do sistema contendo Pluronic L64®, glicose e água.

Fonte: Próprio autor.

Os resultados do presente estudo corroboram os encontrados por Sun (2018), que analisou os efeitos *salting out* e *sugaring out* em sistemas com o objetivo de extrair ácido succínico de sistemas aquosos. O trabalho estudou o comportamento com a presença de BF_4 , triflato e glicose, sendo que, para os dois primeiros casos, também foram necessárias menores concentrações das espécies para que a região bifásica fosse atingida.

Outros trabalhos também obtiveram resultados similares, como o estudo publicado por Tu (2018), que analisou a partição do ácido 10-hidróxi-2-decenóico em geleias. O estudo mostrou que a extração provocada pelo sulfato de magnésio foi superior à realizada pelo cloreto de sódio, ficando a glicose em último lugar em relação ao rendimento da extração. Novamente observou-se que o efeito *salting out* foi superior ao efeito *sugaring out*.

Tabela 12 - Composição das linhas de amarração para os sistemas contendo Pluronic L64 ®, glicose e água em pH 7,5.

Pontos de Mistura			FRP			FRG			CLA	ILA
Xpolímero	Xglicose	Xágua	Xpolímero	Xglicose	Xágua	Xpolímero	Xglicose	Xágua		
0,0039	0,0727	0,9234	0,0077	0,0677	0,9245	0,0012	0,0758	0,9230	0,2904	-1,9022
0,0035	0,0683	0,9282	0,0068	0,0652	0,9280	0,0012	0,0705	0,9283	0,2556	-2,0395
0,0033	0,0648	0,9320	0,0060	0,0620	0,9320	0,0013	0,0671	0,9316	0,2252	-2,0449
0,0028	0,0605	0,9367	0,0049	0,0582	0,9369	0,0011	0,0629	0,9360	0,1926	-2,0709
0,0047	0,0793	0,9160	0,0093	0,0729	0,9178	0,0013	0,0823	0,9164	0,3271	-1,8467
0,0039	0,0727	0,9234	0,0077	0,0677	0,9245	0,0012	0,0758	0,9230	0,3464	-1,7961

Fonte: Próprio autor.

As partições de glicose em frações molares de 0,0018 a 0,0126 para sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + glicose + sais são mostradas na Figura 22. Sistemas com frações molares acima destes valores não foram estudados devido a não completa dissolução da glicose. Os valores numéricos, bem como as concentrações em cada uma das fases e o coeficiente de partição estão demonstrados na Tabela 10. Os coeficientes de partição da glicose foram maiores em sistemas contendo sulfato de sódio, seguido do citrato de sódio e, por fim, o tartarato de sódio.

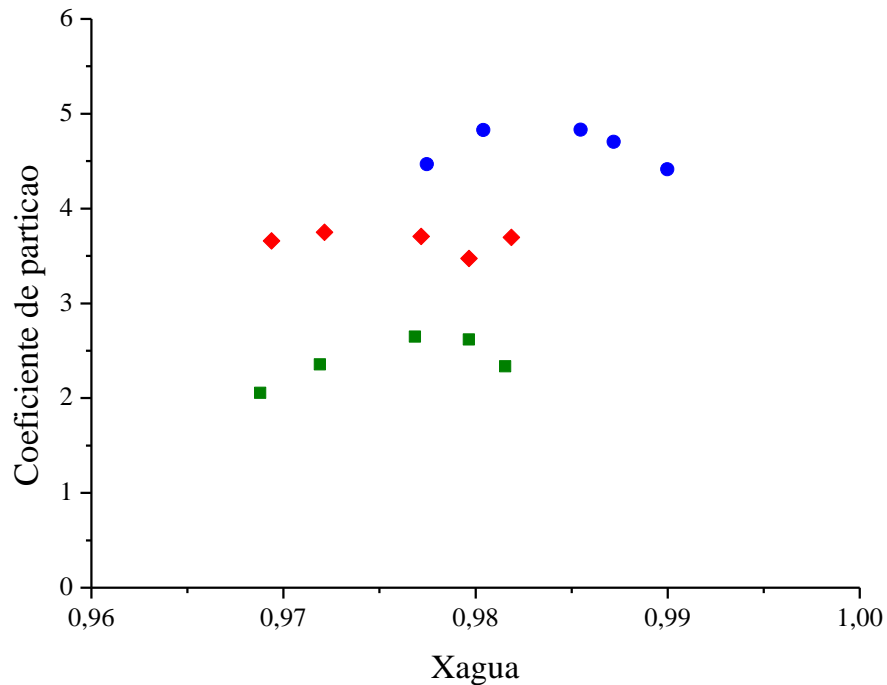


Figura 22 - Coeficiente de partição da glicose em sistemas contendo Pluronic L64 ® + água + (●) sulfato de sódio, (◆) citrato de sódio e (■) tartarato de sódio.

Fonte: Próprio autor.

Tabela 13 - Dados sobre o coeficiente de partição da glicose

Sal	Xpolímero	Xsal	Xágua	Xglicose	Concentração da fase superior (g/L)	Concentração da fase inferior (g/L)	Coeficiente de partição
Sulfato de sódio	0,0013	0,0094	0,9875	0,0018	0,99	4,38	4,41
	0,0014	0,0093	0,9847	0,0046	4,90	23,06	4,70
	0,0015	0,0100	0,9828	0,0057	2,57	12,40	4,83
	0,0016	0,0109	0,9776	0,0099	4,26	20,58	4,83
	0,0018	0,0111	0,9746	0,0125	9,05	40,42	4,47
Citrato de sódio	0,0013	0,0052	0,9917	0,0018	1,38	5,11	3,70
	0,0014	0,0051	0,9889	0,0046	2,45	8,51	3,47
	0,0015	0,0055	0,9873	0,0057	4,51	16,73	3,71
	0,0016	0,0060	0,9824	0,0100	5,99	22,47	3,75
	0,0018	0,0061	0,9795	0,0126	6,09	22,28	3,66
Tartarato de sódio	0,0013	0,0069	0,9900	0,0018	0,58	1,36	2,33
	0,0014	0,0068	0,9872	0,0046	5,72	14,98	2,62
	0,0015	0,0073	0,9855	0,0057	9,79	25,93	2,65
	0,0016	0,0080	0,9804	0,0100	13,66	32,15	2,35
	0,0018	0,0081	0,9775	0,0126	9,09	18,68	2,06

Fonte: Próprio autor.

Pode-se observar que os coeficientes de partição para sistemas com tartarato de sódio tiveram variação entre 2,06 e 2,65, indicando que, neste caso, o açúcar tende a apresentar uma distribuição mais homogênea entre as fases em comparação aos demais casos. O valor crescente segue pelo sistema contendo citrato de sódio, tendo uma variação entre 3,47 e 3,75, até o sulfato de sódio, sendo este sistema o que apresentou maiores valores de coeficiente de partição, entre 4,41 e 4,83, indicando que neste caso a glicose apresentou uma distribuição mais heterogênea entre as fases. Ainda, é importante observar que, conforme definição do coeficiente de partição utilizada e demonstrada através da Equação 23, em todos os casos a glicose migrou-se em maior quantidade para a fase inferior – fase rica em sal, indicando uma repulsão maior entre o carboidrato e o polímero em comparação ao sal utilizado. Outra observação importante refere-se à constância do coeficiente de partição apesar do aumento de água disponível no sistema para dissolução, sendo esse comportamento comum para os três sais estudados.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesta pesquisa nos permitem concluir que a região bifásica dos sistemas estudados aumentou conforme o aumento da capacidade dos sais estudados em realizar o efeito *salting out*.

Ainda, para os sistemas estudados, o aumento do pH ocasionou o aumento da região bifásica, sendo, portanto, necessárias menores frações mássicas dos componentes para que a separação ocorresse. A alteração no pH também teve influência sobre o comprimento e inclinação das linhas de amarração, o que pode indicar que tal fator também possui influência sobre a partição de biomoléculas.

A diminuição da temperatura também resultou num aumento da região bifásica para todos os sistemas trabalhados. Foi possível concluir também que todos os sistemas ocorreram com a liberação de energia durante o processo de separação de fases, além de um aumento na desordem em decorrência da adição de sal;

Ao passo que maiores quantidades de sal eram adicionadas, mais moléculas de água migravam-se da fase rica em polímero para a fase rica em sal, o que pode ser observado através dos coeficientes de distribuição de cada componente presente;

O efeito *sugaring out* provocado pela glicose mostrou-se consideravelmente menor do que o efeito *salting out* provocado pela adição de sais aos sistemas. Foram necessárias cerca de dez vezes mais fração molar do carboidrato em relação aos eletrólitos para que a região bifásica fosse atingida;

A partição da glicose não foi influenciada de maneira significativa pela disponibilidade de água na faixa estudada. Entretanto, o sal utilizado durante o processo mostrou-se influente no parâmetro.

REFERÊNCIAS

- ALBERTSSON, P. Å. **Partition of cell particles and macromolecules: separation and purification of biomolecules, cell organelles, membranes, and cells in aqueous polymer two-phase systems and their use in biochemical analysis and biotechnology.** 3th ed. New York: Wiley, 1986.
- ALBERTSSON, P. A.; TISELIUS, A.; PORATH, J.; **Separation and fractionation of macromolecules and particles.** Science 1963, v. 141, p. 13-20.
- ALEXANDRIDIS, P.; HATTON, T. A. **Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces: thermodynamics, structure, dynamics, and modeling.** Elsevier Science, v. 96, p. 1-46, 1995.
- ANDRADE, V. M. *et al.* **Aqueous two-phase systems of copolymer L64 + organic salt + water: Enthalpic L64-salt interaction and Othmer-Tobias, NRTL and UNIFAC thermodynamic modeling.** Chemical Engineering Journal, v. 171, p. 9-15, 2011.
- ANDRADE, V. M. *et al.* **Aqueous two-phase systems of copolymer L64 + organic salt + water: Enthalpic L64-salt interaction and Othmer-Tobias, NRTL and UNIFAC thermodynamic modeling.** Chemical Engineering Journal, v. 171, p. 9-15, 2011.
- ARRUDA, H. J. **Produção industrial de enzimas e aplicações em processos cervejeiros: uma revisão da literatura.** VII Congresso Brasileiro de Engenharia de Produção. Ponta Grossa, 2017.
- BARANI, A. *et al.* **Influence of the molecular weight of polymer, temperature and pH on phase diagrams of poly (ethylene glycol) p di-potassium tartrate aqueous two-phase systems.** Fluid Phase Equilibria, v. 459, p. 1-9, 2018.
- BEIJERINCK, M. W.; **Zbl. Bakt.** II Natur, v. 627, p. 698-705, 1986.
- BIEDRZYCKA, E. BIELECKA M. **Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization.** Trends in Food Science & Technology, 2004.
- BOLAR, S.; BELUR, P. D.; IYYASWAMI, R. **Partitioning Studies of Glutaminase in Polyethylene Glycol and Salt-Based Aqueous Two-Phase Systems.** Chemical Engineering & Technology, v. 36, n. 8, p. 1378–1386, 2013.
- BORNET, F. R. J. *et al.* **Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: Natural occurrence, chemistry, physiology and health implications.** Digestive and Liver Disease, 34, p. 111-120, 2018.
- COELHO, D. F. **Purificação de bromelina dos resíduos de abacaxi (Ananas comosus L. Merrill) por sistemas bifásicos aquosos PEG/Sal.** Exacta, vol. 9, n. 3.p. 333-338, 2011.
- COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. **Tecnologia Enzimática.** Rio de Janeiro: FAPERJ, 2008.
- CREIGHTON, T. E. **Proteins: Structures and Molecular Properties.** 2ª Ed., W. H. Freeman & Co., New York. p. 156, 1993.

DAN, A.; GHOSH, S.; MOULIK, S. P. **The Solution Behavior of Poly(vinylpyrrolidone): Its Clouding in Salt Solution, Solvation by Water and Isopropanol, and Interaction with Sodium Dodecyl Sulfate.** *J. Phys Chemistry*, v. 112, p. 3617-3624, 2008.

DIAMOND, A.D.; HSU, J. **Aqueous two-phase systems for biomolecule separation.** *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, v. 47, p. 88-135, 1992.

DIAMOND, A.D.; HSU, J. **Fundamentals studies of biomolecule partitioning in aqueous two phase systems.** *Biotechnology and Bioengineering*, v. 34, p. 1000-1014, 1989.

DOBRY, A.; KAWENOKI, F. B.; **Phase separation in polymer solution.** *Sci*, v. 2, p. 90-104, 1947

DOMINGUEZ, A. **New improved method for fructooligosaccharides production by *Aureobasidium pullulans*.** *Carbohydrate Polymers*, v. 89, n. 4, p. 1174–1179, 1 ago. 2012.

EBRAHIMI, N.; SADEGHI, R.; AMEEN, B. A. H. **Thermodynamics of clouding process in 1-butanol + water mixtures in the presence and absence of sugars.** *Journal of Molecular Liquids*, v. 278, p. 164-174, 2019.

FORCINITI, D. HALL, C. K. **Influence of Polymer molecular weight and temperature on phase composition in ATPS.** *Fluid Phase Equilibria*, v. 61, p. 243-262, 1991.

GALEMA, S.A. *et al.* **Stereochemical aspects of the hydration of carbohydrates. kinetic medium effects of monosaccharides on a water-catalyzed hydrolysis reaction.** *J. Am. Chem. Soc.* 112, v. 26, p. 9665-9666, 1990.

GHAFFARI, S. *et al.* **Partitioning of cefazolin in aqueous two-phase systems containing poly (ethylene glycol) and sodium salts (citrate, tartrate, and sulphate).** *Fluid Phase Equilibria*, v. 488, p. 54–61, 2009.

GHAOUAR, N. *et al.* **Structure and thermodynamic modelling of Pluronic L64 ® solutions.** *E-Polymers*, v. 59, p. 621-637, 2013.

GUERRAND, D. **Economics of food and feed enzymes: Status and perspectives.** *Enzymes in Human and Animal Nutrition*, p. 487–514, 2018.

GUNDUZ, U.; KORKMAZ, K. **Bovine sérum albumin partitioning in aqueous two-phases system: Effect of pH and sodium chloride concentration.** *Journal of Chromatography*, v. 743, p. 255-258, 2000.

HAMZEZHAR, 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, 2015.

HERNÁNDEZ L, *et al.* **Levansucrase from *Acetobacter diazotrophicus* SRT4 is secreted via periplasm by a signal-peptide-dependent pathway.** *Current Microbiology*, v. 39, p. 146-152, 1999.

HILLERT, M. **Phase Equilibria, Phase Diagrams and Phase Transformations.** 2nd ed. New York: Cambridge, 2008.

JIMENES, O. A. Q. **Influência de sais de sódio no equilíbrio de fases de sistemas aquosos bifásicos contendo Triton X-114, na presença ou não de glicose, visando a extração da enzima *frutosiltransferase*.** 2019. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química. Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL/MG.

- JOHANSSON, G. ANDERSON, M. **Counter distribution of yeast enzymes with Polymer-bound triazine dye affinity ligands.** Journal of Chromatography, v. 289, p. 483-494, 1984.
- JOHANSSON, H.-O.; KARLSTRÖM, G.; TJERNELD, F. **Temperature-induced phase partitioning of peptides in water solutions of ethylene oxide and propylene oxide random copolymers.** Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects, v. 1335, n. 3, p. 315–325, 1997.
- KEPKA, C. et al. **Extraction of plasmid DNA from Escherichia coli cell lysate in a thermoseparating aqueous two-phase system.** Journal of Chromatography A, v. 1024, n. 1–2, p. 95–104, 2004.
- KING, R. S. *et al.* **Molecular thermodynamics os aqueous two-phase systems for bioseparations.** AIChE Journal, v. 34, p. 1585-1594, 1988.
- KOGA, Y. **Solution thermodynamics and its application to aqueous solutions.** 1^a ed. Amsterdam: Elsevier, 2007.
- KORETSKY, M. D. **Termodinâmica para Engenharia Química.** 7^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.
- MARCUS, Y. **Thermodynamic of solvation of ions.** Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions, v. 87, p. 2995 – 2999, 1991.
- MARSHALL, A. G. **Biophysical Chemistry: Principles, techniques and application,** John Wiley & Sons, New York, 1978.
- MERCHUK, J. C.; ANDREWS, B. A.; ASENJO, J. A. **Aqueous two-phase systems for protein separation: Studies on phase inversion.** Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, v. 711, n. 1–2, p. 285–293, 1998.
- NASCIMENTO, D. J. S. *et al.* **Estudo da influência do pH na formação de sistemas aquosos bifásicos constituído por polietilenoglicol, citrato de sódio e água.** XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Fortaleza, 2016.
- NASCIMENTO, M. B. *et al.* **Equilibrium data and thermodynamic studies of α -amylase partition in aqueous twophase systems.** Fluid Phase Equilibria, v. 463, p. 69-79, 2018.
- OSTWALD, W.; HERTEL, R. H.; **Kolloid Z. Z. Polym.** v. 47, p. 258-266, 1947
- PADILHA, G. S. *et al.* **Efeitos do pH e massa molar do polímero sobre o sistema bifásico aquoso PEG/fosfato.** Acta Scientiarum Technology, v. 33, n. 1, p. 1-4, 2011.
- PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. **Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos.** Santa Maria. Ciência Rural, v. 33, n.5, p. 385-390, 2003.
- PLAYNE, M. J. CRITTENDEN, R. G. **Prebiotics from lactose, sucrose, starch, and plant polysaccharides.** Bioprocesses and Biotechnology for Functional Foods and Nutraceuticals, p. 99–135. New York, 2004.
- RODRIGUES, G. D. *et al.* **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.** Chemical Engineering Journal, v. 54, p. 1894-1898, 2009.
- RODRIGUES, G. D. R. *et al.* **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 Chemistry Eng. v. 54, p. 1894-1898, 2009.

- RYDEN, J.; ALBERTSSON, P. A.; *J. Colloid Interface Sci.* v. 37, p. 219-225, 1971.
- SADEGUI, R; JAMEHBOZORG, B. **The salting-out effect and phase separation in aqueous solutions of sodium phosphate salts and poly(propylene glycol).** *Fluid Phase Equilibria.* v. 280, p. 68-75, 2009.
- SARUBBO, L.A. **Caracterização de um novo sistema bifásico aquoso e aplicação em extração de proteínas com coluna de discos perfurados rotativos.** Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade de Campinas – UNICAMP, 2000.
- SAVE, S.V. PANGARKAR, V.G. KUMAR, S.V. **Intensification of mass transfer in aqueous two-phase systems.** *Biotechnol Bioeng,* v. 41, p. 72-78, 1993.
- SILVA, C. E. V. **Produção enzimática de frutooligossacarídeos por leveduras a partir do melaço da cana-de-açúcar.** 2008. 59f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade de São Paulo - USP, 2008.
- SILVA, L. H. M.; LOH, W. **Calorimetric Investigation of the Formation of Aqueous Two-Phase Systems in Ternary Mixtures of Water, Poly(ethylene oxide) and Electrolytes (Or Dextran).** *The Journal of Physical Chemistry,* v. 104, p. 10069-10073, 2000.
- SILVA, L. H. M.; LOH, W. **Sistemas aquosos bifásicos: fundamentos e aplicações na partição/purificação de proteínas.** *Química Nova,* vol. 29, n. 6, p. 1345-1351, 2006.
- SILVA, L. M. R. *et al.* **Desenvolvimento de néctares mistos à base de manga e cajá enriquecidos com frutooligossacarídeos ou inulina.** Araraquara. *Alimentos e Nutrição,* v. 22, n.1, p. 149-154, 2011.
- SILVA, M. E. **Purification of three different microbial b-galactosidases by partitioning in aqueous two-phase systems.** *Food Science and Technology,* vol 17, n. 3, p. 219-223, 1997.
- SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química.** 7ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.
- SOUSA, C. A. B. *et al.* **Aplicação de sistemas aquosos bifásicos formados por PEG e citrato de sódio na purificação de celulasas produzidas por *trichoderma reesei* LCB 48.** XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Fortaleza, 2016.
- SUN, Y. *et al.* **Ionic liquid-based sugaring-out and saltingout extraction of succinic acid,** *Separation and Purification Technology,* v. 204, p. 133-140, 2018.
- THALBERG, K.; LINDMAN, B.; *Colloids Surf.* 1993, v. 76, p. 283-297.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. **Efeito do teor de soro, açúcar e frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,* vol. 41, n. 03, p. 393-400. 2005.
- TJERNELD, F. *et al.* **Enzymatic hydrolysis of cellulose in aqueous two-phase systems: Partition of celluloses from *Trichoderma reesei*.** *Biotechnology and Bioengineering,* v. 27, p. 1036-1043, 1985.
- TODERO, L. M. **Produção de β-D-frutofuranosidade pelo fungo filamentoso *Aspergillus thermomutatus* objetivando a produção de frutooligossacarídeos.** 2018. 79f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade do Estado de São Paulo - UNESP, Araraquara, 2018.

- TU, X. *et al.* **Comparison of salting-out and sugaring-out liquid-liquid extraction methods for the partition of 10-hydroxy-2-decenoic-acid royal jelly and their co-extracted protein content.** *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, v. 1073, n. 1–2, p. 90-95, 2018.
- VAN HIJUM *et al.* **Biochemical and molecular characterization of a levansucrase from *Lactobacillus reuteri*.** *Microbiology*, v. 150, p. 621-630, 2004.
- VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S.; DE ARAGAO, F. A. S. **Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos.** Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2013.
- VENANCIO, A.; ALMEIDA, C.; TEIXEIRA, J. A.; **Enzyme purification with aqueous two-phase systems comparison between systems composed of pure polymers and systems composed of crude polymers.** *Journal of Chromatography*, v. 680, p. 131-136, 1996.
- VICENTE, F. A. *et al.* **Integration of aqueous (micellar) two-phase systems on the proteins separation.** *BMC Chemical Engineering* v. 1, p. 1-4, 2019.
- WANDERLEY, M. D.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. **Aspectos da produção industrial de enzimas.** *Citino*, vol.1, n. 1, p. 44-50, 2011.
- WANG, L. *et al.* **Green separation of bromelain in food sample with high retention of enzyme activity using recyclable aqueous two-phase system containing a new synthesized thermo-responsive copolymer and salt.** *Food Chemistry*, v. 282, p. 48-57, 2019.
- YEREDLA, N. *et al.* **Aqueous Two Phase System Assisted Self-Assembled PLGA Microparticles.** *Scientific Reports*, v. 6, p. 27736, 2016.
- ZHANG, K. W.; KARLSTROM, G.; LINDMAN, B.; *J. Phys. Chem.* v. 98, p. 4411-4418, 1994.
- ZHANG, Y.; CREMER, P. S. **Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series.** *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 10, n. 6, p. 658–663, 2006.
- ZUNIGA; A. D. G.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A. **Coefficientes de partição da α -lactalbumina e β -lactoglobulina em sistemas aquosos bifásicos: influência da massa molar do polímero.** *Journal of Food*, v. 3, n. 3, p. 149-155, 2001.

APÊNDICE A – CURVAS BINODAIS E LINHAS DE AMARRAÇÃO EM TERMOS DE FRAÇÃO MÁSSICA

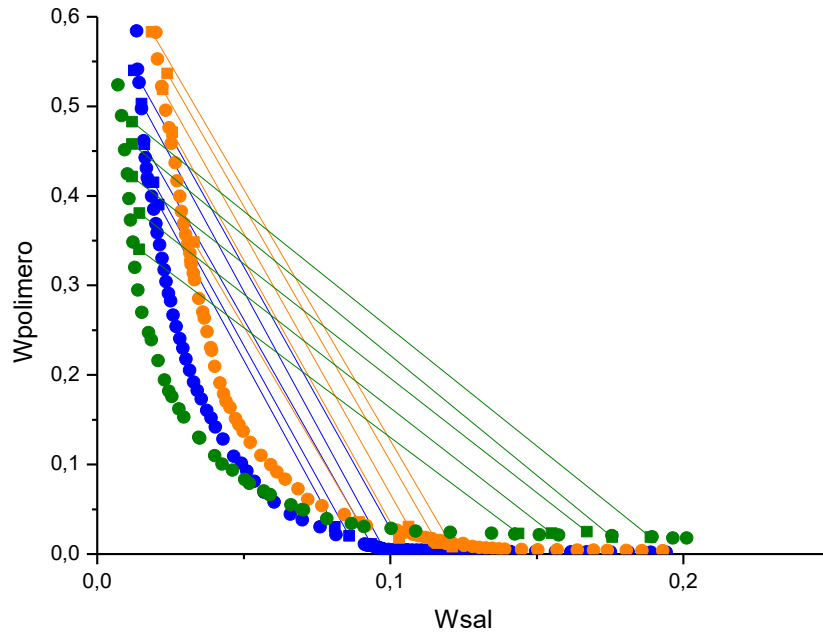


Figura 23 – Curvas binodais e linhas de amarração em termos de fração mássica para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0.

Fonte: Próprio autor.

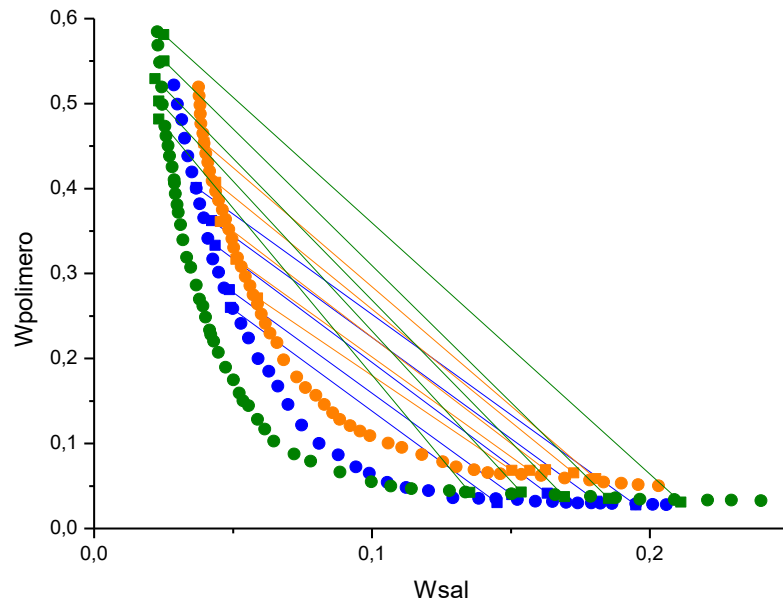


Figura 24 - Curvas binodais e linhas de amarração em termos de fração mássica para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + citrato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0.

Fonte: Próprio autor.

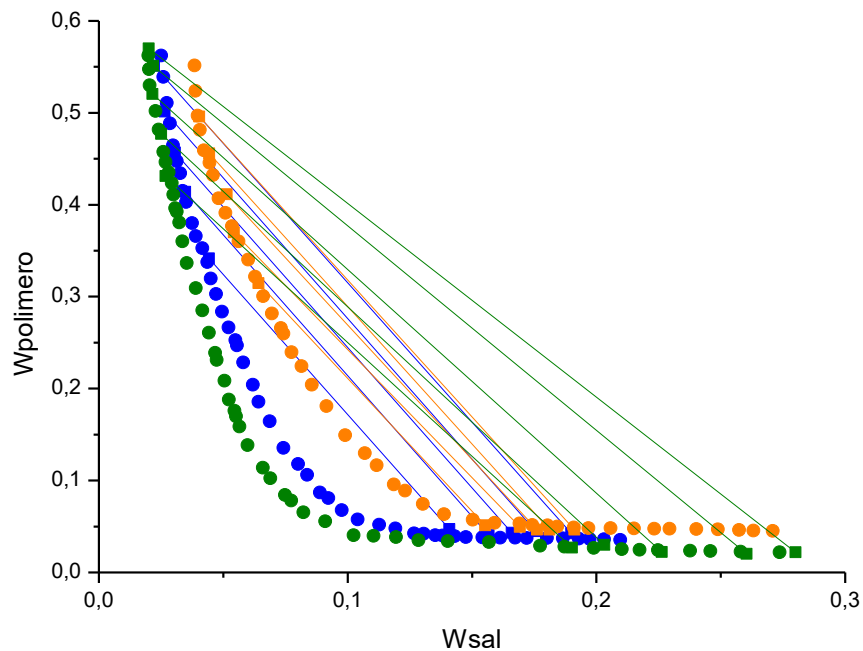


Figura 25 - Curvas binodais e linhas de amarração em termos de fração mássica para sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + tartarato de sódio + água para valores de pHs = (●) 7,5, (●) 5,0 e (●) 10,0.

Fonte: Próprio autor.

APÊNDICE B – COMPOSIÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO EM TERMOS DE FRAÇÃO MÁSSICA

Tabela 14 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + sulfato de sódio + água em diferentes pHs.

pH	Ponto de Mistura			FRP			FRS			CLA	ILA
	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}		
5,0	0,1989	0,0596	0,7415	0,34848	0,03305	0,61846	0,03577	0,08929	0,87494	0,3177	-5,5610
	0,2258	0,0649	0,7093	0,47093	0,02558	0,50349	0,0178	0,10302	0,87917	0,4597	-5,8514
	0,2397	0,0665	0,6939	0,51883	0,02234	0,45883	0,03052	0,10625	0,86324	0,4955	-5,8196
	0,2605	0,0680	0,6716	0,5365	0,02388	0,43962	0,01217	0,11608	0,87175	0,5324	-5,6871
	0,2811	0,0725	0,6464	0,58308	0,01855	0,39836	0,00801	0,12118	0,87081	0,5842	-5,6036
	0,3034	0,0748	0,6217	0,59208	0,02029	0,38764	0,01466	0,12510	0,86024	0,5869	-5,5088
7,5	0,1656	0,0579	0,7766	0,39005	0,02100	0,58895	0,03017	0,08117	0,88865	0,3649	-5,9810
	0,1809	0,0584	0,7607	0,41505	0,01919	0,56577	0,02012	0,08600	0,89388	0,4005	-5,9104
	0,2010	0,0606	0,7384	0,45755	0,01607	0,52639	0,01106	0,09356	0,89538	0,4532	-5,7618
	0,2282	0,0612	0,7106	0,50309	0,01517	0,48173	0,00476	0,09803	0,89721	0,5052	-6,0142
	0,2398	0,0640	0,6962	0,54009	0,01259	0,44732	0,00030	0,10488	0,89483	0,5476	-5,8491
10,0	0,2396	0,0560	0,7044	0,33025	0,02134	0,64842	0,05285	0,12749	0,81966	0,2970	-2,6132
	0,2611	0,0610	0,6779	0,38083	0,01945	0,59972	0,05180	0,13508	0,81313	0,3488	-2,8457
	0,2797	0,0653	0,6551	0,43155	0,01795	0,5505	0,05483	0,14000	0,80517	0,3960	-3,0866
	0,2991	0,0702	0,6306	0,48268	0,01586	0,50146	0,05091	0,14662	0,80247	0,4511	-3,3021
	0,3200	0,0745	0,6054	0,50900	0,01501	0,47598	0,05035	0,15510	0,79455	0,4796	-3,2740

Fonte: Próprio autor.

Tabela 15 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + citrato de sódio + água em diferentes pHs.

pH	Ponto de Mistura			FRP			FRS			CLA	ILA
	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}		
5,0	0,1794	0,0995	0,7211	0,27104	0,05880	0,67016	0,06849	0,15034	0,78118	0,2223	-2,2128
	0,2005	0,0997	0,6998	0,31661	0,05111	0,63228	0,06836	0,15685	0,77479	0,2698	-2,3477
	0,2219	0,1028	0,6753	0,36112	0,04545	0,59344	0,06918	0,16248	0,76834	0,3145	-2,4945
	0,2395	0,107	0,6535	0,40714	0,04382	0,54903	0,06543	0,17257	0,762	0,3652	-2,6542
	0,2610	0,1083	0,6308	0,45374	0,03954	0,50672	0,05845	0,18050	0,76105	0,4197	-2,8043
	0,2805	0,1120	0,6075	0,49206	0,03865	0,4693	0,05561	0,19384	0,75055	0,4632	-2,8121
7,5	0,1676	0,0881	0,7443	0,26001	0,04906	0,69093	0,03028	0,14502	0,8247	0,2490	-2,3941
	0,1803	0,0902	0,7295	0,28101	0,04871	0,67028	0,03984	0,15036	0,8098	0,2617	-2,3726
	0,2111	0,0936	0,6953	0,33329	0,04352	0,62319	0,04157	0,16310	0,79534	0,3153	-2,4397
	0,2239	0,1000	0,6771	0,36201	0,04231	0,59568	0,03216	0,18100	0,78684	0,3578	-2,3784
	0,2399	0,1050	0,655	0,40124	0,03674	0,56202	0,02772	0,19492	0,77736	0,4056	-2,3614
10,0	0,2242	0,0904	0,6853	0,48177	0,02333	0,49489	0,04247	0,13521	0,82232	0,4533	-3,9268
	0,2521	0,0943	0,6536	0,50303	0,02329	0,47368	0,04287	0,15368	0,80345	0,4783	-3,5290
	0,2744	0,1006	0,6249	0,52914	0,02193	0,44894	0,03756	0,16921	0,79322	0,5132	-3,3375
	0,2974	0,1058	0,5968	0,55023	0,02514	0,42463	0,03530	0,18512	0,77958	0,5392	-3,2187
	0,3229	0,1120	0,5651	0,58106	0,02510	0,39384	0,03108	0,21116	0,75776	0,5806	-2,9559

Fonte: Próprio autor.

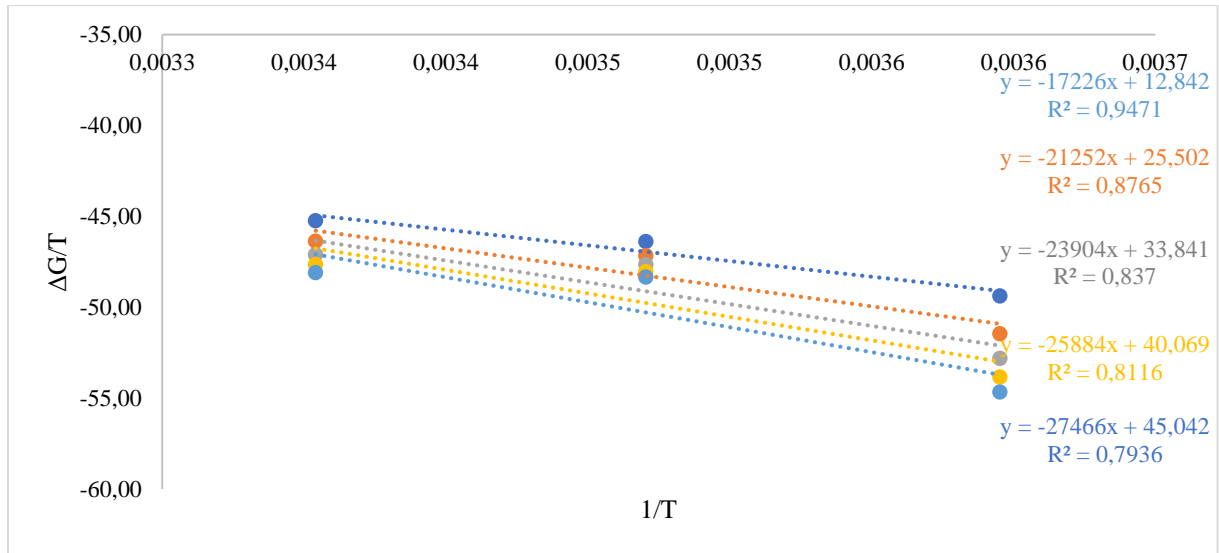
Tabela 16 - Composição das linhas de amarração para os sistemas constituídos por Pluronic L64 ® + tartarato de sódio + água em diferentes pHs.

pH	Pontos de Mistura			FRP			FRS			CLA	ILA
	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64 ®}	W _{Sal}	W _{água}		
5,0	0,1991	0,1041	0,6967	0,31459	0,06419	0,62122	0,05127	0,15527	0,79346	0,2786	-2,8911
	0,2281	0,1025	0,6694	0,36993	0,05433	0,57574	0,04942	0,16923	0,78135	0,3405	-2,7894
	0,2430	0,1088	0,6482	0,41123	0,05139	0,53738	0,04633	0,17614	0,77753	0,3856	-2,9251
	0,2607	0,1096	0,6297	0,45583	0,04435	0,49982	0,04640	0,18119	0,77241	0,4317	-2,9920
	0,2834	0,1123	0,6043	0,49583	0,04035	0,46382	0,04640	0,19119	0,76241	0,4741	-2,9795
7,5	0,1697	0,1006	0,7298	0,34176	0,04426	0,61398	0,04713	0,14094	0,81192	0,3101	-3,0472
	0,2027	0,1037	0,6936	0,41394	0,03476	0,55130	0,04033	0,15666	0,80302	0,3930	-3,0650
	0,2000	0,1146	0,6853	0,45671	0,03056	0,51273	0,04311	0,16602	0,79088	0,4352	-3,0534
	0,2200	0,1184	0,6616	0,50127	0,02646	0,47227	0,04480	0,1756	0,77960	0,4802	-3,0607
	0,2405	0,1246	0,6348	0,55124	0,02217	0,42659	0,04256	0,18992	0,76752	0,5356	-3,0323
10,0	0,2660	0,0953	0,6386	0,43129	0,02687	0,54184	0,02694	0,19022	0,78284	0,4361	-2,4754
	0,2831	0,0993	0,6176	0,47701	0,02503	0,49796	0,03012	0,20328	0,7666	0,4811	-2,5071
	0,3000	0,1110	0,5890	0,52047	0,02158	0,45795	0,02231	0,22623	0,75146	0,5386	-2,4342
	0,3207	0,1216	0,5577	0,55106	0,02184	0,42710	0,02020	0,26038	0,71943	0,5820	-2,2255
	0,3387	0,1307	0,5306	0,57000	0,02009	0,40991	0,02185	0,28011	0,69804	0,6067	-2,1081

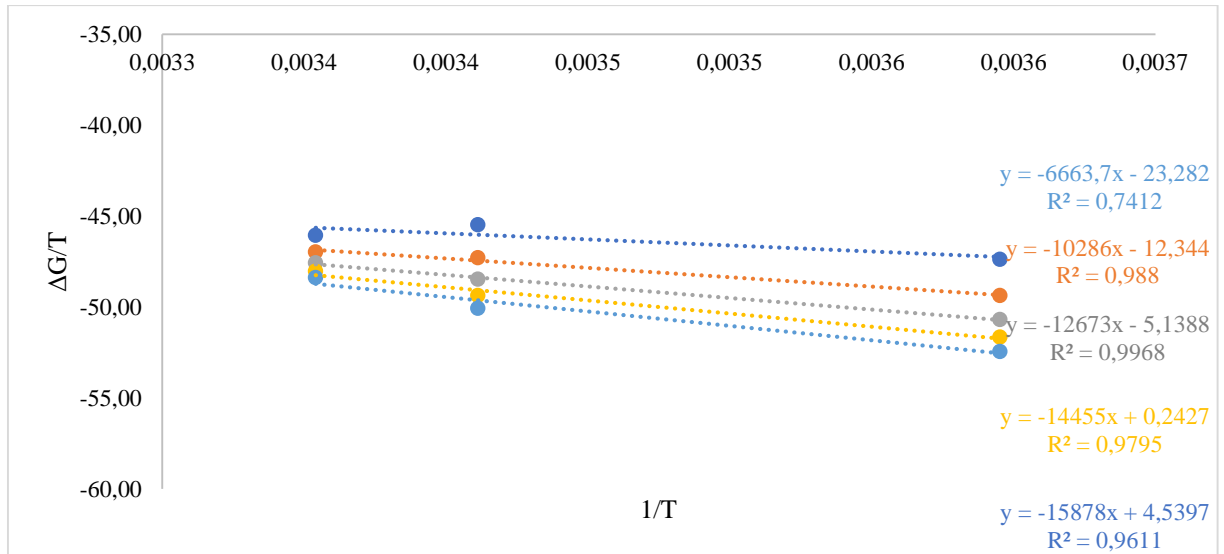
Fonte: Próprio autor.

APÊNDICE C – AJUSTES UTILIZADOS PARA CÁLCULO DA ENTALPIA

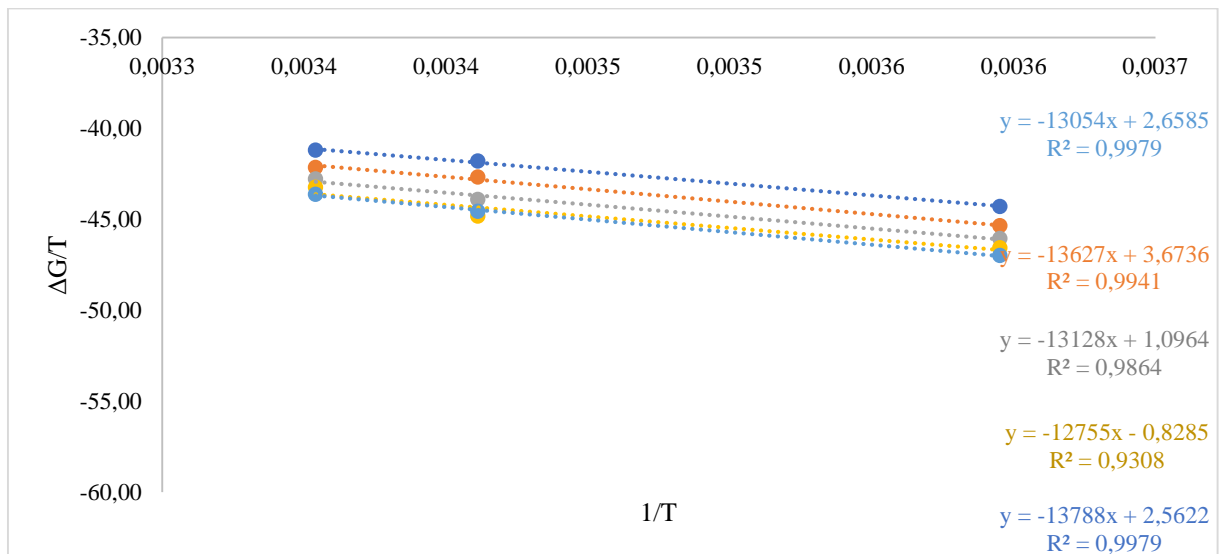
- Sulfato de sódio



- Citrato de sódio



- Tartarato de sódio



ANEXO I – DADOS RETIRADOS DO TRABALHO DE RODRIGUES *et al* (2009)

Tabela 17 – Dados retirados do trabalho de Rodrigues *et al* (2009) para sulfato de sódio

Temperatura [K]	Ponto de Mistura			FRP			FRS		
	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}
278	0,2319	0,0547	0,7134	0,3511	0,015	0,6339	0,0075	0,1309	0,8616
	0,2646	0,0578	0,6776	0,4068	0,0122	0,581	0,0107	0,1383	0,851
	0,2972	0,0603	0,6425	0,4591	0,0098	0,5311	0,0045	0,1546	0,8409
	0,3315	0,0634	0,6051	0,4992	0,0089	0,4919	0,0084	0,1687	0,8229
	0,3594	0,0662	0,5744	0,5207	0,0078	0,4715	0,0068	0,1875	0,8057
	0,1995	0,0517	0,7488	0,295	0,0331	0,6719	0,0002	0,0897	0,9101
288	0,2329	0,0545	0,7126	0,3832	0,0222	0,5946	0,0001	0,1062	0,8937
	0,2642	0,0575	0,6783	0,4407	0,017	0,5423	0,0001	0,1176	0,8823
	0,2978	0,0606	0,6416	0,4899	0,0133	0,4968	0,0002	0,1336	0,8662
	0,3299	0,0633	0,6068	0,5226	0,0107	0,4667	0,0001	0,1501	0,8498
	0,1995	0,0517	0,7488	0,295	0,0331	0,6719	0,0002	0,0897	0,9101
	0,1997	0,0519	0,7484	0,3431	0,031	0,6259	0,0121	0,0858	0,9021
298	0,2214	0,0539	0,7247	0,4173	0,0223	0,5604	0,0055	0,096	0,8985
	0,2429	0,057	0,7001	0,4749	0,0176	0,5075	0,0047	0,1046	0,8907
	0,2659	0,0598	0,6743	0,4983	0,0133	0,4884	0,0055	0,1137	0,8808
	0,2848	0,063	0,6522	0,5412	0,0119	0,4469	0,0037	0,125	0,8713
	0,1997	0,0519	0,7484	0,3431	0,031	0,6259	0,0121	0,0858	0,9021
	0,2319	0,0547	0,7134	0,3511	0,015	0,6339	0,0075	0,1309	0,8616

Fonte: Rodrigues *et al* (2009).

ANEXO II – DADOS RETIRADOS DO TRABALHO DE ANDRADE *et al* (2011)

Tabela 18 - Dados retirados do trabalho de Andrade et al (2011) para citrato de sódio

Temperatura [K]	Ponto de Mistura			FRP			FRS		
	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}
278	0,2219	0,0721	0,706	0,3352	0,0281	0,6367	0,0137	0,1538	0,8325
	0,2265	0,0851	0,6884	0,3795	0,0228	0,5977	0,0076	0,1765	0,8159
	0,2556	0,0909	0,6535	0,4439	0,0179	0,5382	0,0122	0,1881	0,7997
	0,2816	0,0923	0,6261	0,4714	0,0155	0,5131	0,0107	0,1982	0,7911
	0,1132	0,0881	0,7987	0,3739	0,0343	0,5918	0,0153	0,1065	0,8782
298	0,1484	0,0895	0,7621	0,4301	0,028	0,5419	0,0137	0,1171	0,8692
	0,2372	0,074	0,6888	0,4484	0,0333	0,5183	0,003	0,136	0,861
	0,2755	0,0754	0,6491	0,5158	0,0246	0,4596	0,0015	0,1553	0,8432
	0,3091	0,0788	0,6121	0,5632	0,0188	0,418	0,003	0,1659	0,8311
	0,2219	0,0721	0,706	0,3352	0,0281	0,6367	0,0137	0,1538	0,8325

Fonte: Andrade *et al* (2011).

Tabela 19 - Dados retirados do trabalho de Andrade et al (2011) para tartarato de sódio

Temperatura [K]	Ponto de Mistura			FRP			FRS		
	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}	W _{Pluronic L64} ®	W _{Sal}	W _{água}
278	0,2103	0,082	0,7077	0,3295	0,035	0,6355	0,0018	0,1753	0,8229
	0,2273	0,0841	0,6886	0,3578	0,0333	0,6089	0,0017	0,1824	0,8159
	0,2613	0,0819	0,6568	0,3932	0,0295	0,5773	0,0045	0,1927	0,8028
	0,2896	0,0868	0,6236	0,4272	0,0262	0,5466	0,0016	0,2112	0,7872
	0,2302	0,0721	0,6977	0,3222	0,0546	0,6232	0,0333	0,1094	0,8573
298	0,2486	0,0743	0,6771	0,3917	0,0458	0,5625	0,0247	0,1197	0,8556
	0,2641	0,0759	0,66	0,4299	0,0398	0,5303	0,0261	0,1284	0,8455
	0,2797	0,0795	0,6408	0,4922	0,0321	0,4757	0,0303	0,1328	0,8369
	0,2952	0,0808	0,624	0,5149	0,0288	0,4563	0,0331	0,1388	0,8281
	0,2103	0,082	0,7077	0,3295	0,035	0,6355	0,0018	0,1753	0,8229

Fonte: Andrade *et al* (2011).