

JOÃO PAULO MARTINS

**DIAGRAMAS DE SISTEMAS TERNÁRIOS FORMADOS POR POLÍMERO OU
COPOLÍMERO TRIBLOCO, SAL E ÁGUA, E PARTIÇÃO DE PROTEÍNAS DO
SORO DO LEITE**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

--

JOÃO PAULO MARTINS

DIAGRAMAS DE SISTEMAS TERNÁRIOS FORMADOS POR POLÍMERO OU COPOLÍMERO TRIBLOCO, SAL E ÁGUA, E PARTIÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 5 de maio de 2010.

Prof^a. Honória de Fátima Gorgulho

**Prof^a. Maria do Carmo Hespanhol
da Silva
(Coorientadora)**

**Prof. Álvaro Vianna Novaes de
Carvalho Teixeira**

**Prof^a. Jane Sélia dos Reis Coimbra
(Coorientadora)**

**Prof. Luis Henrique Mendes da Silva
(Orientador)**

Este trabalho é dedicado a minha esposa, Vera, minha mãe, Marta, exemplos vivos de amor, carinho, luta e honestidade.

“Não temerás nem o terror da noite, nem a flecha que voa em pleno dia, nem a peste que ronda na sombra, nem o flagelo que devasta ao meio-dia. Se tombarem mil a teu lado e dez mil a tua direita, não serás atingido. Basta abrires os olhos e verás que recompensa recebem os infiéis”

Salmo 91, 5-8.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que se fez presente em todos os momentos de minha vida e me deu forças para superar todos os obstáculos.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realizar toda a minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Ao Professor Luis Henrique pela amizade, pela constante e incansável ajuda ao longo da minha formação. Você é um exemplo de dignidade e sabedoria. Abraços sinceros de seu amigo João Paulo. Saiba que estas palavras não são de despedida, mas de início de uma nova jornada. Mais uma vez muito obrigado! Minhas vitórias também são suas!

Ao ilustre Professor e amigo Edilton pela amizade, apoio e companheirismo ao longo de toda a minha trajetória acadêmica. Muito obrigado!

À Professora e amiga Maria do Carmo pelas conversas, críticas, apoio experimental e principalmente por sua sinceridade e disposição. Abraços e muito obrigado.

À Professora e amiga Jane pela confiança depositada, incentivo e pela amizade. Muito obrigado por tudo! Você é um grande exemplo de força e boa vontade!

Aos Professores que aceitaram o convite para participar desta defesa. Muito Obrigado.

Aos meus queridos irmãos, Santiago e Aline, que me incentivaram e me apoiaram em todos os momentos! Às vezes vocês precisam de uns tapas! Um grande abraço! Eu amo vocês dois!

Ao meu pai, in memoriam, que iria ficar orgulhoso e sairia pela mutuca a fora, de bermudinha e barriga de fora, dizendo que o filho é Doutor! Que Deus

tenha dado a você um bom lugar. Um grande abraço! Seu filho consegue andar com as próprias pernas! Te amo!

Às minhas avós “Nita” e “Lena” e meu avô “Bejo” um grande abraço e que Deus dê vida longa a vocês!

Ao Vicente, “Tio Uin”! Pela ajuda incondicional! O mundo seria melhor com mais pessoas como você! Um grande abraço!

Às minhas Tias Débora, Raquel, Ana e Cristina que sempre torceram por mim.

Ao meu sogro Divino, ilustre servidor da UFV, pelos peixes concedidos e amizade ao longo deste trabalho...heheheh. Um grande abraço “vino”.

À minha sogra Ana pelo incentivo e amizade! Você é uma sogra nota 10!

Ao “Pépinha” (Marcelo, meu cunhado mala) pela amizade e apoio! Um grande abraço!

Ao Jarbas pela amizade e testes tipo “Show do milhão” para verificar minha capacidade intelectual (lembra quando eu estava namorando a Vera?!).

Ao Paulo pela animação e apoio! Cuidado! Ele mexe com Banco! Esse povo de Banco é perigoso como diz meu vô!

Às minhas cunhadas (preparem-se para a lista!): Renata, Nadir, Lurdinha e Cida pelos bons momentos.

Aos meus Sobrinhos (por ordem alfabética, para não dar briga): Arthur, David, Diego e Nicolai pelas farras constantes em minha casa regados a doces, refrigerantes, bolas e partidas memoráveis de video game!

À todos os membros do grupo QUIVECOM. Que a força esteja com vocês!

À todos que contribuíram para que este sonho se realizasse fica aqui o meu eterno agradecimento! Muito Obrigado!

BIOGRAFIA

João Paulo Martins, filho de Pedro Messias Martins e Marta Angélico Martins, nasceu em 08 de Julho de 1982, na cidade de Elói Mendes, Minas Gerais.

Em abril de 2001, ingressou no curso de Química da Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se com o título de Licenciatura e Bacharelado em maio de 2006.

Em março de 2004 começou a fazer iniciação científica com o Professor Luis Henrique na área de Físico-Química.

Foi Monitor de Físico-Química nas disciplinas QUI-150 e QUI-151 durante dois anos.

Em 2006 ingressou no Programa de Pós - graduação em Agroquímica, em nível de Mestrado, na área de Físico-Química.

Em 2006 começou a lecionar na Universidade Presidente Antônio Carlos. Deixou a função docente para se dedicar exclusivamente a pós-graduação.

Em 2007 foi aprovado em 2º Lugar para Professor Substituto do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa.

Em 2007 foi aprovado em 2º Lugar no Programa de Pós – graduação em Agroquímica, em nível de Doutorado, na área de Físico-Química.

Em 2008 tornou-se mestre em Físico-Química pela UFV.

Em 2009 passou em 1º Lugar para o cargo de Professor Efetivo do Instituto Federal Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais.

Atualmente é professor do IFNMG – Campus Arinos.

Até a presente data publicou oito artigos científicos em revistas internacionais.

Na presente data submete-se a defesa de Tese para obtenção do Título *Doctor Scientiae* na área de Físico-Química.

SUMÁRIO

	SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	ix
	ÍNDICE DE FIGURAS	xii
	ÍNDICE DE TABELAS	xv
	RESUMO	xviii
	ABSTRACT	xx
1	CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	1
1.1	INTRODUÇÃO	1
1.2	BREVE HISTÓRICO SOBRE SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS	2
1.3	INTERPRETAÇÃO DO DIAGRAMA DE FASE	4
1.4	TERMODINÂMICA DE SEPARAÇÃO DE FASES E EQUILÍBRIO ENTRE FASES	8
1.5	ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS DE POLÍMEROS E COPOLÍMEROS	12
1.6	TERMODINÂMICA DE FORMAÇÃO DE MICELAS DE COPOLÍMEROS	19
1.7	EFEITO HIDROFÓBICO	22
1.8	TERMODINÂMICA DE SOLUÇÕES POLIMÉRICAS - TEORIA DE FLORY-HUGGINS	26
1.9	TEORIA DE HAYNES PARA PARTIÇÃO DE SOLUTOS	33
1.10	O MODELO DO PSEUDO-POLICÁTION	36
1.11	PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE: α - LACTOALBUMINA E β - LACTOGLOBULINA	39
1.11.1	α - LACTOALBUMINA	40
1.11.2	β - LACTOGLOBULINA	43
1.11.3	PARTIÇÃO DE α - LACTOALBUMINA E β - LACTOGLOBULINA EM SAB	44
1.12	SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS DO TIPO MACROMOLÉCULA + SAL + ÁGUA	46
1.13	DIAGRAMAS DE FASES: MODIFICAÇÕES DA REGIÃO BIFÁSICA	50
1.13.1	EFEITO DA TEMPERATURA	50
1.13.2	MASSA MOLAR DO POLÍMERO	51
1.13.3	EFEITO DO ELETRÓLITO FORMADOR DO SAB	52

1.13.4	EFEITO DO TIPO DE MACROMOLÉCULA	53
2	CAPÍTULO 2: OBJETIVO, MATERIAIS E METODOLOGIAS	55
2.1	OBJETIVO	55
2.2	MATERIAIS E REAGENTES	56
2.3	METODOLOGIA	57
2.3.1	TITULAÇÃO TURBIDIMÉTRICA	57
2.3.2	QUANTIFICAÇÃO DAS FASES	60
2.3.3	EXPERIMENTOS DE PARTIÇÃO DAS PROTEÍNAS	65
3	CAPÍTULO 3: DIAGRAMAS DE FASE DO TIPO PEO 400 OU 6000 + SAL + ÁGUA	68
3.1	COMPOSIÇÕES DAS FASES	68
3.2	EFEITO DA TEMPERATURA	76
3.3	EFEITO DA MASSA MOLAR DO POLÍMERO	80
3.4	EFEITO DO SAL FORMADOR DO SISTEMA	83
3.5	CONCLUSÃO DO CAPÍTULO	86
4	CAPÍTULO 4: DIAGRAMAS DE FASE DO TIPO COPOLÍMERO F68 OU L35 + SAL + ÁGUA	87
4.1	COMPOSIÇÕES DAS FASES	87
4.2	EFEITO DA TEMPERATURA	97
4.3	EFEITO DA MASSA MOLAR E DA HIDROFOBICIDADE	101
4.4	EFEITO DO SAL FORMADOR DO SISTEMA	104
4.5	CONCLUSÃO DO CAPÍTULO	108
5	CAPÍTULO 5: PARTIÇÃO DE PROTEÍNAS DOSORO DO LEITE EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS	110
5.1	COMPORTAMENTO GERAL DE PARTIÇÃO	110
5.2	EFEITO DO ELETRÓLITO E MASSA MOLAR DO POLÍMERO	113
5.3	CONCLUSÃO DO CAPÍTULO	122

6	CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO GERAL E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123
6.1	CONCLUSÃO GERAL	123
6.2	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	125
7	APÊNDICE	133

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Φ_i^{FS} e Φ_i^{FI} – Fração Volumétrica do componente “i” na fase superior e inferior, respectivamente

SAB – Sistema Aquoso Bifásico

G – Energia Livre de Gibbs

μ_i – Potencial químico da espécie “i”

T – Temperatura

R – Constante universal dos gases

P – Pressão

V – Volume

n – Quantidade de substância

α -la – α -lactoalbumina

β -lg – β -lactoglobulina

C_{pol}^{FS} e C_{pol}^{FI} – Composição de polímero na fase superior e inferior, respectivamente

C_{sal}^{FS} e C_{sal}^{FI} – Composição de sal na fase superior e inferior, respectivamente

C.M.C. – Concentração Micelar Crítica

T.M.C. – Temperatura Micelar Crítica

G – Composição Global

CLA – Comprimento da Linha de Amarração

ELL – Extração Líquido-Líquido

EO – Unidade monomérica de óxido de etileno

PO – Unidade monomérica de óxido de propileno

FS e FI – Fase Superior e Inferior, respectivamente

ILA – Inclinação da linha de amarração

K– Coeficiente de Partição de um dado componente no SAB

LA – Linha de Amarração

LB – Linha Binodal

MM – Massa Molar de um dado Componente “i”

MH – Moléculas Hidrofóbicas

MHP – Moléculas Hidrofóbicas Pequenas

n^{FS} e n^{FI} – Número de espécies químicas na fase superior e inferior, respectivamente

PEO – Polímero Poli(óxido e etileno)

PPO – Polímero Poli(óxido de propileno)

PPG – Poli(Propileno glicol)

PEG – Poli(etileno glicol)

V^{FS} e V^{FI} – Volume da fase superior e inferior, respectivamente

W_{is} – Par Potencial estabelecido entre os componentes “i” e “S”

Z – Número de Pares Potenciais estabelecidos pelo componente “i” ou “S” com o meio

$\Delta_{tr}G^{\circ}$ – Variação da Energia Livre de Gibbs de transferência

$\Delta_{mic}G^{\circ}$ – Variação da Energia Livre de Gibbs de Micelização

$\Delta_{mix}G^{\circ}$ – Variação da Energia Livre de Gibbs de Mistura

$\Delta_{tr}H^{\circ}$ – Variação de Entalpia de transferência

$\Delta_{mix}H^{\circ}$ – Variação de Entalpia de Mistura

$\Delta_{tr}S^{\circ}$ – Variação de Entropia de transferência

$\Delta_{mix}S^{\circ}$ – Variação de Entropia de Mistura

In – Logaritmo Neperiano

UV/VIS – Ultravioleta e visível

χ - Parâmetro de Flory-Huggins

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1	Representação esquemática de um diagrama de fases retangular.	5
Figura 2	Representação do processo de obtenção de uma solução polimérica.	8
Figura 3	Representação da fórmula molecular da macromolécula de PEO com n unidades de grupos EO.	13
Figura 4	Representação da fórmula molecular da macromolécula de PPO com n unidades de grupos PO.	14
Figura 5	As diferentes arquiteturas moleculares dos copolímeros.	15
Figura 6	Fórmulas moleculares dos copolímeros diblocos e triblocos.	16
Figura 7	Representação esquemática das estruturas de agregação formadas por copolímeros blocos em solução: a) copolímero unímero; b) micela esférica em um solvente seletivo para o bloco da extremidade; c) micela esférica em um solvente seletivo para o bloco mediano; d) formação de rede em solvente seletivo para o bloco mediano; e) formação hexagonal; f) formação lamelar.	18
Figura 8	Gráfico de correlação entre valor experimental (eixo x) e o calculado pela equação 2 (eixo y).	21
Figura 9	Modelo tridimensional em que cada esfera ocupa um cubículo (sítio).	26
Figura 10	Entalpia de solução diferencial dos sais de sulfato de sódio (■), sulfato de lítio (○) e cloreto de sódio (◇) numa solução de 7,82% (m/m) de PEO 3350.	37
Figura 11	Macromolécula carregada positivamente como sugere o modelo.	39
Figura 12	Sequência dos aminoácidos da estrutura primária da α -lactoalbumina.	41
Figura 13	Modelo tridimensional da α -lactoalbumina	42

Figura 14	Sequência dos aminoácidos da estrutura primária da β -lactoglobulina.	43
Figura 15	Modelo de fita tridimensional da β -lactoglobulina	44
Figura 16	Efeito da temperatura sobre a região bifásica.	50
Figura 17	Efeito da massa molar. (símbolo vazio): F68; (símbolo cheio): L35	51
Figura 18	Efeito do cátion sobre a região bifásica.	52

CAPÍTULO 2

Figura 1	Curva típica obtida por titulação turbidimétrica	58
Figura 2	Utilização da spinodal para obtenção de pontos globais bifásicos.	59

CAPÍTULO 3

Figura 1	Relação Linear entre o CLA x Sal x Polímero a 298,2 K.	75
Figura 2	Efeito da temperatura sobre a região bifásica.	78
Figura 3	Efeito da massa molar nos sistemas de PEG 400 e PEG 6000 na presença do sal de sulfato de sódio a 298,2 K.	81
Figura 4	Efeito da massa molar nos sistemas de PEG 400 e PEG 6000 na presença do sal de sulfato de sódio a 298,2 K.	81
Figura 5	Efeito do cátion sobre a região bifásica para os sistemas de PEO 6000 + sal a 298,2K. (■): Li_2SO_4 , (●): Na_2SO_4 , (▼): MgSO_4 , (▲): ZnSO_4 .	83
Figura 6	Efeito do cátion sobre a região bifásica para os sistemas de PEO 400 + sal a 298,2K. (●): Na_2SO_4 , (▼): MgSO_4 .	84

CAPÍTULO 4

Figura 1	Representação do enlace das cadeias poliméricas no processo de formação de géis.	98
Figura 2	Efeito da temperatura sobre a região bifásica e alinha de amarração para sistemas formados por F68 + sais de sulfato. (▲): 298,2K; (●): 278,2K.	99
Figura 3	Efeito da temperatura sobre a região bifásica e alinha de amarração para sistemas formados por L35 + sais de sódio. (▲): 313,2K; (●): 283,2K.	100
Figura 4	Efeito da massa molar e do tipo de macromolécula sobre a	102

região bifásica. Comparação com sistemas do tipo F68 ou L35 + citrato ou tartarato; PEO 2000 ou L35 + nitrato a 298,2K.

Figura 5	Efeito da massa molar e do tipo de macromolécula sobre a região bifásica. Comparação com sistemas F68 ou L35 + sais de sulfato a 298,2K.	103
Figura 6	Efeito do ânion sobre a região bifásica. (▲): Citrato; (■): Tartarato; (▼): Nitrato a 298,2K.	105
Figura 7	Estruturas dos ânions citrato e tartarato.	107
Figura 8	Efeito do ânion sobre a região bifásica. (●): Sódio; (▼): Tartarato; (▲): Amônia; (■): Lítio a 298,2K.	107

CAPÍTULO 5

Figura 1	Comportamento de partição das proteínas α -Lactoalbumina e β -Lactoglobulina em sistemas de PEO 6000 a 298,2K.	110
Figura 2	Comportamento de partição das proteínas α -Lactoalbumina e β -Lactoglobulina em sistemas de PEO 1500 a 298,2K.	111
Figura 3	Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da α -Lactoalbumina em sistemas de PEO 1500 + sais de sulfato.	113
Figura 4	Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da β -Lactoglobulina em sistemas de PEO 1500 + sais de sulfato.	114
Figura 5	Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da α -Lactoalbumina em sistemas de PEO 6000 + sais de sulfato.	114
Figura 6	Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da β -Lactoglobulina em sistemas de PEO 6000 + sais de sulfato.	115
Figura 7	Variação de energia livre de transferência das proteínas em PEO 1500 + sulfatos.	117
Figura 8	Variação de energia livre de transferência das proteínas em PEO 6000 + sulfatos.	117
Figura 9	Efeito da massa molar sobre a partição da α -Lactoalbumina.	119
Figura 10	Efeito da massa molar sobre a partição da β -Lactoglobulina.	120

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1	Diversos copolímeros com suas respectivas CMC a 298,2K.	19
Tabela 2	$\Delta_{mic}G$ de copolímeros a 298,2K.	20
Tabela 3	Hidrofobicidade dos compostos em relação ao grupo PO.	25
Tabela 4	Fração de algumas proteínas do soro do leite.	40
Tabela 5	Pares de componentes (PEO ou PPO + sal) formadores de SAB.	47
Tabela 6	SAB formados por copolímero + sal.	49

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Composições globais para os sistemas formados por PEG 400 + sulfato de sódio.	61
Tabela 2	Composições globais para os sistemas formados por PEG 400 + sulfato de magnésio.	61
Tabela 3	Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de lítio.	62
Tabela 4	Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de sódio.	62
Tabela 5	Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de magnésio.	62
Tabela 6	Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de zinco.	63
Tabela 7	Composições globais para os sistemas formados por L35 + Citrato de sódio.	63
Tabela 8	Composições globais para os sistemas formados por L35 + Tartarato de sódio.	63
Tabela 9	Composições globais para os sistemas formados por L35 + Nitrato de sódio.	64
Tabela 10	Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de sódio.	64

Tabela 11	Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de zinco.	64
Tabela 12	Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de amônia.	65
Tabela 13	Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de lítio.	65
Tabela 14	Composições globais para a partição de proteínas em sistemas formados por PEO 1500 + sais de sulfato a 298,2 K.	67
Tabela 15	Composições globais para a partição de proteínas em sistemas formados por PEO 6000 + sais de sulfato a 298,2 K.	67

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 400 (w_{PEG}) + Sulfato de sódio (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 298.2 a 318.2 K.	69
Tabela 2	Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 400 (w_{PEG}) + Sulfato de magnésio (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 298.2 a 318.2 K.	70
Tabela 3	Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de lítio (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	71
Tabela 4	Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de sódio (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	72
Tabela 5	Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de magnésio (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	73
Tabela 6	Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de zinco (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	74
Tabela 7	Equações obtidas por regressão para cada sistema a 298,2 K.	76

Tabela 8	Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de PEG 400 + Na ₂ SO ₄ ou MgSO ₄ .	77
Tabela 9	Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de PEG 6000 + Li ₂ SO ₄ , Na ₂ SO ₄ , ZnSO ₄ ou MgSO ₄ .	79
CAPÍTULO 4		
Tabela 1	Dados de equilíbrio para os sistemas de L35 (w _{L35}) + Citrato de sódio (w _S) + água (w _W) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	88
Tabela 2	Dados de equilíbrio para os sistemas de L35 (w _{L35}) + tartarato de sódio (w _S) + água (w _W) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	89
Tabela 3	Dados de equilíbrio para os sistemas de L35 (w _{L35}) + Nitrato de sódio (w _S) + água (w _W) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	90
Tabela 4	Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w _{F68}) + Sulfato de sódio (w _S) + água (w _W) nas temperaturas de 278,2 a 298,2 K.	91
Tabela 5	Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w _{F68}) + Sulfato de zinco (w _S) + água (w _W) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	92
Tabela 6	Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w _{F68}) + Sulfato de amônia (w _S) + água (w _W) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	93
Tabela 7	Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w _{F68}) + Sulfato de lítio (w _S) + água (w _W) nas temperaturas de 283.2 a 313.2 K.	94
Tabela 8	Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de L35 + sais de sódio	95
Tabela 9	Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de F68 + Li ₂ SO ₄ , Na ₂ SO ₄ , ZnSO ₄ ou (NH ₄) ₂ SO ₄ .	96

RESUMO

MARTINS, João Paulo, Dr.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Maio de 2010.

Diagramas de sistemas ternários formados por polímero ou copolímero tribloco, sal e água, e partição de proteínas do soro do leite. Orientador: Luis Henrique Mendes da Silva. Coorientadores: Maria do Carmo Hespanhol da Silva e Jane Sélia dos Reis Coimbra.

Diagramas de fase de sistemas aquosos bifásicos formados por polímero ou copolímero + sal (orgânico ou inorgânico) + água foram determinados em várias temperaturas. SAB compostos por Poli (etileno Glicol) 400 g.mol⁻¹ + sulfato de sódio ou magnésio foram obtidos nas temperaturas de 298,2, 308,2 e 318,2K. Os sistemas formados por Poli (etileno Glicol) 6000 g.mol⁻¹ + sulfato de sódio, lítio, zinco ou magnésio foram concebidos nas temperaturas de 283,2, 298,2 e 313,2K. Não houve efeito da temperatura sobre a região bifásica o que indica pequena contribuição entálpica no processo de separação de fases. A preferência na separação de fase para os sistemas formados PEO 6000 foram: ZnSO₄>MgSO₄>Na₂SO₄>Li₂SO₄. A mesma ordem foi observada os sistemas formados por PEO 400 (MgSO₄>Na₂SO₄). Os sistemas formados por copolímeros foram determinados usando-se F68 ou L35. Os SAB formados por F68 + sulfatos de sódio, lítio, zinco e amônia foram construídos nas temperaturas de 278,2, 288,2 e 298,2K. A preferência em induzir a separação de fase segue a seguinte ordem: Na₂SO₄ > ZnSO₄ > (NH₄)₂SO₄ > Li₂SO₄. O copolímero tribloco L35 foi usado para construir diagramas formados por L35 + Citrato de sódio, Tartarato de sódio ou nitrato de sódio nas temperaturas de 283,2, 298,2 e 313,2K. Foi notada uma diferença na capacidade de induzir a separação de fase segundo a ordem: Citrato > Tartarato > Nitrato. O aumento da temperatura promove o aumento da inclinação da linha de amarração indicando que há transferências de moléculas de água da fase superior para inferior.

Os coeficientes de partição para a α -lactoalbumina e β -lactoglobulina foram investigados em função da natureza do eletrólito (efeito do cátion), comprimento da linha de amarração e massa molecular do polímero. Os sistemas usados na partição destas proteínas foram: PEO 6000 + MgSO₄, PEO 6000 + Na₂SO₄, PEO 6000 + Li₂SO₄ e PEO 1500 + MgSO₄, PEO 1500 +

Na_2SO_4 , PEO 1500 + Li_2SO_4 na temperatura de 298,2K. A α -lactoalbumina apresentou coeficientes de partição superiores a β -lactoglobulina em todos os sistemas estudados. Uma forte dependência da natureza do eletrólito foi observada. O coeficiente de partição para ambas as proteínas nos sistemas formados por PEO 1500 segue a ordem: $\text{Li}_2\text{SO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4$. Para os sistemas formados por PEO 6000 a ordem encontrada para CLA maiores foi: $\text{Li}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$. O aumento da massa molar promoveu o decréscimo do coeficiente de partição da α -lactoalbumina, com exceção do sal de magnésio. Não houve efeito pronunciado da massa molar do polímero para a partição da β -lactoglobulina, com exceção do sal de magnésio.

ABSTRACT

MARTINS, João Paulo, Dr.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May 2010.

Ternary Diagrams formed by polymer or triblock copolymer + salt + water and partition of whey milk protein. Adviser: Luis Henrique Mendes da Silva. Co-Advisers: Maria do Carmo Hespanhol da Silva and Jane Sélia dos Reis Coimbra.

Phase diagrams of aqueous two phase system formed by polymer or copolymer + salt (organic or inorganic) + water were determined in various temperatures. Aqueous two phase systems composed by Poly(ethylene glycol) 400 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ + sodium sulfate or magnesium sulfate were determined at (298.2, 308.2 and 318.2)K. The systems formed by poly(ethylene glycol) 6000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ + lithium sulfate, sodium sulfate, magnesium sulfate or zinc sulfate were determined at (283.2, 298.2 and 313.2) K. The temperature effect on the binodal position was not significant, indicating a small enthalpic contribution associating to the phase segregation. The ability of three salts in inducing the formation of the biphasic system with PEO 6000 or PEO 400 ($\text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$) the followed the order $\text{ZnSO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{Li}_2\text{SO}_4$. An increase of molecular weight causes an increase of biphasic area. The systems formed by copolymer were determined using a F68 or L35 triblock copolymer. The aqueous two-phase systems composed by triblock copolymer, F68 ($8460 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) + sodium sulfate, lithium sulfate, zinc sulfate or ammonium sulfate were determined at (278.2, 288.2 and 298.2) K. The ability of these four salts in inducing the formation of the ATPS with F68 follows the order: sodium sulfate > zinc sulfate > ammonium sulfate > lithium sulfate. The triblock copolymer L35 was used to build phase diagrams composed by L35 ($1900 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) + sodium tartarate, sodium citrate or sodium nitrate at (283.2, 298.2 and 313.2) K. The ability of three salts in inducing the formation of the biphasic system with L35 follows the order sodium citrate > sodium tartarate > sodium nitrate. The temperature effect on the position of the binodal curves was not relevant, indicating a small enthalpic contribution associating to the phase separation. However, an increase of temperature causes an increase of slope of tie line indicating water transference to the top phase from bottom phase.

The partitioning coefficients for α -lactoalbumin and β -lactoglobulin were investigated as a function of electrolyte nature (cation effect), tie line length (TLL) and molar mass of polymer. The systems used for the partitioning study were: PEO 6000 + MgSO_4 , Na_2SO_4 or Li_2SO_4 and PEO 1500 + MgSO_4 , Na_2SO_4 or Li_2SO_4 at 298,2K. The α -lactoalbumin has larger partition coefficients as compared with the β -lactoglobulin in all ATPS studied. A strong dependence of the electrolyte nature (cation effect) was observed. The partitioning coefficient for both proteins in the system formed by PEG 1500 follows the order: $\text{Li}_2\text{SO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4$. For the systems formed by PEO 6000 the order, with an increase of TLL, for both proteins were: $\text{Li}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$. An increase of molecular weight of polymer causes a decrease of partition coefficient of α -lactoalbumin, excepted for the magnesium salt. Don't was observed a significant effect of molecular weight for the β -lactoglobulin, excepted for the magnesium salt.

CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1- INTRODUÇÃO

Na última década, as agências de proteção ambiental, em nível mundial, têm proposto a criação de leis ambientais muito rígidas, que visam diminuir drasticamente produtos nocivos ao homem e ao meio ambiente [1]. Esta nova tendência tem impulsionado as pesquisas a buscar novas metodologias capazes de produzir menores quantidades de resíduos em acordo com os princípios da química verde [2].

Dentre as várias técnicas aplicadas no tratamento de resíduos a extração líquido-líquido permite o uso de vários tipos de solventes e agentes de extração, que do ponto de vista prático permite a aplicação para purificar, pré-concentrar e separar inúmeros solutos com fins científicos ou econômicos. Todavia, o uso desta técnica clássica tem apresentado vários problemas de ordem ambiental e saúde, pois empregam solventes orgânicos que são extremamente tóxicos, cancerígenos e inflamáveis [3].

Neste contexto os sistemas aquosos bifásicos (SAB's) surgem como uma ferramenta alternativa para substituir métodos que utilizam a extração líquido-líquido clássicos. Os SAB's possuem uma grande vantagem por serem constituídos em sua grande parte por água, sendo que os demais constituintes formadores (polímeros e sais) possuem baixa toxicidade e não são inflamáveis, o que torna esse sistema de extração ambientalmente seguro. Além disso, seus constituintes são comercialmente acessíveis e de baixo custo [4]. Tais sistemas têm um enorme potencial para extração e separação de proteínas, moléculas orgânicas e íons

metálicos, entretanto, a compreensão dos mecanismos de formação de SAB e dos processos de partição ainda representa um grande desafio, por isso há uma necessidade constante de mapear quais as combinações de polímeros e sais são capazes de induzir o processo de separação de fases e particionar diversos tipos de solutos. Uma das principais limitações encontradas nestes sistemas estava associada à separação de solutos hidrofóbicos, porém a química de macromoléculas tem criado diferentes espécies de polímeros capazes de criar ambientes micelares possibilitando a eliminação destes problemas, todavia as pesquisas em busca de novos diagramas com copolímeros ainda é bastante escassa [5].

Este presente trabalho tem como objetivo construir novos diagramas de fases com vários tipos de polímeros e sais e utilizar parte destes diagramas para partição de proteínas do soro de leite (α -lactoalbumina e β -lactoglobulina) possibilitando a criação de novas formas de aproveitamento de parte deste subproduto.

1.2- BREVE HISTÓRICO SOBRE SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS

Sistemas Aquosos bifásicos (SAB) podem ser obtidos pela combinação de dois polímeros hidrossolúveis que se diferem quimicamente em suas estruturas, pela mistura de um polímero e um sal (orgânico ou inorgânico), pelo simples aquecimento de uma solução contendo um polímero e mais recentemente pela mistura de líquidos iônicos e sais inorgânicos [6-9]. A formação de um sistema bifásico não depende exclusivamente das combinações citadas anteriormente, pois

é necessário que o sistema esteja em determinadas condições termodinâmicas específicas de temperatura, pressão e composição, e outro fato é que nem todos os pares de polímero-polímero, polímero-sal e sal-sal são capazes de provocar o surgimento de mais uma fase [10-11].

A descoberta dos SAB ocorreu em 1896, quando Beijerinck observou que a mistura de soluções aquosas de agar + gelatina ou amido solúvel + gelatina, em certas faixas de concentração e temperatura, resultava na formação de um sistema totalmente turvo e que ao permanecer em repouso separava em duas fases com propriedades termodinâmicas intensivas distintas, sendo que a fase mais densa era enriquecida em agar ou amido e a fase de menor densidade se apresentava com elevados teores de gelatina [12,13].

Estudos realizados por Ostwald e Hertel, na década de 20, revelaram que amidos provenientes de distintas origens geravam diagramas de fases com características diferenciadas em relação aos diagramas encontrados por Beijerinck [14,15]. Este estudo foi de suma importância, pois mostrou que era possível obter SAB com polímeros diferentes do que foram utilizados inicialmente.

Um estudo sistemático realizado por Dobry e Boyer-Kawenoki, na década de 40, mostrou que o processo de separação de fases poderia ser obtido pela combinação de vários tipos de polímeros quimicamente distintos. Os pesquisadores mostraram que dos 35 pares de polímeros testados apenas 4 pares não separavam em duas fases distintas [16,17].

Entretanto, o pesquisador Per Åke Albertsson, na década de 50, mostrou que os SAB é um ferramenta promissora para separação/purificação de materiais de origem biológica. As pesquisas de Albertsson introduziram no meio científico novos

sistemas tais como os SAB formados por PEO+Dextrana+água e PEO+Fosfato de potássio+água. A partir dos trabalhos de Albertsson houve um número crescente de pesquisas cujo propósito era obter novos SAB e utilização destes sistemas para purificação de materiais como proteínas, aminoácidos, anticorpos, células [18-22].

Na década de 80, Spivakov utilizou os sistemas bifásicos para purificação de íons metálicos, sendo considerado como o pioneiro neste tipo aplicação [23].

Nos anos subseqüentes, os SAB foram utilizados para extrair vários materiais como, nanopartículas, complexos inorgânicos e purificar ou pré-concentrar compostos hidrofóbicos, que era considerado como uma limitação do uso da técnica, porém graças aos novos sistemas com ambientes formados por estruturas auto-organizadas denominadas de micelas esta limitação foi superada [24-26].

Atualmente, com legislações ambientais cada vez mais rígidas, as pesquisas para obter novos SAB têm ganhado destaque devido a necessidade de criação de metodologias ambientalmente segura. Além das questões ambientais, os SAB tem-se mostrado como uma ferramenta de alta performance, pois as propriedades termodinâmicas de cada SAB é muito particular e isso propícia selecionarmos um SAB adequado para cada soluto [27].

1.3- INTERPRETAÇÃO DO DIAGRAMA DE FASE

A representação gráfica das composições de cada uma das fases dos SAB geralmente é expressa pelo diagrama de fase, podendo ser triangular ou retangular. Abaixo é mostrado um diagrama do tipo retangular figura 1.

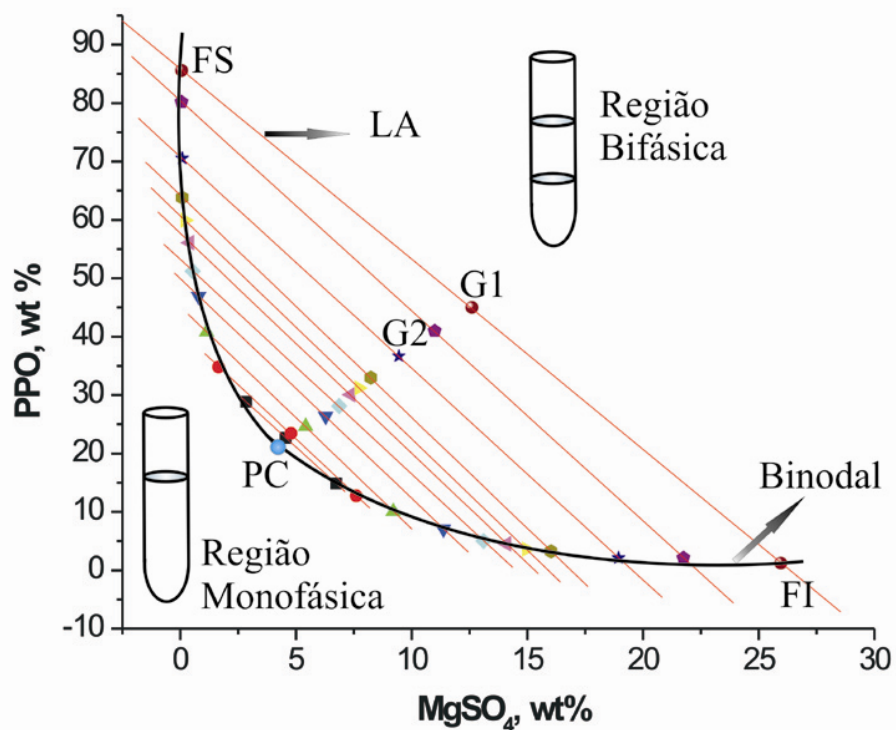


Figura 1: Representação esquemática de um diagrama de fases retangular.

Os diagramas de fase podem ser expressos por diversas unidades, porém é comum expressá-lo em percentuais mássicos (%m/m, wt%). Os eixos cartesianos denotam as composições de polímero e sal, sendo comum, para os SAB formados por polímero+sal+água, reservar o eixo das abscissas para discriminar o conteúdo de sal e o eixo das coordenadas é utilizado para discriminar a concentração de polímero. Como se pode observar pela figura 1 há um comportamento clássico de total exclusão entre o polímero e o sal, em que o sal se concentra, quase totalmente, na fase inferior enquanto o polímero tende a se concentrar na fase superior. Interessantemente, este mesmo comportamento de exclusão entre os componentes do sistema é observado nos sistemas formados por polímero-polímero

e sal-sal. O diagrama pode ser dividido basicamente em duas regiões, sendo que a região situada acima da linha binodal fornece sistemas bifásicos e abaixo da mesma o sistema se mantém unifásico. A posição da binodal no diagrama modifica com vários fatores, dentre eles a massa molar do polímero, temperatura, tipo de polímero e espécie eletrolítica [28]. A binodal descreve os pontos de máxima composição que um sistema permanece unifásico e representam a composição das fases superiores e inferiores de uma determinada linha de amarração (LA). A linha de amarração está limitada pelo ponto FS, que expressa a composição da fase superior e pelo ponto FI, que representa a composição da fase inferior. O ponto G1 expressa uma dada composição global do sistema da linha de amarração limitada por FS e FI. O ponto G2 pertence à outra linha de amarração que possui FS e FI com composições diferentes das discutidas anteriormente. Uma mesma linha de amarração pode ter N valores de composições globais, entretanto, ao obtermos sistemas cuja composição global esteja localizada na região central da linha de amarração, obter-se-á sistemas com volumes de fases idênticas, sendo assim a escolha de uma dada composição poderá fazer com que o sistema obtenha mais fase rica em polímero, para o caso em que a composição global tenha uma concentração polimérica maior que aquela obtida pelo ponto médio da linha de amarração, ou uma maior quantidade de fase rica em eletrólitos, para o caso em que a composição polimérica seja menor que o valor médio da linha de amarração.

O tamanho ou comprimento desta linha de amarração é um parâmetro termodinâmico importante, pois ela representa o quão distintas são as propriedades termodinâmicas intensivas das fases do sistema e este comprimento pode ser calculado pela equação 1:

$$CLA = \sqrt{(C_P^S - C_P^I)^2 + (C_S^S - C_S^I)^2}$$

(eq.1).

em que, C_P^S e C_P^I são as concentrações de polímero na fase superior e inferior, respectivamente, enquanto C_S^S e C_S^I são as concentrações do sal na fase superior e inferior, respectivamente. À medida que o valor do CLA aumenta, torna-se maior a diferença de composição entre as fases.

A análise de vários diagramas de fase reportados pela literatura revela que as linhas de amarração são paralelas entre si, porém trabalhos do nosso grupo utilizando copolímeros e PEOs têm mostrado que este paralelismo entre as linhas de amarração não é uma regra para SAB's como propõe Zaslavsky [29]. A inclinação da Linha de amarração (ILA) pode ser facilmente calculada pela equação 2:

$$ILA = \left(\frac{\delta P}{\delta S} \right)$$

(eq.2).

Em que $(\delta P/\delta S)$ expressa a taxa de variação do percentual mássico do polímero em relação à variação do percentual mássico de sal.

Outra relação importante no diagrama de fases é o ponto crítico (PC). Neste ponto não é possível distinguir uma fase da outra, pois as fases detêm propriedades termodinâmicas idênticas. O ponto crítico também se caracteriza por expressar um estado termodinâmico de alta instabilidade e este fato faz com que as propriedades termodinâmicas descritas por ele sofram drasticamente o efeito das flutuações. Este

fato é compreensível, uma vez que a média de uma propriedade termodinâmica qualquer terá a mesma magnitude dos desvios da média.

1.4- TERMODINÂMICA DE SEPARAÇÃO DE FASES E EQUILÍBRIO ENTRE FASES

Um processo de mistura de um sistema de dois ou mais componentes, a pressão e temperatura constantes, é expresso pela variação de energia livre de Gibbs de mistura $\Delta_{\text{mis}}G$. Para que qualquer processo de mistura ocorra espontaneamente o valor de $\Delta_{\text{mis}}G < 0$ [29,30]. Consideremos um processo de solubilização de uma macromolécula em água (figura 2):

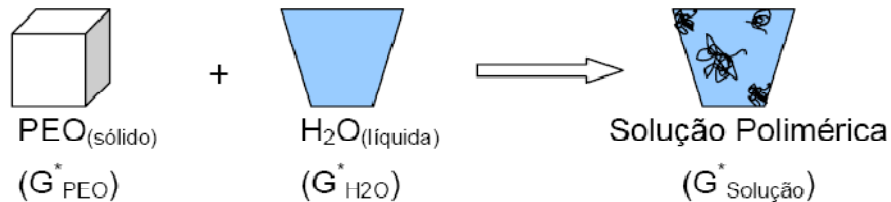


Figura 2: Representação do processo de obtenção de uma solução polimérica.

A formação de uma solução polimérica é dada, de maneira simplificada, pelos seguintes eventos:

1. Quebra das interações polímero-polímero no estado sólido;
2. Abertura de cavidade entre as moléculas de água para alocar a macromolécula, conseqüentemente quebra das interações água-água;

3. Colisões entre as macromoléculas e moléculas de água, sendo que desta forma cria-se novas interações intermoleculares;

4. Mudança da conformação da cadeia macromolecular.

Todo este processo ocorre com a diminuição da energia livre de Gibbs de mistura, porém à medida que se adiciona mais macromoléculas ao meio o $\Delta_{\text{mis}}G$ começa a ficar cada vez menos negativa até que no momento em que adição de mais uma macromolécula tornaria o $\Delta_{\text{mis}}G > 0$. Entretanto, o sistema se separa em duas para minimizar a energia livre do sistema.

A formação da fase é caracterizada pela turvação do sistema e depois de certo tempo o sistema entra em equilíbrio, que em geral, do ponto de vista experimental, ocorre quando as fases estão totalmente límpidas e volumes bem definidos. O tempo de equilíbrio é característico para cada SAB. A obtenção do estado de equilíbrio implica que a energia livre do sistema atinja um valor mínimo, ou seja, variação de energia livre igual a zero. Como a distribuição dos componentes formadores do sistema é efetuada a pressão e temperatura constante, a energia livre de Gibbs do sistema dependerá unicamente da composição das fases. A formulação termodinâmica para o equilíbrio entre fases é mostrada nas equações de 3-15 [31].

$$G = G(T, P, n_a, n_b, \dots, n_z) \quad (\text{eq. 3}).$$

Onde G é energia livre, T é a temperatura, P é a pressão e n_a, n_b, \dots, n_z correspondem as diferentes quantidades de substâncias de cada espécie.

A diferencial total da equação 3 fornece:

$$dG = \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_{P,n_a,n_b,\dots,n_z} dT + \left(\frac{\partial G}{\partial P}\right)_{T,n_a,n_b,\dots,n_z} dP + \left(\frac{\partial G}{\partial n_a}\right)_{T,P,n_b,\dots,n_z} dn_a + \left(\frac{\partial G}{\partial n_b}\right)_{T,P,n_a,\dots,n_z} dn_b + \dots + \left(\frac{\partial G}{\partial n_z}\right)_{T,P,n_a,\dots,n_b} dn_z \quad (\text{eq. 4}).$$

Rearranjando a equação 4, tem-se:

$$dG = -SdT + VdP + \sum_{i=1}^{\infty} \mu_i dn_i \quad (\text{eq. 5}).$$

Como a pressão e a temperatura em que ocorre o processo de separação de fases são constantes, o primeiro e o segundo termo da equação serão iguais a zero e a equação 5 se transforma:

$$dG = \sum_{i=1}^{\infty} \mu_i dn_i \quad (\text{eq. 6}).$$

A equação 6 mostra, de maneira simplificada, a dependência da energia livre com a composição do sistema. A equação 6 pode ser rearranjada para um sistema com uma maior quantidade de fases (equação 7).

$$G = \sum_{\delta=1}^{\gamma} \sum_{i=1}^{\beta} n_i^{(\delta)} \mu_i^{(\delta)} \quad (\text{eq. 7}).$$

Deve-se lembrar que número de componentes e a quantidade de substância são constantes nas fases (equação 8).

$$\sum_{\delta=1}^{\varphi} n_i^{(\delta)} = n_i = \text{constante} \quad (i = 1,2,3, \dots, \beta) \quad (\text{eq. 8}).$$

Diferenciando a equação 7, obtém-se:

$$dG = \sum_{\delta=1}^{\varphi} \sum_{i=1}^{\beta} \mu_i^{(\delta)} dn_i^{(\delta)} + \sum_{\delta=1}^{\varphi} \sum_{i=1}^{\beta} n_i^{(\delta)} d\mu_i^{(\delta)} \quad (\text{eq. 9}).$$

Substituindo a relação de Gibbs-Duhem (eq. 10)

$$\sum_{i=1}^{\beta} n_i^{(\delta)} d\mu_i^{(\delta)} = 0 \quad (\text{eq. 10}).$$

da equação 9 tem-se:

$$dG = \sum_{\delta=1}^{\varphi} \sum_{i=1}^{\beta} \mu_i^{(\delta)} dn_i^{(\delta)} = \sum_{\delta=1}^{\varphi-1} \sum_{i=1}^{\beta} \mu_i^{(\delta)} dn_i^{(\delta)} + \sum_{i=1}^{\beta} \mu_i^{(\varphi)} dn_i^{(\varphi)} \quad (\text{eq. 11}).$$

Diferenciando a equação 8, obtém-se:

$$\sum_{\delta=1}^{\varphi} dn_i^{(\delta)} = 0 \quad \text{ou} \quad dn_i^{(\varphi)} = -\sum_{\delta=1}^{\varphi-1} dn_i^{(\delta)} \quad (\text{eq. 12}).$$

Substituindo a equação 12 na equação 11 e lembrando que na condição de equilíbrio $dG = 0$, tem-se:

$$dG = \sum_{\delta=1}^{\varphi-1} \sum_{i=1}^{\beta} [\mu_i^{(\delta)} - \mu_i^{(\varphi)}] dn_i^{(\delta)} = 0 \quad (\text{eq. 13}).$$

Da equação 13 chega-se a relação 14:

$$\mu_i^{(\delta)} = \mu_i^{(\varphi)} \quad (i = 1, 2, \dots, \beta \text{ e } \delta = 1, 2, \dots, \varphi - 1) \quad (\text{eq.14}).$$

A equação 14 atesta que o potencial químico de um dado componente será igual em todas as fases no equilíbrio termodinâmico. Para um sistema bifásico (Fase Superior (FS), Fase inferior (FI) e Interface (IT)) formado por polímero (P), sal (S) e água (w) a equação 14 implica que o equilíbrio só será alcançado no momento em que o potencial de cada um dos compostos for igual em cada uma das fases (equação 15):

$$\left\{ \begin{array}{l} \mu_P^{(FS)} = \mu_P^{(IT)} = \mu_P^{(FI)} \\ \mu_S^{(FS)} = \mu_S^{(IT)} = \mu_S^{(FI)} \\ \mu_w^{(FS)} = \mu_w^{(IT)} = \mu_w^{(FI)} \end{array} \right\} \quad (\text{eq.15}).$$

Quando o sistema atinge o equilíbrio termodinâmico há uma implicação teórico-experimental de que o sistema tenha atingido o equilíbrio térmico (troca de energia térmica entre o reservatório e o SAB), equilíbrio mecânico (não há variação do volume das fases), equilíbrio de transferência de matéria (o fluxo de matéria entre as fases permanece constante – implica que a composição dos componentes são constantes na fase), equilíbrio químico (a transformação de um composto químico em outro atinge uma taxa constante – implica que composição não se altera no sistema). A termodinâmica explicita que um sistema em equilíbrio não sofre nenhuma alteração em suas propriedades termodinâmicas (extensivas ou intensivas) quando este é isolado. Caso ocorra alguma variação de suas propriedades termodinâmicas é uma indicação de que sistema estava num pseudo-equilíbrio termodinâmico. Entretanto, o isolamento total (sem fluxo de energia e matéria entre a vizinhança e o sistema) de um sistema, infelizmente, não é possível do ponto de vista prático. Somente com o SAB em equilíbrio termodinâmico é possível mensurar a propriedades extensivas e intensivas do sistema e fazer comparações entre sistemas distintos em relação a efeitos de tipo de macromolécula, massa molar, temperatura, eletrólito e outros que se julgarem relevantes e necessários.

1.5- ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS DE POLÍMEROS E COPOLÍMEROS

O polímero denominado poli(óxido) de etileno (PEO) ou polietileno glicol (PEG) é um dos polímeros mais utilizados em aplicações industriais como a produção de embalagens, vernizes e tintas, sendo que este é obtido pela

polimerização do óxido de etileno (EO) através de iniciadores básicos, ácidos ou de metais (Li, Na, Mg) [32]. Este polímero está disponível no mercado em diversas massas molares que podem ultrapassar 1×10^6 g/mol. Apesar de sua hidrofiliidade, o PEO é usado para facilitar a solubilização de drogas lipofílicas em formulações farmacêuticas [33]. Este polímero é o mais explorado para separação de biomoléculas e íons metálicos SAB, pois possui baixo custo em relação aos outros polímeros e são atóxicos mantendo-se dentro dos princípios da química verde [34]. A cadeia polimérica (figura 3) é formada por grupos EO e grupos terminais de hidrogênio ($R_2 = H$) e hidroxila ($R_1 = OH$).

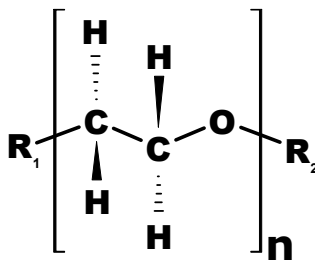


Figura 3: Representação da fórmula molecular da macromolécula de PEO com n unidades de grupos EO.

O polímero Poli(óxido) de propileno (PPO) ou Polipropileno glicol (PPG) apresenta características similares ao PEO. Todavia, o PPO tem menor solubilidade quando comparadas ao PEG. Esta diferente solubilidade está diretamente associada ao grupo $-CH_3$ presente na estrutura do PPO, que caracteriza uma maior hidrofobicidade do PPO frente ao PEO de mesma massa molecular. Interessantemente, a elevação da temperatura provoca um aumento substancial da hidrofobicidade de ambos os polímeros [35,36]. O polímero (figura 4) é formado pelos grupos de óxido de propileno (PO) e grupos terminais de hidrogênio ($R_2 = H$) e hidroxila ($R_1 = OH$).

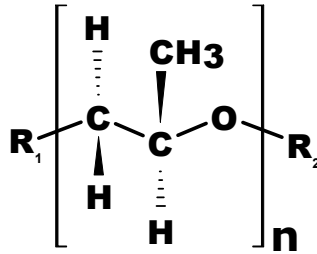


Figura 4: Representação da fórmula molecular da macromolécula de PPO com n unidades de grupos PO.

A classe de compostos denominados de copolímeros são macromoléculas formadas a partir da repetição de duas ou mais unidades monoméricas ao longo da cadeia polimérica [37]. A arquitetura molecular de um copolímero pode ser do tipo randômica, blocos, enxertado e estrela. A configuração do tipo randômica (figura 5a) exibe a característica em que os diferentes tipos de monômeros estão dispostos de maneira aleatória na molécula. Os copolímeros do tipo bloco (figura 5b) podem ser descrito em termos da união de blocos de diferentes monômeros. As macromoléculas do tipo enxertado (figura 5c) exibem ramificações de modo que a cadeia principal tenha um monômero diferente da ramificação. A macromolécula do tipo estrela (figura 5d) possui um formato similar a uma estrela, sendo que base da estrela formada por um monômero diferente dos “braços” [38].



aleatório
figura 5a



Bloco (di, tri)
figura 5b



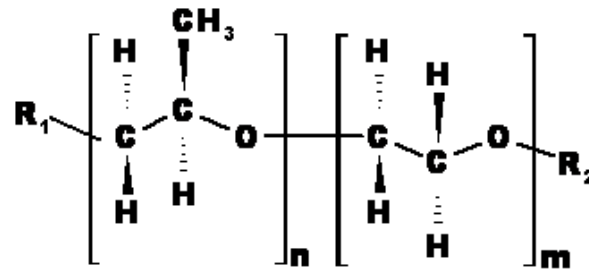
Enxertado (*graft*)
figura 5c



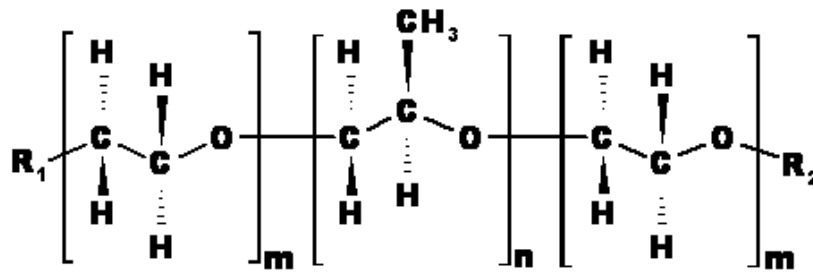
Estrela - *star*
figura 5d

Figura 5: As diferentes arquiteturas moleculares dos copolímeros.

Apesar de existirem inúmeras espécies de copolímeros os mais utilizados são os do tipo bloco. Estes copolímeros podem ser do dibloco ou tribloco (figura 6). Os copolímeros mais utilizados são aqueles em que os blocos são formados por grupos EOs e POs.



Copolímero Dibloco



Copolímero tribloco

Figura 6: Fórmulas moleculares dos copolímeros diblocos e triblocos.

Os copolímeros blocos são referidos comercialmente como Poloxamers, Pluronic (BASF) ou Synperonics (ICI) [37]. Estas macromoléculas são de baixo custo (quando comparadas a polímeros do tipo dextrana), biocompatíveis e exibem diferentes comportamentos em soluções devido aos diferentes balanços de EO/PO o que confere diferentes balanços hidrofílico-lipofílicos a macromolécula [39]. O mercado dispõe de várias massas moleculares que partem 1000 a 15000 g/mol e balanços EO/PO que variam de 10% a 80% em massa de grupos EOs.

A nomeação destes copolímeros é expressa por letras e números. Em geral a letra é utilizada para descrever o estado físico nas CNTP, sendo que a letra L se refere a líquidos, P e F para pasta e flocos, respectivamente. O primeiro número

indica a massa molar do bloco PO de modo que cada unidade do primeiro algarismo da nomenclatura é dada como um grupo de cinco unidades PO. O último algarismo indica a fração em massa do bloco EO que no caso deve-se multiplicar por 10 o último número para se obter a fração mássica de grupos EO. Para exemplificar, tomemos os copolímeros utilizados no presente trabalho. O L35 é um líquido com aproximadamente 928g/mol de PO e com 50% m/m de EO. Todavia, o F68 se apresenta na forma flocos com 1740g/mol de PO e 80% m/m de bloco EO.

Como dito anteriormente, os copolímeros exibem diversos comportamentos em solução devido aos diferentes balanços EO/PO. A característica mais marcante dos copolímeros blocos é a capacidade de se organizarem, em certas faixas de concentração e temperatura, em solução formando estruturas denominadas micelas [40,41]. As micelas dos copolímeros triblocos do tipo EO-PO-EO são estruturas altamente organizadas de modo que o núcleo destas é muito hidrofóbico, grupo PO, enquanto a parte externa, grupo EO, é mais hidrofílica [42].

Em geral a arquitetura das micelas pode variar quanto à forma e ao tamanho (figura 7). As técnicas utilizadas para determinação da morfologia destes agregados são, principalmente, aquelas que se baseiam no princípio de espalhamento de radiação como o SAXS, SANS e espalhamentos de luz. Esta técnica permitiu determinar que a estrutura de copolímeros do tipo EO-PO-EO seria esférica, com cerca de 15 a 60 macromoléculas por agregados e com raio entre 6 a 12 nm [43].

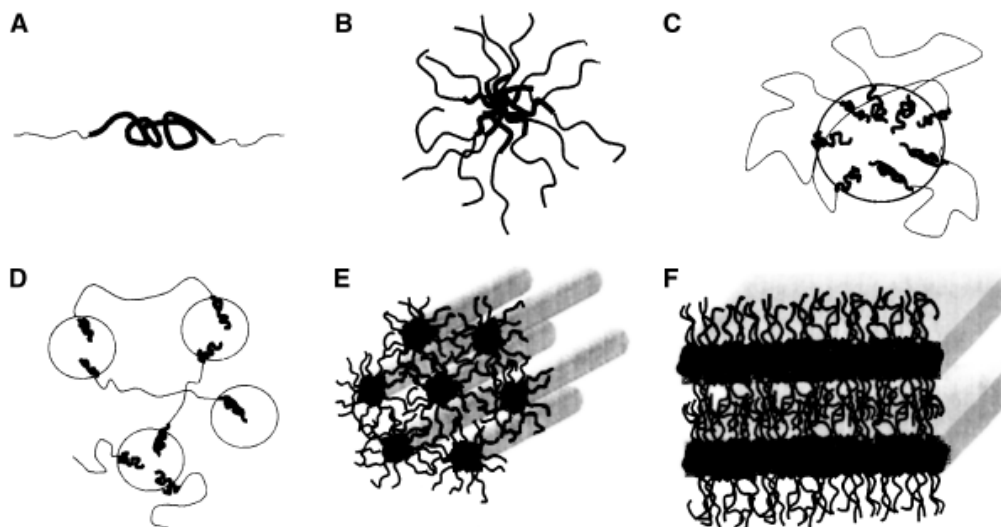


Figura 7: Representação esquemática das estruturas de agregação formadas por copolímeros blocos em solução: a) copolímero unímero; b) micela esférica em um solvente seletivo para o bloco da extremidade; c) micela esférica em um solvente seletivo para o bloco mediano; d) formação de rede em solvente seletivo para o bloco mediano; e) formação hexagonal; f) formação lamelar.

A concentração em que há formação de micelas é denominada concentração micelar crítica (C. M. C.) e a temperatura em que há formação espontânea de micelas é nomeada como Temperatura Micelar Crítica (T. M. C.). Pode-se obter a CMC de um determinado copolímero através de várias técnicas como medidas de tensão interfacial, solubilização de corantes hidrofóbicos, RMN, calorimetria, etc. [37,44,45]. A CMC de vários copolímeros pode ser vista na tabela 1.

Vale destacar as CMC dos copolímeros L35 e F68, que são $1,3 \times 10^{-2}$ e $1,4 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, respectivamente. Em SAB os polímeros se encontram em concentrações superiores aos da CMC e isto possibilita a aplicação de sistemas auto-organizados para extração, purificação e pré concentração de compostos de altamente hidrofóbicos

Tabela 1: Diversos copolímeros com suas respectivas CMC a 25°C. [37]

Copolímero	CMC/mol. L ⁻¹
L31	2,0 x 10 ⁻²
L35	1,3 x 10 ⁻²
F38	2,1 x 10 ⁻²
L42	7,0 x 10 ⁻³
L62	7,4 x 10 ⁻³
L64	8,8 x 10 ⁻³
F68	1,4 x 10 ⁻³
F77	2,2 x 10 ⁻²
F87	2,2 x 10 ⁻²
F88	4,6 x 10 ⁻²
F108	5,1 x 10 ⁻⁴
F127	8,0 x 10 ⁻⁴
P94	1,0 x 10 ⁻³
P103	7,4 x 10 ⁻⁴
P105	8,0 x 10 ⁻⁴

1.6- TERMODINÂMICA DE FORMAÇÃO DE MICELAS DE COPOLÍMEROS

As mudanças de energia livre associado ao processo de micelização, $\Delta_{mic}G$, é dado pela equação 16 [40]:

$$\Delta_{mic}G = RT\ln(C_{CMC}) \quad (\text{eq.16}).$$

Em que R corresponde a constante dos gases, T é a temperatura do sistema e a variável, C_{CMC} , é a concentração micelar crítica.

Baseado em valores experimentais de CMC é possível calcular $\Delta_{mic}G$ (tabela 2) [37].

Tabela 2: $\Delta_{mic}G$ de copolímeros a 25°C.

Copolímero	$\Delta_{mic}G/(kJ.mol^{-1})$
L31	-9,7
L35	-10,8
F38	-9,6
L42	-12,3
L62	-12,2
L64	-11,7
F68	-16,3
F77	-15,2
F87	-15,2
F88	-19,0
F108	-17,7
F127	-18,8
P94	-17,1
P103	-17,9
P105	-17,7

Pela tabela 2 é possível observar que o processo de formação de micelas é mais espontâneo para o copolímero F68 quando comparado L35. Isto ocorre devido aos diferentes balanços EO/PO da macromolécula. Esta relação entre o $\Delta_{mic}G$,

número de grupos EO e número de grupos PO pode ser expressa de maneira aproximada pela relação matemática:

$$\Delta_{mic}G = -7,68 - 0,0160NEO - 0,150 NPO \quad (\text{eq.17}).$$

Em que NEO é número de grupos EO e NPO se refere aos grupos PO. A relação entre os dados experimentais e os resultados obtidos através de cálculos pela equação 17 podem ser vistos na figura 8:

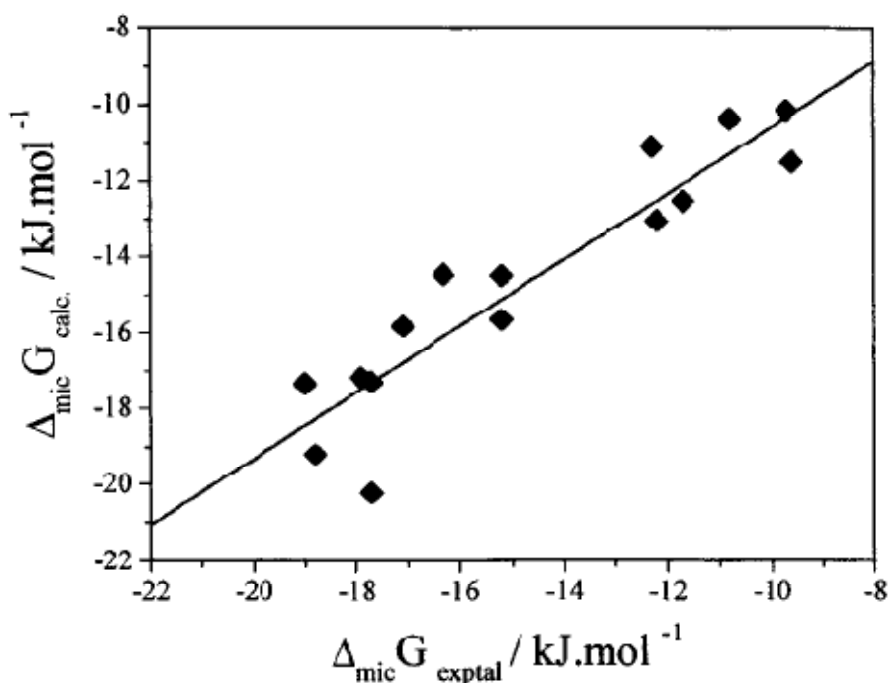


Figura 8 Gráfico de correlação entre valor experimental (eixo x) e o calculado pela equação 2 (eixo y).

A figura 8 mostra que uma boa correlação $r = 0,930$, entre os dados experimentais e calculados. Isto implica que os diferentes balanços EO/PO da macromolécula influenciam diretamente no processo de micelização.

Resultados experimentais obtidos por calorimetria diferencial de varredura e aproximação de Van't Hoff [46,47] revelam que o processo de micelização de copolímeros em meio aquoso é entropicamente dirigido, uma vez que a variação entálpica de micelização, $\Delta_{mic}H$, é maior do que zero. A consequência deste fato é que quanto maior a razão de grupo PO/EO mais espontâneo será o processo de formação de micelas, pois os grupos PO são mais hidrofóbicos que os grupos EO e este efeito se tornam mais acentuados com a elevação da temperatura.

1.7- EFEITO HIDROFÓBICO

O efeito hidrofóbico está associado à agregação espontânea de moléculas em meio aquoso [48,49,50]. As características termodinâmicas deste evento, para moléculas que desestruturam de maneira drástica o arranjo espacial de moléculas de água, são caracterizadas pela variação de entalpia de valor positivo e variação entrópica positiva, levando a uma variação de energia livre negativa [51]. Esta agregação espontânea de moléculas hidrofóbicas (MH) esta vinculada ao fato de que o sistema tentar minimizar sua energia através da redução dos pares interacionais água-MH. A redução destes pares implica em liberação de moléculas de água e conseqüente aumento da entropia configuracional. Muitas moléculas hidrofóbicas pequenas (MHP) de baixa solubilidade se agregam em meio aquoso não pela quebra de interação água-MHP, mas pelo fato das MHP se alocarem nas cavidades existentes na estrutura hexagonal da água gerando um efeito entálpico exotérmico devido às interações formadas entre MHP-MHP que são do tipo interação de Van der Waals. Os principais efeitos termodinâmicos encontrados na hidratação hidrofóbica são [51]:

- Aumento do potencial químico do soluto o que explicita baixa solubilidade;
- Forte dependência da temperatura;
- Indução de separação de fases que é dependente da temperatura e composição;
- Aumento da capacidade calorífica.

O efeito hidrofóbico tem sido considerado como a chave de vários fenômenos como a solubilização de compostos hidrofóbicos em água e vice-versa, adesão entre um composto e uma superfície hidrofóbica, modificação morfológica de líquidos em superfícies, adsorção de contaminantes hidrofóbicos em interfaces ar-água, formação de micelas e enrolamento de proteínas.

Um copolímero, definitivamente, não é uma molécula pequena ao ponto de se poder alocar nos espaços vazios da estrutura hexagonal formada pelas moléculas de água e, portanto, ao inserir uma macromolécula no meio aquoso uma cavidade deverá ser formada para alojar este soluto. As interações intermoleculares do tipo solvente-solvente e polímero-polímero são quebradas dando origem às interações soluto-solvente. A parte hidrofóbica do copolímero fará com que as moléculas do solvente formem novas estruturas ao seu redor, perdendo graus de liberdade.

Com o aumento da concentração dos copolímeros, uma maior quantidade de estruturas organizadas será gerada o que leva o sistema a uma grande perda entrópica. Ao chegar à concentração em que a energia livre de Gibbs de dissolução seria positiva, as moléculas se agregam formando estruturas auto-organizadas. Isto ocorre através da quebra das estruturas de solvatação das moléculas de água que,

conseqüentemente, ganham graus de liberdade, sendo este evento chamado de efeito hidrofóbico.

Ao mudarmos os polímeros de um sistema aquoso bifásico, novas configurações e conformações das cadeias poliméricas irão surgir, sendo que haverá diversificação das interações intermoleculares gerando ambientes com diferentes estruturas de solvatação levando a balanços hidrofóbicos/hidrofílicos específicos que variam conforme a espécie polimérica e composição do sistema. Em SAB a mudança de um polímero por outro mais hidrofóbico causa o aumento de região bifásica considerando-se que os polímeros possuam massas molares iguais.

A solubilidade de polímeros como PEO, PPG, L35, F68 sugere uma ordem hidrofóbica: PPG > L35 > F68 > PEO, de modo que o PEO possui uma maior solubilidade e como conseqüência é mais hidrofílico [5]. A literatura reporta que aumento da temperatura propicia uma maior agregação de moléculas e aumento da hidrofobicidade das fases [40].

Ao se tratar de copolímeros blocos uma importante questão surge em relação aos balanços de grupos EO/PO (diferentes balanços EO/PO promovem CMC e propriedades hidrofílica-lipofílicas diferentes, por exemplo, das fases de um SAB) no evento de agregação molecular. Um ponto interessante que surge destes balanços EO/PO é referente à contribuição dos grupos mais hidrofóbicos (PO) no processo de agregação ou separação de fases. Esta discussão é válida, pois surfactantes de baixa massa molecular o aumento de grupos EO representaria um aumento da CMC devido a elevação da solubilidade, entretanto, a contribuição de grupos EO para aumento/diminuição da CMC em copolímeros, EO-PO-EO, são irrisórias e praticamente desprezíveis. Isto possivelmente ocorre devido a um balanço entre o

aumento da solubilidade e a entropia configuracional, uma vez que à medida que se aumenta a cadeia polimérica o número de conformações do polímero aumenta e como consequência diminui-se a entropia de mistura [37].

Uma investigação recente mostra que agregação é totalmente controlada pelo bloco hidrofóbico. Avaliando-se as contribuições de diferentes blocos através da mudança da cmc causado pela adição de uma unidade hidrofóbica pode-se chegar a uma tabela de hidrofobicidade relativa (tabela 3) [43]:

Tabela 3: Hidrofobicidade dos compostos em relação ao grupo PO.

Estrutura do bloco	Hidrofobicidade relativa
$(\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2)$	1
$((\text{COOCH})\text{CH}_2)$	4
(CH_2)	5
$(\text{OCH}_2\text{CH}_2-(\text{C}_2\text{H}_5))$	6
$(\text{COO}(\text{CH}_2)_5)$	10
$(\text{CH}_2(\text{C}_6\text{H}_5))$	12

Apesar de várias teorias que visam o entendimento do efeito hidrofóbico ainda não há nenhuma que finaliza o assunto e seja capaz de prever comportamentos. Portanto, são necessários estudos que possam avaliar a extensão do efeito de solubilidade e partição de solutos em vários meios, bem como pesquisas na área de desnaturação de proteínas, agregação de compostos em diversos meios, separação de fases entre outros.

1.8- TERMODINÂMICA DE SOLUÇÕES POLIMÉRICAS - TEORIA DE FLORY-HUGGINS

A concepção entrópica de mistura, numa solução ideal, é baseada na distribuição aleatória de um soluto em um solvente obedecendo a um modelo reticular (figura 9) [30,52].

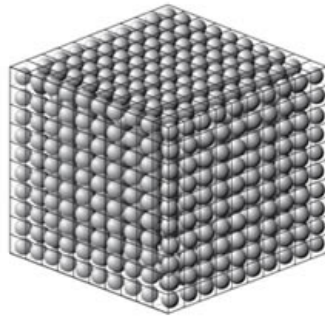


Figura 9: modelo de tridimensional em que cada esfera ocupa um cubículo (sítio).

O número de configurações possíveis (Ω) de um sistema que contenha n_0 partículas sendo n_1 partículas de soluto e n_2 partículas de solvente é dado por uma permutação com repetição, expressa pela relação matemática 18:

$$\Omega = \frac{n_0!}{n_1!n_2!} \quad (\text{eq.18}).$$

A partir da equação de Boltzmann (equação 19) é possível calcular a entropia de mistura:

$$S = k \ln \left(\frac{n_0!}{n_1!n_2!} \right) \quad (\text{eq.19}).$$

Em que S é a entropia referentes aos diferentes arranjos, k é constante de Boltzmann.

Para se chegar a uma forma em que seja possível utilizar a equação 19 é necessário a utilização da aproximação de Stirling ($\ln N! = N \ln N - N$). Aplicando a aproximação, tem-se (equação 20):

$$\Delta_{mix}S = -k(n_1 \ln X_1 + n_2 \ln X_2) \text{ (eq.20).}$$

Em que $\Delta_{mix}S$ corresponde a variação de entropia de mistura para uma solução ideal.

Este modelo clássico não pode representar uma solução polimérica, pois a macromolécula, devido ao seu tamanho não ocupa apenas um sítio e, portanto o valor de entropia de mistura para um polímero, necessariamente, será diferente. Uma forma de driblar este problema seria dividir a macromolécula em segmentos que ocupem apenas um sítio na rede tridimensional, todavia, devido aos vínculos entre os segmentos, a entropia de mistura ainda seria menor, pois há redução do número de configurações.

A teoria termodinâmica para soluções de polímeros foi desenvolvida em 1941 pelos cientistas P. J. Flory e M. L. Huggins. Um fato interessante é que estes pesquisadores não trabalhavam juntos (não tinham contato) e tiveram as mesmas idéias o que resultou em publicações iguais no mesmo ano.

O modelo de Flory-Huggins considerou que as diferentes configurações do sistema corresponderiam à entropia de mistura, porém não foram levadas em consideração as variações de entalpia e volume da solução. Consideraram que o arranjo das moléculas ou segmentos depende somente da composição, do tamanho e da forma da molécula.

A equação que expressa a variação entrópica de mistura para um sistema de macromoléculas é dada por (equação 21):

$$\Delta_{mix}S = -k(n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2) \text{ (eq.21).}$$

Em que Φ_1 e Φ_2 são, respectivamente, a fração volumétrica do polímero e do solvente; k é constante de Boltzmann. As frações volumétricas são dadas pelas equações 22 e 23:

$$\phi_1 = \frac{Pn_1}{n_2 + Pn_1} \quad (\text{eq.22}).$$

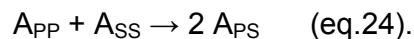
$$\phi_2 = \frac{n_2}{n_2 + Pn_1} \quad (\text{eq.23}).$$

Em que Φ_1 e Φ_2 são, respectivamente, a fração volumétrica do polímero e do solvente; P é número de segmentos da macromolécula; n_1 e n_2 são, respectivamente, o número de moléculas de polímero e solvente.

É interessante compararmos as equações 20 e 21, pois quando $P \rightarrow 1$, a equação 21 se torna idêntica a equação 20 e isso mostra os seguimentos de uma macromolécula ocupam o mesmo volume de uma molécula de solvente.

A teoria de Flory-Huggins prevê o cálculo de outras variáveis termodinâmicas importantes, como o $\Delta_{\text{mix}}U$, $\Delta_{\text{mix}}H$ e o $\Delta_{\text{mix}}G$.

O $\Delta_{\text{mix}}U$ é calculado baseado no fato de que no processo de solubilização existem pares de interação que serão rompidos e outros que serão criados. A equação abaixo representa a quebra e formação de novos pares.



Em que A_{PP} , A_{SS} e A_{PS} representam, respectivamente, os pares potenciais de interação polímero-polímero, solvente-solvente e polímero-solvente. O balanço de energia de formação de novos pares de interação é dado por:

$$\Delta A = 2 A_{PS} - (1/2)(A_{PP} + A_{SS}) \quad (\text{eq.25}).$$

Em que ΔA expressa o balanço de Energia Potencial resultante na quebra das interações intermoleculares entre as moléculas de polímero-polímero e solvente-solvente para formar um novo par potencial formado por moléculas de polímero-solvente.

Baseado no balanço energético (ΔA) da formação e quebra das interações, O $\Delta_{mix}U$ pode expresso em termos da relação matemática (equação 26):

$$\Delta_{mix}U = \Delta A \cdot P_{PS} \text{ (eq.26).}$$

Em que P_{PS} é a probabilidade de se formar pares de interação polímero-solvente. Esta P_{PS} está diretamente relacionada ao número de coordenação, as quantidades de polímero e solvente, bem como o número de sítios da rede. Logo a expressão que representa P_{PS} é dado pela equação 27:

$$P_{PS} = Z \cdot L \cdot \phi_1 \cdot \phi_2 \text{ (eq.27).}$$

Em que Z é número de coordenação do sítio do retículo, L é número total de sítios da rede ($n_2 + Pn_1$), ou seja, a soma do número de moléculas de solvente com números de segmentos da macromoléculas mutiplicado pela quantidade de macromoléculas ; ϕ_1 e ϕ_2 são, respectivamente, a fração volumétrica do polímero e do solvente. Juntando as equações 26 e 27, tem-se a equação completa que representa a $\Delta_{mix}U$ (equação 28):

$$\Delta_{mix}U = \Delta A \cdot Z \cdot L \cdot \phi_1 \cdot \phi_2 \text{ (eq.28).}$$

Assim o valor de $\Delta_{mix}U$ pode assumir valores numéricos que podem ser positivo, negativo ou nulo que dependerão dos valores encontrados para o ΔA . O sinal resultante de ΔA e conseqüentemente de $\Delta_{mix}U$ é devido aos eventos moleculares. Três possibilidades são possíveis:

1. $\Delta A < 0$: ocorre quando as interações intermoleculares (contatos) do par potencial polímero-solvente forem mais intensas do que as interações intermoleculares (contatos) entre os pares potenciais polímero-polímero e solvente-solvente nos respectivos estados puros.

2. $\Delta A > 0$: ocorre quando as interações intermoleculares (contatos) do par potencial polímero-solvente forem menos intensas do que as interações intermoleculares (contatos) entre os pares potenciais polímero-polímero e solvente-solvente nos respectivos estados puros.

3. $\Delta A = 0$: ocorre quando as interações intermoleculares (contatos) do par potencial polímero-solvente forem idênticas, formação de uma solução ideal, às interações intermoleculares (contatos) entre os pares potenciais polímero-polímero e solvente-solvente nos respectivos estados puros.

A teoria de Flory-Huggins faz a aproximação de que variação de volume final mistura seja igual a zero ($\Delta_{mix}V = 0$). Isto possibilita o calculo de uma importante relação termodinâmica, que é $\Delta_{mix}H$. A relação termodinâmica que expressa $\Delta_{mix}H$ é dada por (equação 29):

$$\Delta_{mix}H = \Delta_{mix}U + P \cdot \Delta_{mix}V \text{ (eq.29).}$$

Em que P corresponde a pressão de equilíbrio do sistema.

Como a teoria de Flory-Huggins implica que $\Delta_{mix}V = 0$, logo, pela equação 29, $\Delta_{mix}H = \Delta_{mix}U$ e conseqüentemente a equação para o $\Delta_{mix}H$, pela relação matemática 28, será (equação 13):

$$\Delta_{mix}H = \Delta A \cdot Z \cdot L \cdot \phi_1 \cdot \phi_2 \text{ (eq.30).}$$

O termo $Z \cdot \Delta A$ é o parâmetro de Flory-Huggins (χ). Este parâmetro é dado pela equação 31:

$$\chi = \frac{z(\Delta A)}{kT} \quad (\text{eq.31}).$$

Em k é a constante de Boltzmann e T é a temperatura do sistema.

Deve-se dar muita importância ao parâmetro de Flory-Huggins, pois nem todo par polímero-solvente será formado ao final da mistura. Várias técnicas são usadas para a determinação experimental deste parâmetro, como cromatografia por fase reversa, espalhamento de luz e diminuição da pressão de vapor do solvente [53-57]. O significado físico-químico deste parâmetro está associado à estabilidade de pares de interação polímero-solvente frente às colisões moleculares. Um par potencial, polímero-solvente, será estável se a energia de interação (ΔA) for maior que a energia cinética (kT). A quantidade χkT representa a diferença de energia de uma molécula de solvente imersa no polímero puro ($\Phi_1 = 1$) comparada com a situação em que essa mesma molécula está imersa no solvente puro. O parâmetro de Flory-Huggins pode dar informações a respeito das interações. Conhecer o valor de χ muitas vezes é útil quando se quer discutir estados conformacionais do polímero em solução. Em sistemas em que $\chi > 0,5$ as macromoléculas se encontram colapsadas sobre si mesmas, minimizando a interação com o solvente. Porém, quando $\chi < 0,5$, as conformações são mais expandidas devido à maior solvatação do polímero. Para valores $\chi = 0,5$ as interações polímero-polímero, polímero-solvente e solvente-solvente são muito parecidas e portanto a solução tem comportamento ideal.

A junção das equações $\Delta_{\text{mix}}H$ e $\Delta_{\text{mix}}S$ permite formular uma equação, em termos da energia livre de Gibbs de mistura, $\Delta_{\text{mix}}G$. A equação final para a $\Delta_{\text{mix}}G$ é dada por (equação 32):

$$\Delta_{\text{mix}}G = kT[\chi \cdot (n_2 + Pn_1) \cdot \phi_1 \cdot \phi_2 + n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2] \text{ (eq.32)}.$$

A equação 32 possibilita a previsão de separação de fases, bem como a solubilidade de polímeros num dado solvente, basta que se conheça o parâmetro de Flory-Huggins.

A teoria de Flory apresenta muitas restrições, como $\Delta_{\text{mix}}V = 0$, o que não ocorre na prática. Outro problema é que não há permissão de espaço sem matéria na solução (vacâncias). Estudos posteriores mostraram que o parâmetro de Flory-Huggins não é independente da temperatura e concentração do polímero. Este fato científico sugere que há interações específicas no sistema que impede a total distribuição aleatória do polímero, logo sugeriu-se que o parâmetro de Flory-Huggins tinha uma componente entrópica, que expressa a perda do grau de liberdade juntamente com a alteração na conformação do polímero após a mistura das moléculas do polímero com as do solvente, e outra entálpica que expressa o contato do par potencial segmento do polímero-solvente, ou seja, representa a energia envolvida no rompimento e formação dos pares potenciais, polímero-polímero, solvente-solvente e polímero-solvente.

Apesar de algumas limitações a teoria de Flory-Huggins é uma ferramenta que auxilia no entendimento processos de mistura de soluções de polímeros, bem com os as conseqüências críticas desta mistura e inclusive muitas teorias para partição de solutos em meios poliméricos são construídas com os subsídios teóricos desta proposta de Flory-Huggins.

1.9- TEORIA DE HAYNES PARA PARTIÇÃO DE SOLUTOS

A determinação de quais são as forças motrizes responsáveis pela partição de um determinado soluto é de fundamental importância para que se possa compreender o mecanismo de distribuição de partículas em SAB. Antes de iniciar a explanação sobre o modelo cabe aqui a definição do coeficiente de partição (K_p). O K_p é dado pela razão das atividades (a_i) do soluto nas fases superiores e inferiores, respectivamente. Nos estudos de partição é comum que o soluto esteja em concentrações muito baixas. Baseado nesta relação o coeficiente de atividade γ_i^α obedece a seguinte relação físico-química (equação 33):

$$\lim_{C \rightarrow 0^+} \gamma_i^\alpha = 1 \quad (\text{eq.33}).$$

A equação 33 implica que o coeficiente de partição seja dado por (equação 34):

$$K_p = \frac{[\text{soluto}]_i^{FS}}{[\text{soluto}]_i^{FI}} \quad (\text{eq.34}).$$

Em que $[\text{soluto}]_i^{FS}$ e $[\text{soluto}]_i^{FI}$ representam a concentração do soluto "i" na fase superior e inferior, respectivamente.

O pesquisador Haynes [58] e colaboradores desenvolveram uma teoria, baseada na obra de Flory e Huggins, que explica o comportamento de partição através de uma equação que associa a distribuição dos solutos a fatores termodinâmicos cujas forças motrizes são de origem entálpicas e/ou entrópicas. Para facilitar o entendimento a equação é dividida em contribuições: Uma entrópica e outra entálpica

A contribuição entrópica é dada pela equação (35):

$$\ln K_{\text{soluto}} = \frac{MM_{\text{soluto}}}{\rho} \left(\frac{n^S}{V^S} - \frac{n^I}{V^I} \right) \text{ (eq.35).}$$

Em que, K_{soluto} é o coeficiente de partição do soluto estudado, como por exemplo uma proteína, MM_{soluto} a massa molecular do soluto, ρ é a densidade numérica molecular global do sistema, n^S e V^S representam o número de moléculas residentes na fase superior e o volume que estas ocupam, respectivamente; n^I e V^I denotam a mesma interpretação dada aos termos anteriores, porém referentes a fase inferior do sistema.

Para que uma partição seja governada por fatores entrópicos o soluto deverá se apresentar em quantidade majoritária ($K_{\text{soluto}} < 1$) na fase em que o sistema apresentar maior número de moléculas por unidade de volume. Por exemplo, para sistemas formados por copolímero L35 + sulfato de magnésio, a fase inferior apresenta maior população de moléculas por unidade de volume quando comparada a fase superior. A equação 36, para o exemplo citado, implica que o termo $\left(\frac{n^S}{V^S} - \frac{n^I}{V^I} \right)$ tenha um valor menor que zero, gerando um coeficiente de partição do soluto menor que 1 (se $K < 1$, pode-se dizer que a natureza do fenômeno é de origem entrópica, caso as interações na fase inferior seja desfavoráveis).

A relação entálpica é dada pela equação 36:

$$\ln K = \frac{-MM_{\text{soluto}}}{RT} \left[\sum_{i=1}^3 (\phi_i^S - \phi_i^I) w_{is} - \sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (\phi_i^S \phi_j^S - \phi_i^I \phi_j^I) w_{ij} \right] \text{ (eq.36).}$$

Sendo Φ_i^S e Φ_i^I as frações volumétricas do componente “i” na fase superior e inferior, respectivamente. Enquanto que w_{ij} ou w_{iS} são os pares potenciais efetivos, dado pela equação 37:

$$w_{ij} = z \left[\varepsilon_{ij} - \frac{1}{2} (\varepsilon_{ii} - \varepsilon_{jj}) \right] \quad (\text{eq.37}).$$

Em que w_{ij} é o par efetivo entre os componentes formadores do SAB’s “i” e “j”;

w_{iS} é o par efetivo entre o componente “i” na fase superior ou inferior com o soluto;

z é o total de pares potenciais que ocorrem entre os componentes do SAB’s “i” e “j” ou com o soluto;

ε_{ij} , ε_{ii} e ε_{jj} são os pares potenciais.

A equação 36 revela dois termos que podem estar relacionados a transferência do soluto para uma das fases.

O primeiro termo, $\left[\sum_{i=1}^3 (\phi_i^S - \phi_i^I) w_{iS} \right]$, revela a energia associada à interação do soluto com todos os componentes do sistema. Ele irá se transferir para fase onde houver maior quantidade do componente que ele tem maior interação, ou seja, onde a formação do par $w_{i\text{-soluto}}$ tiver um valor mais negativo.

O segundo termo da equação, $\left[\sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (\phi_i^S \phi_j^S - \phi_i^I \phi_j^I) w_{ij} \right]$, se refere à diferença do conteúdo entálpico entre a fase superior e inferior. Este conteúdo energético tem sua origem nas interações que os componentes de cada fase

realizam entre si. Neste termo estão descartadas as interações do soluto com qualquer um dos componentes das fases.

O termo, $\sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (\phi_i^S \phi_j^S) w_{ij}$, se refere a auto-energia da fase superior. Esta

energia esta associada à capacidade de se abrir uma cavidade para alocar o soluto em uma das fases. O soluto irá se transferir para a fase que possuir maior conteúdo entálpico e no caso de SAB's formados por copolímeros + eletrólitos a fase superior possui maior entalpia, pois a maioria das suas interações intermoleculares são do tipo dipolo-dipolo e na fase inferior do tipo íon-dipolo, sendo que será mais um soluto se transferir para a fase superior devido ao fato de se gastar uma menor quantidade de energia para se abrir uma cavidade para alocar o soluto.

1.10- O MODELO DO PSEUDO-POLICÁTION

Muito modelos são utilizados para entender o processo de separação de fases em SAB, porém ainda há um longo caminho a ser percorrido até que os mecanismos moleculares que ocorrem durante o evento de segregação sejam de fato elucidados.

Apesar de não existir um consenso científico majoritário a respeito do processo de segregação o modelo proposto por da Silva e Loh, baseado em medidas calorimétricas, apresenta uma boa explicação para o processo de separação de fase, bem como as diferenças de região bifásica causadas pelos diferentes eletrólitos [59].

O estudo realizado por da Silva e Loh consistiu em mensurar a energia do durante o processo de transição de fase por titulação calorimétrica onde o sal era adicionado a uma solução contendo polímero. Esta adição seguia até que o sistema separasse em duas fases [59]. A figura 10 mostra alguns dados das curvas obtidas por este processo:

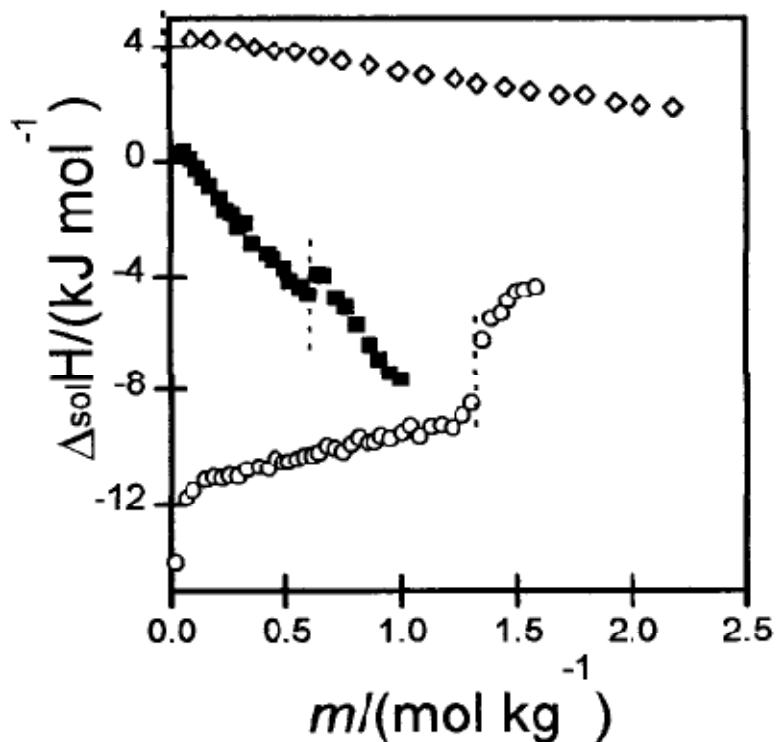


Figura 10: Entalpia de solução diferencial dos sais de sulfato de sódio (■), sulfato de lítio (○) e cloreto de sódio (◇) numa solução de 7,82% (m/m) de PEO 3350.

A análise do gráfico representado na figura 10 mostra que o processo de separação de fases, representado pela linha vertical tracejada mostra o momento em que ocorre a formação de duas fases, mostra que processo de separação de fase ocorre com o aumento entálpico. Logo, pelas equações da termodinâmica clássica, verifica-se que o processo de separação de fases em SAB formados por Polímero + Sal + água é entropicamente dirigido e que os diferentes cátions tem uma

significativa influência no processo de separação de fases que é resultado das diferentes interações com o polímero.

O modelo propõe que a mistura de soluções de PEO e eletrólitos promove a interação entre estas espécies. A molécula de PEO contém em cada monômero um átomo de oxigênio contendo pares de elétrons livres para interação com os cátions. Esta interação faz com que os cátions liberem moléculas de água que antes estavam trapeadas por eles devido às interações do tipo íon-dipolo. Estudos de dinâmica molecular revelam que os íons de sódio, lítio, magnésio e zinco possuem várias camadas de solvatação, que são respectivamente, $\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_4(\text{H}_2\text{O})_9(\text{H}_2\text{O})_5$, $\text{Li}^+(\text{H}_2\text{O})_4(\text{H}_2\text{O})_9(\text{H}_2\text{O})_5$, $\text{Mg}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_6(\text{H}_2\text{O})_{12}$ e $\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_6(\text{H}_2\text{O})_{12}$ [60]. As macromoléculas também estão solvatadas por moléculas de água as quais são libertadas neste processo de interação segmento EO-cátion. Todo este processo ocorre com ganhos de graus de liberdade das moléculas de água e promove um aumento da entropia de mistura do sistema. Vale lembrar que os cátions contribuem negativamente para entropia de mistura, pois eles estarão perdendo grau de liberdade ao interagir com a macromolécula, porém a liberação de moléculas supera em muito esta perda entrópica apresentada pelos cátions. O evento continua ocorrendo até que não haja mais ganho entrópico pelo sistema e neste momento o sistema se separa em duas fases para minimizar a energia livre de Gibbs do sistema.

Portanto, a imagem que surge deste modelo é que, a fase rica em polímero contém cátions interagindo com o polímero que geram uma densidade de carga positiva sobre a macromolécula, nomeada de pseudo-policátion (figura 11).

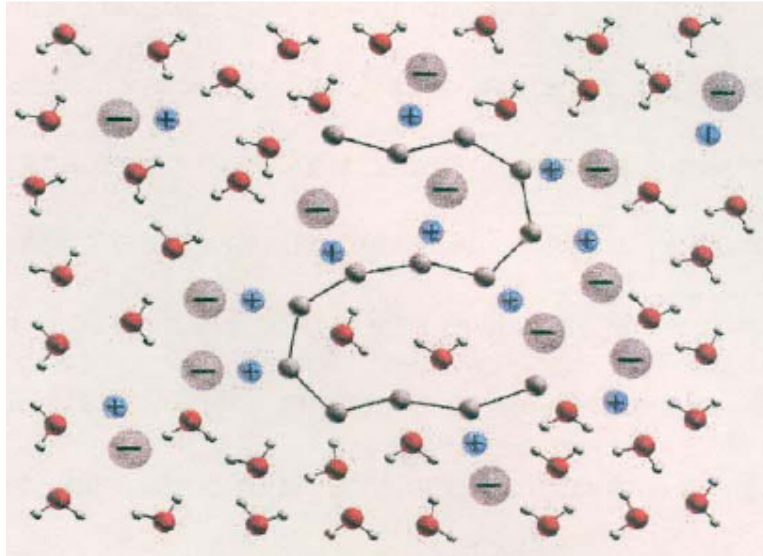


Figura 11: Macromolécula carregada positivamente como sugere o modelo.

O modelo permite inferir que as diferentes quantidades de eletrólitos para promover à separação de fases esta intimamente ligada à força de interação entre o cátion e os segmentos da macromolécula, de modo que o cátion que interage com maior intensidade com o segmento necessitará de uma maior quantidade para saturar a macromolécula. Vale ressaltar que os ânions também interferem na interação dos cátions com o polímero e conseqüentemente são capazes de promover o aumento ou a diminuição da região bifásica de um SAB.

1.11- PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE: α - LACTOALBUMINA E β - LACTOGLOBULINA

O soro do leite é obtido pela coagulação do leite durante o processo de fabricação de queijo, sendo considerado como um subproduto. Nas últimas duas décadas têm sido crescentes os estudos envolvendo a purificação, por SAB, de

proteínas do soro do leite. A quantidade de algumas proteínas presentes no soro de leite pode ser observada na tabela 4 [61]:

Tabela 4: Fração de algumas proteínas do soro do leite.

Proteína	Concentração/ (g.L ⁻¹)
α -lactoalbumina	0,60 – 1,70
β -lactoglobulina	2,00 – 4,00
Lactoferrina	0,05 – 0,10
Lactoperoxidase	0,02 – 0,06
Albumina de Soro	0,30 – 0,60
Glicomacropéptido	1,20 – 1,50
Imunoglobulina	0,60 – 1,00

As proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina têm sido alvo de muitos estudos em SAB cujo objetivo final é a obtenção de uma metodologia capaz de purificar e separar estas proteínas promovendo uma nova forma de agregar valor ao soro do leite.

1.11.1- α - LACTOALBUMINA

A α -lactoalbumina é uma metaloproteína globular, apresenta 1 íon cálcio por molécula, possui massa molecular de 14.176 g.mol⁻¹ que contém 123 resíduos de aminoácidos (figura 12) por molécula com ponto isoelétrico (PI) igual a 4,80. Sua desnaturação pode ocorrer próximo do pH = 7 na temperatura de 65°C. Apresenta em sua estrutura 4 ligações do tipo ponte de enxofre (– S – S –) por molécula [62-64]. O interesse científico-econômico em obtê-la com alto grau de pureza está associada às suas propriedades hipocolesterolêmica, antimicrobianas, anti-

carcinogênicas e por ser precursora da serotonina que é responsável pela atenção e o sono [65,66].

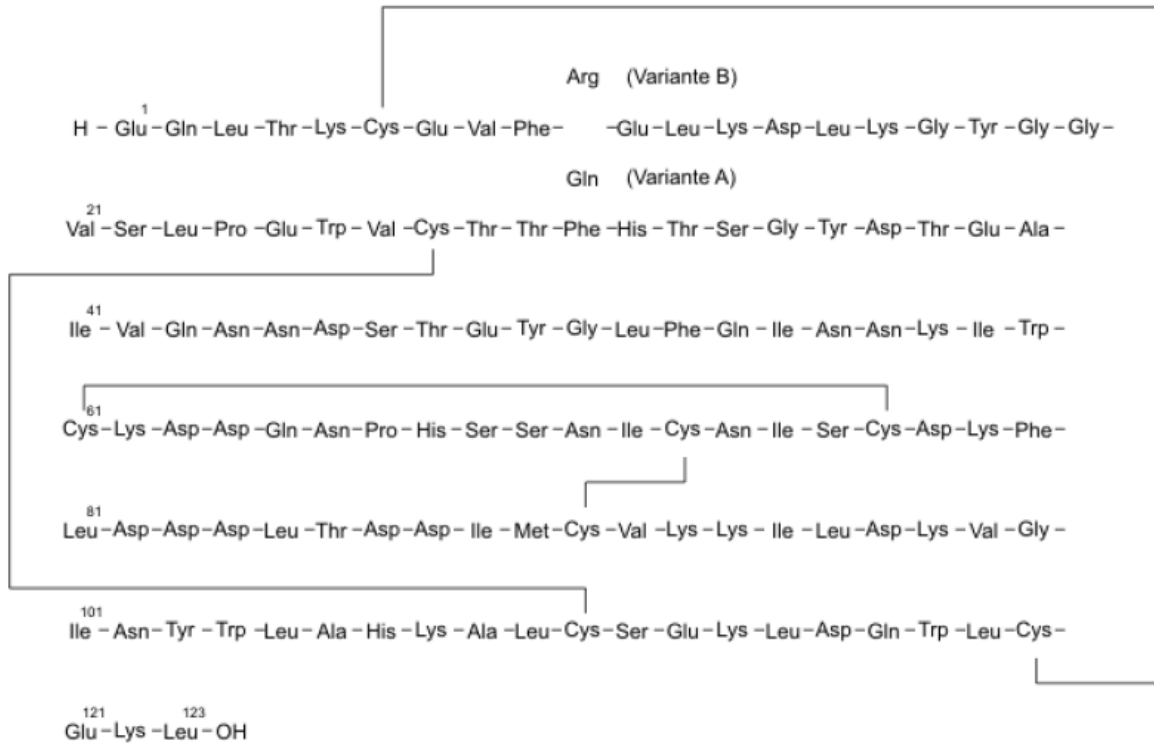


Figura 12: Sequência dos aminoácidos da estrutura primária da α -lactoalbumina.

O íon cálcio, as ligações de enxofre e outros fatores físico-químicos são responsáveis pela estrutura tridimensional da α -lactoalbumina. A figura 13 mostra a representação, via modelo de fitas, da estrutura terciária da α -lactoalbumina obtida por difração de raio-x [67].

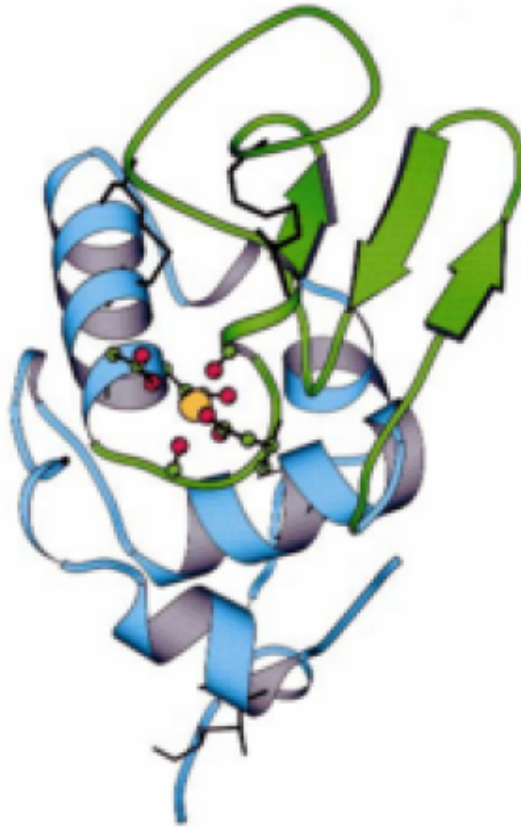


Figura 13: Modelo tridimensional da α -lactoalbumina

A figura 13 mostra que a proteína α -lactoalbumina apresenta estruturas secundárias regulares. O termo estrutura secundária regular é usado para denominar as sequências de resíduos com valores repetidos de rotação da ligação $C_{\alpha} - N$, Φ , e $C_{\alpha} - C$, Ψ , obtidos pelo diagrama de Ramachandran. As estruturas secundárias podem ser do tipo β (verde – cerca de 14% da estrutura) ou α -Hélice (azul – cerca de 26% da estrutura). Cerca de 60% estrutura 3-D da α -lactoalbumina é disposta de maneira “aleatória”, ou seja, com diferentes valores de Φ e Ψ na sequência de resíduos. Em soluções aquosas α -lactoalbumina se apresenta como um elipsóide alongado de dimensões espaciais iguais a 2,50 x 3,70 x 3,20 nm. Na figura 13 é possível observar as ligações do tipo – S – S – (preto) [63]. Ao centro observa-se o átomo de cálcio (amarelo) que é responsável por manter uma

estrutura em que as sequências de aminoácidos mais hidrofóbicos se encontram mais enclausuradas no interior da proteína. A ausência deste metal promove uma ligeira abertura da proteína para exterior provocando aumento da sua hidrofobicidade devido à exposição de sequências de resíduos mais hidrofóbicos [68].

1.11.2- β - LACTOGLOBULINA

A β -lactoglobulina é uma proteína globular sem a presença de metais em sua estrutura que possui 162 resíduos de aminoácidos (figura 14) o que lhe confere uma massa molecular de $18.283 \text{ g. mol}^{-1}$ com ponto isoelétrico igual a 5,20 e apresenta mudanças em sua estrutura nativa em temperaturas próximas aos 70°C [69]. Apresenta propriedades antivirais, antimicrobianas, anti-carcinogênicas e pode ser utilizada na indústria alimentícia como agente emulsificante [63, 65].

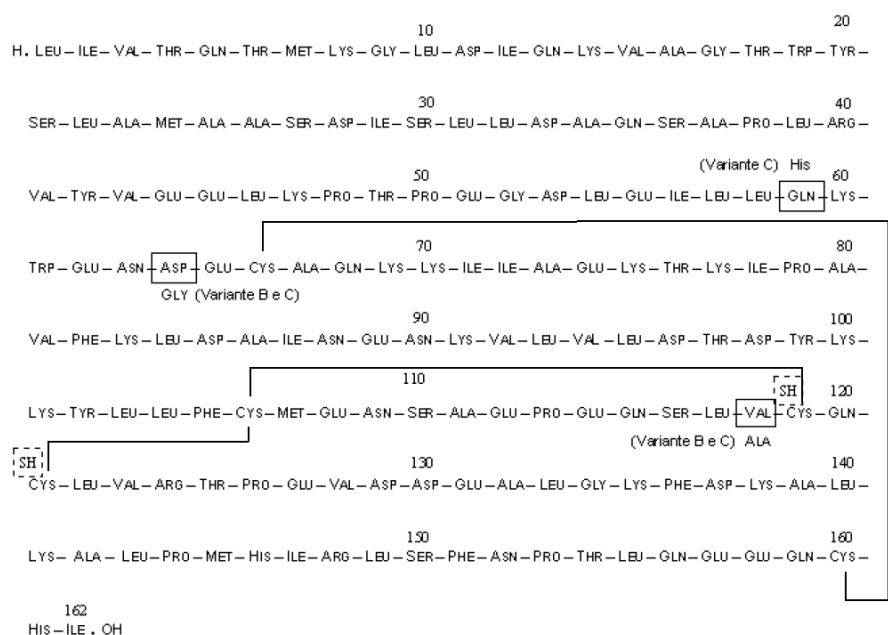


Figura 14: Sequência dos aminoácidos da estrutura primária da β -lactoglobulina.

As estruturas secundária e terciária da β -lactoglobulina estão representadas na figura 4 [63]:

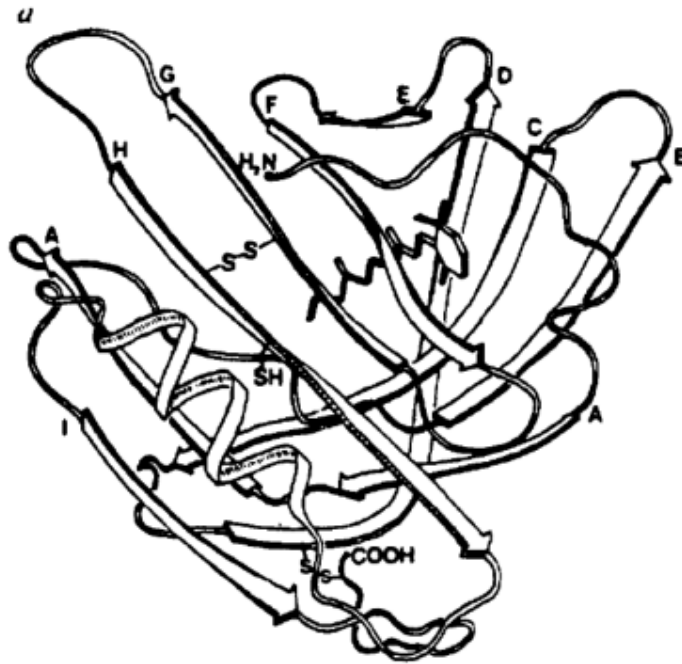


Figura 15: Modelo de fita tridimensional da β -lactoglobulina

A figura 15 mostra que a β -lactoglobulina apresenta estruturas secundárias regulares do tipo β , que representa 43% da estrutura, do tipo α -Hélice, que representa de 10-15% e as demais estruturas estão dispostas de maneira “aleatória”. É importante relevar o fato de que estes valores se referem à proteína em solução e em certas faixas de pH. A literatura reporta que há uma pequena diferença de hidrofobicidade entre a α -lactoalbumina e β -lactoglobulina com valores de 4,68 and 5,03 kJ/(resíduo apolar), respectivamente, sendo esta última considerada a mais hidrofóbica [70].

1.11.3- PARTIÇÃO DE α - LACTOALBUMINA E β - LACTOGLOBULINA EM SAB

Os experimentos com estas proteínas em SAB consistem em avaliar o efeito da temperatura, do tipo de macromolécula, massa molar do polímero, tipo de sal formador do sistema, pH e variação da composição do polímero, sal e água nas fases sobre o coeficiente de partição.

Inúmeros estudos apontam para um comportamento de partição bem distinto entre estas proteínas. Estudos de partição em sistemas do tipo PEG + tampão, realizado por Chen, de fosfato mostrou a β -lactoglobulina tem preferência pela fase inferior ($K < 1$) e a α -lactoalbumina tem preferência pela fase superior ($K > 1$) [70]. Este resultado foi bastante inesperado, pois a fase contendo PEG é mais hidrofóbica que a fase salina e desta forma a α -lactoalbumina deveria ter K_p menor que β -lactoglobulina devido sua menor hidrofobicidade. A justificativa deste fato foi baseada no número de resíduos de triptofano presentes em maior quantidade de α -lactoalbumina. Entretanto, o comportamento não pode ser explicado baseado apenas na hidrofobicidade, pois o processo de partição envolve muitos eventos moleculares e não apenas a interação de origem hidrofóbica [70]. Trabalhos posteriores, realizados por Zuniga et AL., avaliaram o efeito da massa molar sobre o coeficiente de partição das proteínas para o sistema PEG MM (1500, 4000, 6000 e 8000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) + fosfato de potássio, pH = 7, e concluíram que a diminuição da massa molar aumenta de maneira expressiva o coeficiente de partição de ambas as proteínas ($K_\alpha = 25,00$ e $K_\beta = 0,04$ para a massa molar 1500 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) [71]. Estudos realizados por Picó et al. Mostraram que o aumento do pH na faixa de 6,8 a 8,0 promove um aumento do coeficiente de partição destas proteínas [72]. Outros estudos realizados por Picó et al. em sistemas de PEG 1000 + citrato de sódio encontraram coeficientes de partição de aproximadamente 12 para α -lactoalbumina

e 0,3 para β -lactoglobulina [73]. Em ambos os estudos realizados por Pico et al. foram relatados os mesmos efeitos, em relação a massa molar, observados por Zuniga et al.. Rodrigues et al. encontrou valores de K_p , para ambas as proteínas, muito similares aos de Picó et al. nos sistemas com o sal de citrato de sódio, porém foi utilizado um sistema formado por PEG 900 + sulfato de amônia [74].

A partição destas proteínas em sistema polímero-polímero mostrou resultados interessantes. Da Silva e Meirelles mostraram que a partição das duas proteínas em sistema do tipo PEG + maltodextrina exibia coeficientes de partição para α -lactoalbumina igual a 5,00 e para β -lactoglobulina igual a 0,90. Todavia, ao mudar o PEG pelo PPG, tornando a fase superior mais hidrofóbica, os coeficientes para ambas as proteínas tinham o mesmo valor, ou seja, $K \approx 3,00$ [75,76]. Pessoa Filho et al. estudou comportamento de partição em sistema em ambientes micelares avaliando a temperatura e tipo de copolímero em sistemas de F38 ou F68 + $\text{NH}_2\text{COO NH}_4$ + água. A partição se mostrou ligeiramente endotérmica e a diferença de coeficientes de partição entre as proteínas reduziu abruptamente em relação aos sistemas PEO + sais inorgânicos [77].

Apesar da existência de muitos estudos envolvendo a partição da α -lactoalbumina e β -lactoglobulina não há uma explicação para os comportamentos de partição e por isso faz-se necessário um maior número de experimentos para que uma explanação satisfatória venha à tona.

1.12- SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS DO TIPO MACROMOLÉCULA + SAL + ÁGUA

A literatura descreve uma extensa quantidade de combinações de substâncias químicas capazes de originar um SAB. Estas combinações são obtidas por tentativa e erro, uma vez que não há uma teoria capaz de prever quais relações entre as espécies químicas resultariam na segregação de fases e conseqüente formação destes sistemas.

A tabela 5 apresenta vários exemplos de pares de PEO ou PPO + Sal capaz de formar um SAB considerando-se certas condições termodinâmicas específicas de pressão, temperatura e composição.

Tabela 5: Pares de componentes (PEO ou PPO + sal) formadores de SAB.

Massa molar	Sal formador	Referência
PEO 300	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	[29]
PEO 400	Na_2SO_4^* , MgSO_4^* , Cs_2CO_3 , KH_2PO_4 + K_2HPO_4	[26,78,79]
PEO 600	KH_2PO_4 + K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$	[80, 81,82, 83]
PEO 1000	K_3PO_4 , K_2CO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Li_2SO_4 , MnSO_4 , ZnSO_4 , NaOH , $\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$, Cs_2CO_3 , Cs_2SO_4	[79, 80, 82, 82, 83, 84, 85]
PEO1450	$\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 + K_2HPO_4	[80, 81]
PEO 1500	Na_2SO_4 , MgSO_4 , Li_2SO_4 , KH_2PO_4 + K_2HPO_4 , $\text{NH}_2\text{COONH}_4$, $\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$	[5,82, 84, 86, 87, 88, 89]
PEO 2000	NaOH , KOH , H_3PO_4 , K_2CO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3 , $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$	[90, 91, 92, 93]
PEO 3350	Na_2SO_4 , MgSO_4 , Li_2SO_4 , $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$	[81, 94]
PEO 4000	Na_2SO_4 , MgSO_4 , Li_2SO_4 , $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$, CuSO_4 , ZnSO_4 , KH_2PO_4 + K_2HPO_4 , $\text{NH}_2\text{COONH}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, Cs_2CO_3 , Cs_2SO_4 , $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$, NaNO_3	[79, 86, 87, 88, 95, 96, 97, 98, 99, 100]
PEO 6000	Na_2SO_4^* , MgSO_4^* , Li_2SO_4^* , Na_2WO_4 , NaNO_3 , ZnSO_4^* ,	[84, 86, 101]

PEO 35000	Na ₂ SO ₄ , MgSO ₄ , Li ₂ SO ₄ ,	[94]
PPO 400 ou 425	Na ₂ CO ₃ , NaCl, Na ₂ SO ₄ , MgSO ₄ , (NH ₄) ₂ SO ₄ , NaNO ₃	[102, 103, 104, 105]

*São artigos publicados do presente trabalho de tese.

Os SAB do tipo PEG + Sal apresenta várias vantagens para partição de solutos. Uma das principais vantagens esta associada ao baixo custo do polímero e diversidade de sistemas existentes para selecionar de acordo com a característica do soluto.

Os SAB de PEG + sal são extremamente eficientes para separação de proteínas. Estudos mostram que a transferência da proteína para fase superior é maior quanto menor for a massa molar do polímero. Outra vantagem de sistemas com baixa massa molecular esta associada à baixa viscosidade da fase polimérica e o tempo que o sistema leva para entrar em equilíbrio é extremamente pequeno. A utilização de sistemas de PEG + sal com massas moleculares baixas como PEG 600, PEG 400 e PEG 300 é muito restrita devido à escassez e dificuldade de construção destes diagramas.

Apesar dos sistemas do tipo PEG + sal, independentemente da massa molar, serem amplamente utilizados para purificação de várias espécies químicas, eles apresentam uma restrição físico-química que é a baixa hidrofobicidade da fase o que impossibilita a aplicação destes SAB para solutos insolúveis em água. Entretanto, a solução para este problema tem sido a criação de SAB com macromoléculas que formam ambientes micelares em solução. Estas macromoléculas são chamadas de copolímeros. A tabela 6 mostra todos os SAB formados por copolímero + sal existentes na atualidade.

Tabela 6: SAB formados por copolímero + sal.

Copolímero	Sal formador	Referência
L35	Na ₂ SO ₄ , MgSO ₄ , NaNO ₃ [*] , Li ₂ SO ₄ , KH ₂ PO ₄ + K ₂ HPO ₄ , Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ [*] , Na ₂ C ₄ H ₄ O ₄ [*] , Ca ₂ CO ₃ , (NH ₄) ₃ C ₆ H ₅ O ₇ Na ₂ C ₄ H ₄ O ₄ , (NH ₄) ₂ SO ₄ , CH ₃ COONa	[27, 106, 107, 108]
L62	KH ₂ PO ₄ + K ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄ + K ₂ HPO ₄ ,	[109]
L64	K ₃ PO ₄ , NaOH, (NH ₄) ₂ SO ₄ , Na ₂ SO ₄ , MgSO ₄ , Li ₂ SO ₄ ,	[91, 105, 110]
F38	NH ₂ COONH ₄	[77]
F68	Na ₂ SO ₄ , MgSO ₄ , Li ₂ SO ₄ [*] , KH ₂ PO ₄ + K ₂ HPO ₄ , ZnSO ₄ [*] , (NH ₄) ₂ SO ₄ [*] , Na ₂ SO ₄ [*] , MgSO ₄ , (NH ₄) ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , Na ₂ CO ₃ , Na ₂ C ₄ H ₄ O ₄	[28, 107, 108, 111]

*Artigos publicados do presente trabalho de tese

A utilização de SAB com ambientes micelares para partição de solutos insolúveis em água é muito escasso, uma vez que os SAB eram considerados inapropriados para esta finalidade. Entretanto, da Silva et al. mostrou que a utilização de extratantes de hidrofóbicos, 1N2N, (1-nitroso-2-naftol), em SAB contendo micelas (L35 + Na₂SO₄) era capaz de promover a transferência de vários íons metálicos (Ni(II), Fe(III), Cd(II), Co(II), Zn(II) and Cu(II)) para a fase rica em

copolímero [26]. Entretanto, a utilização de SAB com sistemas micelares ainda é restrito devido ao número reduzido de diagramas disponíveis na literatura.

1.13- DIAGRAMAS DE FASES: MODIFICAÇÕES DA REGIÃO BIFÁSICA

O processo de separação de fases dos diagramas em sistemas formados por copolímero ou polímero + sal, polímero-polímero e conseqüentemente da região bifásica são fortemente afetados por diversos fatores como a temperatura, massa molar do polímero, tipo de polímero, sal formador.

1.13.1- EFEITO DA TEMPERATURA

A literatura reporta que o aumento da temperatura pode provocar um aumento da bifásica em diagramas do tipo polímero + sal (figura 16) [89, 95, 101]. A relação entre o aumento da temperatura e aumento da região bifásica esta associada ao fato de que o processo de separação é endotérmico. Entretanto, vários artigos mostram que temperatura pode ter um efeito tão pequeno, que do ponto de vista estatístico não há diferença entre as curvas binodais.

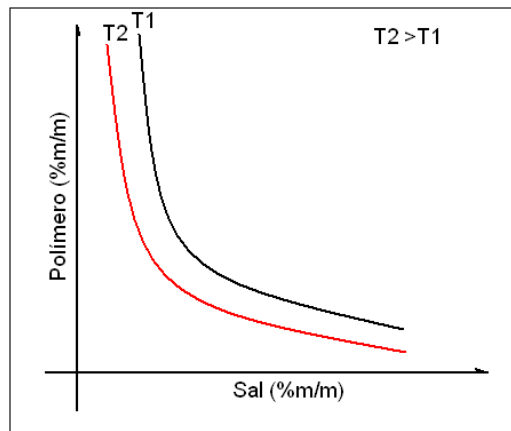


Figura 16: Efeito da temperatura sobre a região bifásica.

O aumento da temperatura também pode fazer com que a transferência de água da fase superior para fase inferior seja maior e desta forma o volume das fases são alterados. o aumento da temperatura causa o aumento da hidrofobicidade da fase e assim há exclusão de moléculas de água de solvatação do polímero de modo a transportá-las para fase mais hidrofílica. A temperatura também afeta a inclinação da linha de amarração. Este fato é consequência da transferência de moléculas de água

1.13.2- MASSA MOLAR DO POLÍMERO

O número de monômeros da macromolécula afeta diretamente á área em que o sistema permanece com duas fases. Estudos mostram que o aumento da massa molar do polímero promove a ampliação da área bifásica [93, 108]. Esta tendência esta representada pela figura 17.

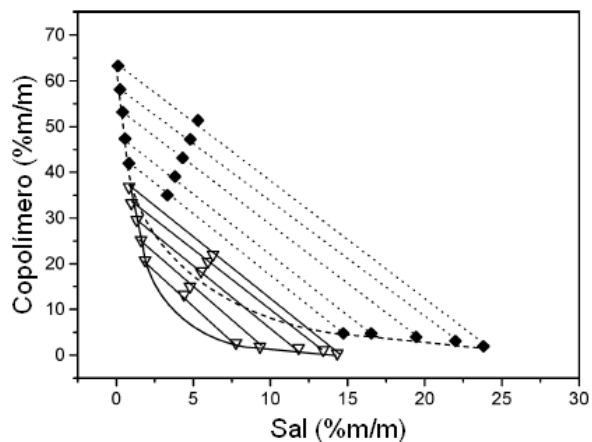


Figura 17: Efeito da massa molar. (símbolo vazio): F68 ; (símbolo cheio): L35.

Segundo a teoria de Flory-Huggins esta maior facilidade em separar de fase em sistemas com polímeros com massas molares mais altas esta diretamente ligada ao número de configurações do polímero em solução. O efeito da massa molar poder ser atribuído basicamente pelo fator entrópico, uma vez que o parâmetro de interação de Flory-Huggins praticamente independe da massa molar do polímero. O aumento da massa molar provoca a diminuição da entropia de mistura resultando numa diminuição da solubilidade do polímero devido ao fato de que o polímero se torna mais hidrofóbico com o aumento da massa molar e isso faz com que a separação de fase ocorra com uma menor quantidade de componentes.

1.13.3- EFEITO DO ELETRÓLITO FORMADOR DO SAB

O sal formador, sais orgânicos ou inorgânicos, do SAB exerce uma grande influência sobre a região bifásica. Em geral a avaliação é feita em termos dos ânions e cátions que compõe o sal conservando-se o mesmo polímero. O exemplo abaixo (figura 18) mostra a contribuição dos cátions no processo de separação de fases.

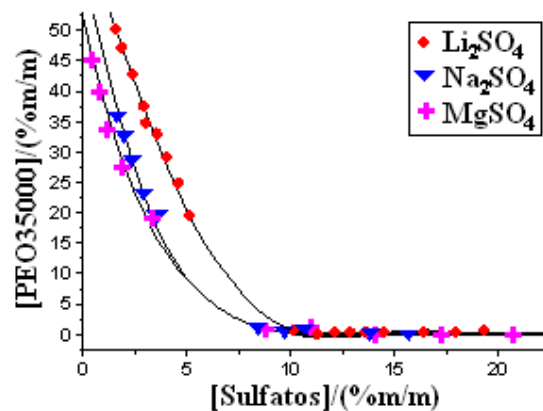


Figura 18: Efeito do cátion sobre a região bifásica.

A figura 18 mostra claramente que os cátions são responsáveis pelas diferentes posições da binodal. Conforme discutido no item referente ao modelo do pseudo-polication estes diferentes comportamentos estão associados a interação deste cátions com os grupos EO do polímero, sendo que o cátion que apresenta maior interação, lítio para o exemplo citado, possui uma menor região bifásica quando comparado aos demais cátions [94, 101].

Estudos com intuito de avaliar o efeito dos ânions sobre a região bifásica mostraram, a exemplo dos cátions, que há diferenças relevantes de comportamento. A ordem na preferência em induzir a separação de fase, PEO + sais de sódio, foi: $\text{PO}_4^{-3} > \text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7^{-3} > \text{SO}_4^{-2} > \text{CO}_3^{-2} > \text{OH}^-$ [112].

Apesar dos ânions não terem sido estudados quando o modelo do pseudo-polication foi proposto pode-se inferir que cada ânion interfere diferentemente no modo como o cátion interage com os segmentos EO e produz efeitos diferenciados na saturação da macromolécula reduzindo ou aumentando o número de cátions interagindo com os segmentos.

1.13.4- EFEITO DO TIPO DE MACROMOLÉCULA

A literatura reporta que o aumento da hidrofobicidade, seja pela troca de PEG por PPG ou modificando os balanços EO/PO do polímero, mantendo a massa molar, provoca um aumento ou diminuição da região bifásica. Em geral a troca de um polímero por outro mais hidrofóbico acarreta no aumento da região bifásica. Estudos mostram que hidrofobicidade chega a superar o efeito causado pela massa molar, ou seja, um polímero hidrofóbico com massa molar menor (L35 – 1900 g.mol⁻¹) em relação a outro mais hidrofílico com massa molar maior (F68 – 8400 g.mol⁻¹),

com o mesmo sal formador, possuem a mesma área bifásica. Isto ocorre devido uma compensação em que alta hidrofobicidade do polímero compensa os efeitos entrópicos [107]. Outro fator, de menor relevância, está associado às diferentes conformações que o polímero assume em solução contribuindo assim para diferenciar o comportamento.

CAPÍTULO 2: OBJETIVO, MATERIAIS E METODOLOGIAS

2.1- OBJETIVO

Este trabalho de pesquisa visa a obtenção de novos sistemas aquosos bifásicos (SABs), obtidos a partir da mistura de soluções aquosas de copolímero bloco ou polímeros (PEG), com soluções aquosas de sais orgânicos e inorgânicos. Estes copolímeros tri-blocos podem ser representados esquematicamente por $(\text{PEO})_n\text{-(PPO)}_m\text{-(PEO)}_n$, em que a variação de “n” ou “m” resultará sempre em diferentes massas molares e distintos balanços hidrofóbico/hidrofílico. Os SABs obtidos serão estudados termodinamicamente a partir:

1. Obtenção de seus diagramas de fase;
2. Efeito da variação da temperatura;
3. Eletrólito formador do sistema;
4. Massa molar e relação EO/PEO (balanço hidrofóbico/hidrofílico) do polímero.

Parte destes novos SABs será aplicada a estudos de partição das proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina. Será investigada a influência massa molar e o efeito do eletrólito sobre o coeficiente de partição das duas proteínas.

2.2- MATERIAIS E REAGENTES

1. Polímeros do tipo poli(óxido de etileno) com massa molares equivalentes 400 e 6000 g.mol⁻¹ ambos da empresa SIGMA[®], EUA.
2. Copolímeros do tipo F68 e L35 com massas molares de 8460 e 1945 g.mol⁻¹, respectivamente, da empresa SIGMA-ALDRICH[®], EUA.
3. Sais de Li₂SO₄.H₂O (sulfato de Lítio mono hidratado, 99% de pureza), MgSO₄.7H₂O (sulfato de magnésio hepta hidratado, 99% de pureza), Na₂SO₄ (sulfato de sódio anidro, 99% de pureza), NaNO₃ (nitrato de sódio anidro, 99% de pureza), Na₂C₄H₄O₆.2H₂O (tartarato de sódio di hidratado, 99% de pureza), Na₃C₆H₅O₇.2H₂O (citrato de sódio di hidratado, 99% de pureza). Todos os reagentes foram obtidos da empresa VETEC, BRASIL.
4. Corante azul brilhante de comassie (99,9% de pureza) da empresa Merck, Alemanha.
5. As proteínas α-Lactoalbumina e β-Lactoglobulina foram obtidos da empresa SIGMA-ALDRICH[®], EUA.
6. Água Milli-Q foi usada em todos os experimentos ($R \geq 18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$).
7. Espectrofotômetro UV/VIS modelo CARY 50 PROBE (Varian, Australia).
8. Aparelho de índice de refração do tipo Abbe Refractometer da Analytik Jena (Konrak, Alemanha) acoplado a um banho termostático Thermo Haake modelo 003-5007 (Karlsruhe, Alemanha).
9. Banho termostático modelo MQBTC 99-20 (Microquímica, BRASIL).
10. Banho termostático modelo CT54HT (Schott Geräte, Alemanha)
11. Agitador tipo "Vortex" modelo 541-19000-27-1 (Alemmar, BRASIL).
12. Condutivímetro modelo Schott CG853 (Schott Geräte, Alemanha).

13. Balança analítica modelo AG200 (Gehaka, BRASIL).

14. Pipeta automática modelo Finnipette da Labsystems (Helsinki, Finlândia)

2.3- METODOLOGIA

Para construção de novos diagramas de fase foram necessárias as etapas experimentais de obtenção das curvas de titulação turbidimétrica, obtenção de composições globais bifásicas e quantificação das fases.

2.3.1- TITULAÇÃO TURBIDIMÉTRICA

A obtenção da curva turbidimétrica, spinodal, é de fundamental importância para se determinar o início da região bifásica. É importante ressaltar que a spinodal não se trata de uma curva obtida em condições de equilíbrio termodinâmico, mas o que se observa é turvação momentânea da mistura de soluções concentradas de polímero e sal, sendo considerado como ponto pertencente a uma região bifásica aquele que se apresenta turva após esta mistura.

Soluções concentradas dos polímeros PEO 6000 (60% m/m), PEO 400 (70% m/m), F68 (45% m/m), L35 (70% m/m) e dos sais (21% (m/m) Na_2SO_4 (21% m/m), Li_2SO_4 (21 %m/m), ZnSO_4 (25% m/m), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (30% m/m), $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ (30% m/m), $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (35% m/m), NaNO_3 (40% m/m) foram preparadas. As soluções foram levadas ao banho termostaticado para que permanecessem na temperatura em que se desejar obter a curva.

O procedimento para obtenção da spinodal consistia em pesar 1g da solução concentrada de polímero em tubo de pequeno diâmetro, cerca de 0,5 cm, para melhor visualização da turvação. O tubo contendo a solução de polímero era levado

a um banho termostático onde era deixado por alguns minutos para atingir o equilíbrio térmico. A titulação persiste em adicionar alíquotas de 10 μL da solução de sal com uma pipeta automática, mantendo-se a agitação manual do tubo dentro do banho, até ocorrer a turvação do sistema em que a solução exibe um aspecto esbranquiçado, leitoso. Neste momento é anotada a quantidade de sal que provocou a turvação. Após a turvação e adicionada cerca de 100 μL de água no sistema para que o mesmo volte a se tornar límpido. Novamente é adicionado mais sal até promover nova turvação e após atingir este ponto novamente era adicionada água ao sistema. Este procedimento é feito repetitivamente até obter cerca de 25 pontos de turvação. A curva típica obtida neste procedimento é ilustrada pela figura 1.

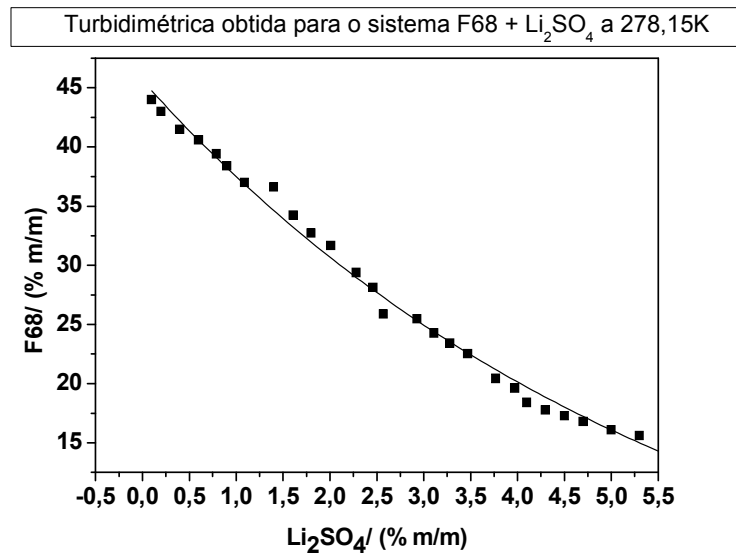


Figura 1: Curva típica obtida por titulação turbidimétrica.

As composições globais que serão usadas para a construção dos diagramas são obtidas com base na curva turbidimétrica de modo que os pontos globais

estejam acima desta linha onde há maior chance de se encontrar um sistema bifásico.

A curva da figura 1 pode ser matematicamente aproximada de uma reta para facilitar a obtenção das composições globais. Ao se aproximar a curva 1 de uma reta pode-se traçar uma outra reta perpendicular (obtida pela multiplicação da reta obtida por regressão por -1) para definir os pontos globais. A figura 2 mostra a ilustração do processo para obtenção dos pontos que serão utilizados para compor as linhas de amarração de cada sistema de polímero + sal.

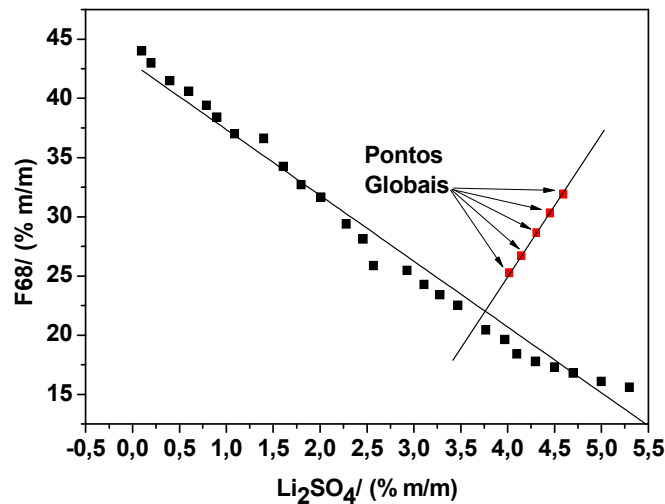


Figura 2: Utilização da spinodal para obtenção de pontos globais bifásicos.

A figura 2 mostra que os pontos globais são obtidos através da reta perpendicular. Através da curva obtida pela multiplicação por -1 pode se definir o percentual de sal tendo como resposta operatória a composição de polímero. O primeiro ponto global é definido a critério do experimentador sendo que os demais pontos utilizam-se a equação perpendicular. Outra forma de obter composições globais bifásicas é escolher aleatoriamente pontos acima da spinodal, porém este

procedimento pode ocasionar CLA muito próximos o que poderia obter pontos globais com composições de fases muito similares uns aos outros.

2.3.2- QUANTIFICAÇÃO DAS FASES

A partir da spinodal foram preparados quatro ou cinco pontos globais para cada sistema. As composições globais para cada sistema se encontram na tabela 1 a 13. Partiu-se de soluções concentradas de polímero e sal as quais foram misturadas quantitativamente de modo a obter as composições expressas nas tabelas de 1 a 13 em tubos de ensaio de modo que a massa total do sistema fosse 15 g e em seguida foram colocadas num banho termostático na temperatura descrita nas tabelas de 1 a 13. O tempo de equilíbrio é diferente para cada par polímero- sal, sendo que para PEG 400 + Na₂SO₄ ou MgSO₄, o tempo de equilíbrio foi de 12 horas e para os sistemas de PEG 6000 + Li₂SO₄, ZnSO₄, Na₂SO₄ ou MgSO₄ o tempo de equilíbrio foi de 36 horas. Para os sistemas de L35 + sais de sódio ou F68 + sais de sulfato o tempo de equilíbrio foi 72 horas. O equilíbrio termodinâmico é atingido quando as fases estão totalmente límpidas.

Após os sistemas entrarem em equilíbrio as fases superiores e inferiores são coletadas cuidadosamente de modo a não perturbar a interface líquido-líquido do sistema. A quantificação do sal nas fases é feita através de medidas de condutividade. A diluição aproximada para as medidas de condutividade para fase superior esta na faixa de 500-1000 vezes e para a fase inferior na faixa de 1500-2000 vezes. Portanto, através de uma curva analítica, na faixa de concentração de 0 – 10⁻³ % m/m para cada sal é possível determinar a concentração do eletrólito. A

presença do polímero em concentrações de aproximadamente 0,15% m/m não afetou a condutividade dos sais, ou seja, as curvas condutimétricas na presença e ausência do polímero se mantiveram iguais. A concentração de polímero é determinada pelo valor do índice de refração, onde novamente curvas analíticas foram levantadas à temperatura constante para cada polímero e sal, sendo a faixa trabalhada variando de 0 a 20% m/m para sal e 0 a 45 % m/m para o polímero. A diluição das fases para leitura no índice de refração foi na faixa de 1,5 a 2 vezes. O resultado obtido pelo índice de refração expressa a soma das concentrações de polímero + sal, devido a aditividade encontrada em baixas concentrações. Portanto, a concentração de polímero é encontrada subtraindo-se a concentração total encontrada menos a concentração do sal. A concentração de água é encontrada tomando-se como complementar as concentrações de sal e polímero.

Tabela 1: Composições globais para os sistemas formados por PEG 400 + sulfato de sódio.

PONTO GLOBAL	T = 298,2K		T = 308,2K		T = 318,2K	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	19,78	13,28	20,17	13,21	19,41	12,65
2	20,09	14,09	21,42	13,34	21,43	13,75
3	22,49	14,50	22,79	14,35	22,46	14,74
4	23,52	15,45	24,45	15,41	23,36	15,48

Tabela 2: Composições globais para os sistemas formados por PEG 400 + sulfato de magnésio.

PONTO GLOBAL	T = 298,2K		T = 308,2K		T = 318,2K	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	14,11	10,77	13,84	10,65	13,92	10,81
2	15,55	10,95	15,54	11,43	15,33	11,65

3	17,45	11,29	16,64	11,88	16,18	11,77
4	17,79	12,69	17,77	12,39	17,94	12,20

Tabela 3: Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de lítio.

PONTO GLOBAL	T = 283,2K		T = 298,2K		T = 313,2K	
	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	21,36	8,62	22,54	8,36	23,65	8,26
2	22,91	9,05	24,14	8,71	25,30	8,71
3	25,10	9,53	26,04	9,21	27,25	9,12
4	26,82	9,98	27,94	9,73	29,83	9,70
5	29,45	10,58	30,33	10,34	31,81	10,17

Tabela 4: Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de sódio.

PONTO GLOBAL	T = 283,2K		T = 298,2K		T = 313,2K	
	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	16,35	7,81	16,82	8,08	17,18	7,97
2	18,31	8,36	18,17	8,45	19,00	8,45
3	19,64	8,82	20,14	8,94	20,55	8,89
4	21,53	9,41	21,64	9,34	22,46	9,39
5	22,94	9,85	23,94	9,82	24,18	9,84

Tabela 5: Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de magnésio.

PONTO GLOBAL	T = 283,2K		T = 298,2K		T = 313,2K	
	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ Sal/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	18,15	7,78	18,52	7,63	19,26	7,50
2	20,15	8,29	20,09	8,15	21,43	8,06
3	21,88	8,77	21,99	8,75	23,19	8,47
4	23,88	9,30	24,05	9,45	25,10	8,91

5	26,13	9,90	26,20	10,15	27,10	9,49
----------	-------	------	-------	-------	-------	------

Tabela 6: Composições globais para os sistemas formados por PEG 6000 + sulfato de zinco.

PONTO GLOBAL	T = 283,2K		T = 298,2K		T = 313,2K	
	Polímero/	Sal/	Polímero/	Sal/	Polímero/	Sal/
	(% m/m)	(%m/m)	(% m/m)	(%m/m)	(% m/m)	(%m/m)
1	18,02	8,64	16,96	8,96	17,21	9,10
2	19,64	9,21	18,87	9,48	19,11	9,64
3	21,37	9,77	20,95	10,05	20,94	10,13
4	23,41	10,40	22,51	10,50	22,84	10,63
5	24,74	10,83	25,02	11,25	24,75	11,12

Tabela 7: Composições globais para os sistemas formados por L35 + Citrato de sódio.

PONTO GLOBAL	T = 283,2K		T = 298,2K		T = 313,2K	
	Polímero/	Sal/	Polímero/	Sal/	Polímero/	Sal/
	(% m/m)	(%m/m)	(% m/m)	(%m/m)	(% m/m)	(%m/m)
1	18,68	9,10	27,32	5,11	18,67	9,10
2	21,97	9,68	31,06	5,62	22,01	9,67
3	24,67	10,79	34,82	6,11	24,68	10,78
4	27,40	12,06	38,57	6,62	27,38	12,06
5	30,43	12,94	42,31	7,12	30,41	12,94

Tabela 8: Composições globais para os sistemas formados por L35 + Tartarato de sódio.

PONTO GLOBAL	T = 283,2K		T = 298,2K		T = 313,2K	
	Polímero/	Sal/	Polímero/	Sal/	Polímero/	Sal/
	(% m/m)	(%m/m)	(% m/m)	(%m/m)	(% m/m)	(%m/m)
1	20,00	8,21	35,99	4,55	25,78	9,93
2	22,11	10,21	39,92	5,34	25,58	11,16
3	25,28	11,32	45,04	5,63	29,02	12,02
4	28,20	12,13	49,66	6,33	32,69	12,66
5	30,59	13,39	54,62	6,59	38,89	14,22

Tabela 9: Composições globais para os sistemas formados por L35 + Nitrato de sódio.

PONTO GLOBAL	T = 283,2K		T = 298,2K		T = 313,2K	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	21,11	25,13	19,16	24,60	19,19	24,83
2	23,04	25,61	21,28	25,44	21,25	25,12
3	25,05	26,22	23,12	25,67	22,97	25,29
4	26,84	26,78	25,14	26,11	25,10	26,21
5	28,67	27,34	27,14	26,55	27,10	26,69

Tabela 10: Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de sódio.

PONTO GLOBAL	T = 278,2K		T = 288,2K		T = 298,2K	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	10,91	7,06	12,52	6,62	12,39	5,81
2	12,94	7,68	15,19	6,88	12,90	6,34
3	15,83	7,94	17,58	7,51	15,35	6,97
4	17,41	7,96	18,93	8,45	17,85	7,70
5	18,82	9,69	21,13	8,93	18,70	8,69

Tabela 11: Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de zinco.

PONTO GLOBAL	T = 278,2K		T = 288,2K		T = 298,2K	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	11,09	8,51	8,52	8,14	9,31	7,12
2	12,96	8,86	11,63	8,74	10,61	7,88
3	13,74	9,51	13,91	8,60	13,43	8,04
4	16,16	9,39	15,24	9,43	15,46	8,49
5	16,62	10,82	17,01	10,37	17,06	8,98

Tabela 12: Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de amônia.

PONTO GLOBAL	T = 278,2K		T = 288,2K		T = 298,2K	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	10,29	9,36	9,25	9,65	9,51	8,02
2	11,85	9,63	12,34	9,19	13,06	7,95
3	13,65	9,79	13,88	9,70	15,78	8,72
4	16,58	10,17	14,52	11,30	16,91	10,19
5	17,77	11,38	19,16	11,12	18,64	11,07

Tabela 13: Composições globais para os sistemas formados por F68 + Sulfato de lítio.

PONTO GLOBAL	T = 278,2K		T = 288,2K		T = 298,2K	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	17,51	8,22	11,77	7,91	15,27	8,84
2	18,75	8,56	14,03	7,93	18,41	10,68
3	20,70	8,45	15,41	8,33	19,76	11,47
4	21,05	9,12	17,35	8,37	21,83	12,29
5	21,59	9,53	18,33	8,69	22,63	13,29

2.3.3- EXPERIMENTOS DE PARTIÇÃO DAS PROTEÍNAS

Os experimentos de partição foram realizados nos sistemas formados por PEO 6000 ou PEO 1500 + sulfatos de lítio, sódio ou magnésio a 298,2K. As composições globais utilizadas estão nas tabelas 14 e 15. Foram preparados 30 gramas de cada ponto global das tabelas 14 e 15 e colocados em banho termostático a 298,2K. Após estes sistemas entrarem em equilíbrio as fases superiores e inferiores foram coletadas com seringas de 20 mL. As fases coletadas

foram distribuídas em tubos de ensaio para realização dos experimentos de partição. Cerca de 2,5 g de cada fase foi adicionado em cada tubo de modo que foram obtidos 4 tubos de ensaio 2,5 g de cada fase referente a um ponto global. Em três dos tubos citados anteriormente foi adicionado 100 µL de uma solução de proteínas, α-Lactoalbumina ou β-Lactoglobulina, na concentração de 2,5 mg/mL, de modo que a quantidade de proteína no sistema fosse de 250 µg. Um tubo de ensaio foi deixado sem proteína, pois foi usado como “branco”. Após a adição da proteína o sistema era vedado e seguia-se uma agitação em baixa velocidade no Vortex. Após a agitação o sistema era colocado no banho termostático a 298,2K até o equilíbrio termodinâmico ser alcançado. O equilíbrio foi alcançado no máximo em 36 horas e foi caracterizado pela limpidez das fases. Após atingir o equilíbrio as fases superiores e inferiores foram coletadas e diluídas com o reagente de Bradford para quantificação da proteína nas fases via espectrofotometria UV/VIS.

A partição das proteínas α-lactoalbumina e β-lactoglobulina entre as fases do sistema aquoso é dada pelo coeficiente de partição (equação 34 do capítulo 1)

$$K_P = \frac{[soluto]_i^{FS}}{[soluto]_i^{FI}} \quad (\text{eq.34})$$

Em que $[soluto]_i^{FS}$ e $[soluto]_i^{FI}$ representam a concentração da proteína na fase superior e inferior, respectivamente.

A concentração das proteínas α-lactoalbumina e β-lactoglobulina foram determinadas pelo método de Bradford que consiste na adição do reagente de Bradford e mensuração da absorvância da solução de proteína a 595nm. A presença do polímero ou do sal não interferiu na metodologia de Bradford.

Tabela 14: Composições globais para a partição de proteínas em sistemas formados por PEO 1500 + sais de sulfato a 298,2K.

PONTO GLOBAL	Li ₂ SO ₄		Na ₂ SO ₄		MgSO ₄	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	20,65	10,42	17,42	9,24	22,01	8,91
2	22,89	10,50	18,32	9,97	24,55	9,48
3	25,16	11,29	19,90	10,70	25,78	9,82
4	27,03	11,61	22,22	11,59	26,65	10,8
5	29,43	12,14	23,44	12,39	28,54	11,54

Tabela 15: Composições globais para a partição de proteínas em sistemas formados por PEO 6000 + sais de sulfato a 298,2K.

PONTO GLOBAL	Li ₂ SO ₄		Na ₂ SO ₄		MgSO ₄	
	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)	Polímero/ (% m/m)	Sal/ (%m/m)
1	22,54	8,36	16,82	8,08	18,52	7,63
2	24,14	8,71	18,17	8,45	20,09	8,15
3	26,04	9,21	20,14	8,94	21,99	8,75
4	27,94	9,73	21,64	9,34	24,05	9,45
5	30,33	10,34	23,94	9,82	26,20	10,15

CAPÍTULO 3: DIAGRAMAS DE FASE DO TIPO PEO 400 OU 6000 + SAL + ÁGUA

3.1- COMPOSIÇÕES DAS FASES

Neste capítulo discutir-se-á os diagramas de PE6000 + sais inorgânicos de ZnSO_4 , MgSO_4 , Na_2SO_4 e Li_2SO_4 nas temperaturas de 283,2, 298,2 e 313,2 K e os diagramas de PEO400 + MgSO_4 ou Na_2SO_4 nas temperaturas de 298,2, 308,2 e 318,2 K.

A composição das fases para os sistemas formados por PEO 6000 + Li_2SO_4 , PEO 6000 + Na_2SO_4 , PEO 6000 + MgSO_4 , PEO 6000 + ZnSO_4 , PEO 400 + Na_2SO_4 e PEO 400 + MgSO_4 em diferentes temperaturas estão apresentadas nas tabelas de 1 a 6. Todas as concentrações estão expressas em percentual mássico (%m/m). A análise dos dados das tabelas de 1 a 6 permite afirmar que existe uma relação de exclusão entre o polímero e o sal formador do sistema para todos os sistemas estudados independentemente da temperatura. Este comportamento de exclusão é comum em todos os SAB formados por polímero + sal e faz com a que fase superior seja composta majoritariamente por polímero e água, enquanto a fase inferior seja rica em eletrólito. Entretanto, os sistema formados por PEO + NaNO_3 exibem um comportamento de exclusão muito menos intenso que os demais SAB [80-110]. Esta exceção pode estar associada à alta solubilidade de sais de nitrato.

Tabela 1: Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 400 (w_{PEG}) + Sulfato de sódio (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 298,2 a 318,2 K.

LA	CLA	Composição global			Fase superior			Fase inferior		
		w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}
$T = 298,2 \text{ K}$										
1	37,57	19,78	13,28	66,94	35,88	3,50	60,62	3,87	23,16	72,97
2	41,03	20,09	14,09	65,82	37,28	2,93	59,79	2,96	25,41	71,63
3	45,69	22,49	14,50	63,01	41,97	2,45	55,58	3,12	26,50	70,38
4	50,31	23,52	15,45	61,03	44,90	2,02	53,08	2,28	28,76	68,58
$T = 308,2 \text{ K}$										
1	37,18	20,17	13,21	66,62	36,19	3,75	60,06	4,24	22,77	72,99
2	40,53	21,42	13,34	65,24	38,93	3,04	58,03	4,05	23,68	72,27
3	46,42	22,79	14,35	62,86	42,64	2,43	54,93	2,98	26,55	70,47
4	51,31	24,45	15,41	60,14	46,28	2,05	51,67	2,52	28,85	68,63
$T = 318,2 \text{ K}$										
1	35,69	19,41	12,65	67,94	34,73	3,61	61,66	4,01	21,78	74,21
2	42,64	21,43	13,75	64,82	39,63	2,78	57,59	3,14	24,84	72,02
3	46,37	22,46	14,74	62,80	42,13	2,49	55,38	2,70	26,89	70,41
4	50,44	23,36	15,48	61,16	44,66	2,06	53,28	1,93	28,86	69,21

Tabela 2: Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 400 (w_{PEG}) + Sulfato de magnésio (w_{S}) + água (w_{W}) nas temperaturas de 298,2 a 318,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}
$T = 298,2 \text{ K}$										
1	23,17	14,11	10,77	75,12	24,22	5,07	70,71	4,08	16,53	79,39
2	30,60	15,55	10,95	73,50	28,59	3,91	68,50	2,61	19,07	78,32
3	36,54	17,45	11,29	71,26	33,15	2,92	64,93	1,85	20,78	77,37
4	42,05	17,79	12,69	69,52	35,61	2,46	62,93	1,10	23,99	76,01
$T = 308,2 \text{ K}$										
1	23,45	13,84	10,65	75,51	23,89	4,61	71,50	3,82	16,74	79,44
2	32,78	15,54	11,43	73,03	29,47	2,74	67,79	1,65	20,08	78,27
3	37,58	16,64	11,88	71,48	32,52	1,84	65,64	0,80	21,99	77,21
4	42,11	17,77	12,39	69,84	35,75	1,25	63,00	0,60	23,55	76,42
$T = 318,2 \text{ K}$										
1	28,86	13,92	10,81	75,27	26,39	3,47	70,14	1,55	18,17	80,28
2	35,46	15,33	11,65	73,02	30,37	2,34	67,29	0,80	20,98	79,02
3	38,03	16,18	11,77	72,05	32,20	1,59	66,21	0,60	21,99	78,01
4	42,08	17,94	12,20	69,86	35,79	1,14	63,07	0,50	23,27	76,73

Tabela 3: Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de lítio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W
T = 283,2 K										
1	34,17	21,36	8,62	70,02	35,52	3,22	61,26	3,64	15,51	80,85
2	38,18	22,91	9,05	68,04	39,63	2,69	57,68	3,96	16,31	79,73
3	42,40	25,10	9,53	65,37	43,40	2,29	54,31	4,01	17,97	78,02
4	45,46	26,82	9,98	63,20	46,65	1,96	51,39	4,47	18,92	76,61
5	50,29	29,45	10,58	59,97	50,93	1,62	47,45	4,55	21,07	74,38
T = 298,2 K										
1	36,87	22,54	8,36	69,10	37,81	2,89	59,30	3,10	15,31	81,59
2	39,74	24,14	8,71	67,15	41,41	2,50	56,09	4,02	15,95	80,03
3	43,78	26,04	9,21	64,75	45,06	1,97	52,97	4,14	17,53	78,33
4	47,33	27,94	9,73	62,33	47,96	1,95	50,09	3,86	19,14	77,00
5	52,14	30,33	10,34	59,33	52,91	1,42	45,67	4,42	20,59	74,99
T = 313,2 K										
1	40,30	23,65	8,26	68,09	41,29	2,26	56,45	3,17	15,33	81,50
2	44,68	25,30	8,71	65,99	45,70	1,74	52,56	3,40	16,14	80,46
3	46,14	27,25	9,12	63,63	46,51	1,70	51,79	3,38	18,10	78,52
4	52,07	29,83	9,70	60,47	52,40	1,45	46,15	3,48	19,30	77,22
5	54,91	31,81	10,17	58,02	55,76	1,13	43,11	4,36	20,46	75,18

Tabela 4: Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de sódio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W
T = 283,2 K										
1	29,94	16,35	7,81	75,84	29,28	2,28	68,44	1,72	13,99	84,29
2	34,04	18,31	8,36	73,33	32,28	1,95	65,77	1,37	16,22	82,41
3	37,39	19,64	8,82	71,54	35,00	1,56	63,44	1,18	17,51	81,31
4	40,95	21,53	9,41	69,06	37,41	1,37	61,22	0,91	19,93	79,16
5	43,81	22,94	9,85	67,21	39,93	1,21	58,86	0,90	21,10	78,00
T = 298,2 K										
1	33,08	16,82	8,08	75,10	31,53	2,37	66,10	0,72	14,42	84,86
2	36,13	18,17	8,45	73,38	34,22	1,96	63,82	0,72	15,49	83,79
3	39,81	20,14	8,94	70,92	37,19	1,65	61,16	0,67	17,49	81,84
4	42,84	21,64	9,34	69,02	40,07	1,36	58,57	0,69	18,23	81,08
5	45,05	23,94	9,82	66,24	41,96	1,41	56,63	0,88	19,89	79,23
T = 313,2 K										
1	35,62	17,18	7,97	74,85	34,09	1,92	63,99	0,58	14,00	85,42
2	38,73	19,00	8,45	72,55	36,71	1,65	61,64	0,50	15,40	84,10
3	41,82	20,55	8,89	70,56	39,42	1,44	59,14	0,54	16,83	82,63
4	45,67	22,46	9,39	68,15	42,77	1,24	55,99	0,44	18,39	81,17
5	48,26	24,18	9,84	65,98	44,54	1,09	54,37	0,25	20,25	79,50

Tabela 5: Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de magnésio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W
T = 283,2 K										
1	31,58	18,15	7,78	74,07	31,57	1,58	66,85	2,91	14,85	82,24
2	35,83	20,15	8,29	71,56	34,84	1,15	64,01	2,57	16,72	80,71
3	37,83	21,88	8,77	69,35	37,82	0,83	61,35	3,97	17,71	78,32
4	40,85	23,88	9,30	66,82	41,38	0,62	58,00	4,81	18,82	76,37
5	44,91	26,13	9,90	63,97	44,35	0,40	55,25	4,55	21,21	74,24
T = 298,2 K										
1	33,14	18,52	7,63	73,85	32,94	1,43	65,63	2,50	14,52	82,98
2	36,28	20,09	8,15	71,76	35,90	1,06	63,04	2,79	15,89	81,32
3	39,28	21,99	8,75	69,26	39,05	0,77	60,18	3,45	17,38	79,17
4	43,73	24,05	9,45	66,50	42,46	0,57	56,97	3,19	19,81	77,00
5	46,98	26,20	10,15	63,65	46,00	0,37	53,63	3,90	21,22	74,88
T = 313,2 K										
1	35,88	19,26	7,50	73,24	34,58	1,05	64,37	1,53	15,01	83,46
2	39,67	21,43	8,06	70,51	38,13	0,77	61,10	1,81	16,73	81,46
3	41,73	23,19	8,47	68,34	40,94	0,63	58,43	2,80	17,56	79,64
4	43,27	25,10	8,91	65,99	43,77	0,42	55,81	4,33	18,21	77,46
5	46,83	27,10	9,49	63,41	46,52	0,25	53,23	4,23	20,37	75,40

Tabela 6: Dados de equilíbrio para os sistemas PEG 6000 (w_{PEG}) + Sulfato de zinco (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W	w_{PEG}	w_S	w_W
T = 283,2 K										
1	32,67	18,02	8,64	73,34	28,31	2,40	69,29	0,31	19,24	80,45
2	36,08	19,64	9,21	71,15	32,15	1,88	65,97	0,90	19,92	79,18
3	40,35	21,37	9,77	68,86	34,79	1,35	63,86	0,70	22,94	76,36
4	43,56	23,41	10,40	66,19	38,33	1,15	60,52	1,39	24,23	74,38
5	45,78	24,74	10,83	64,43	40,95	0,81	58,24	1,94	24,76	73,30
T = 298,2 K										
1	33,14	16,96	8,96	74,08	29,31	2,19	68,50	0,29	18,20	81,51
2	36,29	18,87	9,48	71,65	32,14	1,71	66,15	0,76	19,93	79,31
3	40,66	20,95	10,05	69,00	36,43	1,24	62,33	1,29	21,70	77,01
4	45,01	22,51	10,50	66,99	39,63	0,96	59,41	0,35	22,94	76,71
5	47,14	25,02	11,25	63,73	42,99	0,74	56,27	2,28	24,50	73,22
T = 313,2 K										
1	34,72	17,21	9,10	73,69	31,50	1,83	66,67	0,62	17,71	81,67
2	37,60	19,11	9,64	71,25	34,66	1,41	63,93	1,42	18,98	79,60
3	40,66	20,94	10,13	68,93	36,69	1,06	62,25	1,45	21,34	77,21
4	44,23	22,84	10,63	66,53	40,49	0,78	58,73	1,89	22,38	75,73
5	47,33	24,75	11,12	64,13	44,29	0,61	55,10	2,65	23,10	74,25

As tabelas de 1 a 6 também mostram os valores do comprimento de linha (CLA) de amarração para cada linha de amarração (LA). Estes valores de CLA foram calculados pela equação 1 discutida no capítulo 1. A figura 1 mostra a relação entre a composição global do sistema (polímero + sal) e o CLA a 298,15 para todos os sistemas deste capítulo.

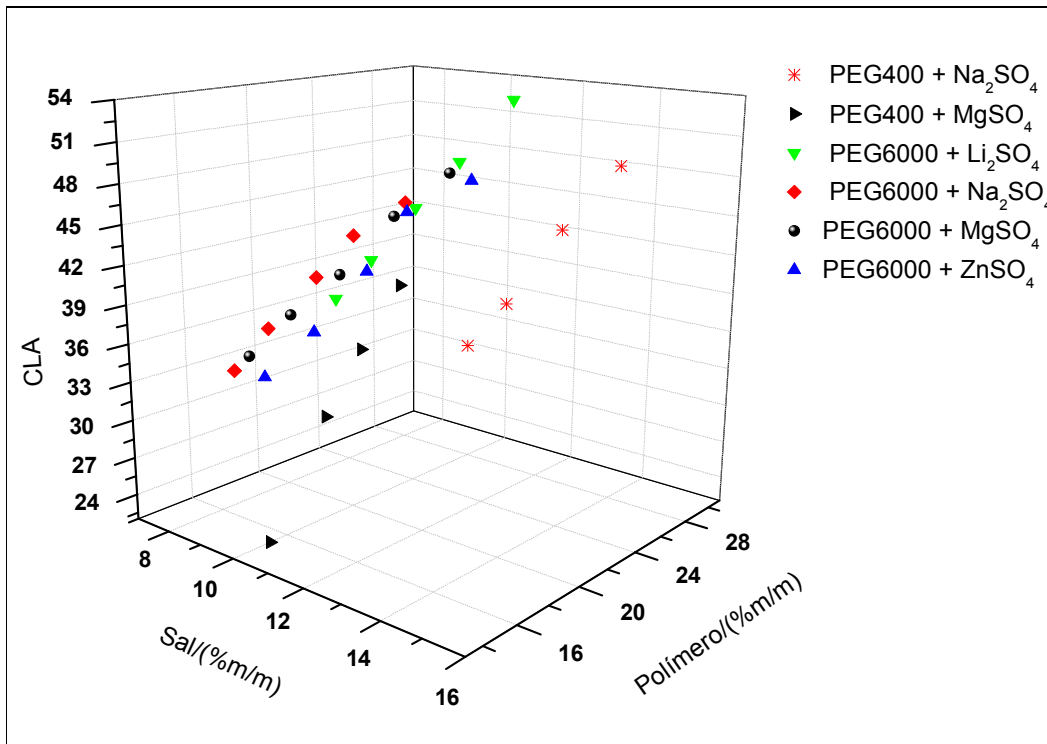


Figura 1: Relação linear entre o CLA x sal x polímero a 298,2 K.

A figura 1 mostra que o aumento simultâneo da composição do polímero e do sal provoca um aumento do CLA. A relação entre as variáveis CLA x sal x polímero é linear e é dado pelas seguintes equações (tabela 7):

Tabela 7: equações obtidas por regressão para cada sistema a 298,2 K.

SISTEMA	EQUAÇÃO	r
PEO 400 + Na ₂ SO ₄	CLA = -36,26 + 3,62[sal] + 1,31[polímero]	0,999
PEO 400 + MgSO ₄	CLA = -150,02 + 23,71[sal] -5,69[polímero]	0,998
PEO 6000 + Na ₂ SO ₄	CLA = -77,12 + 20,63[sal] -3,36[polímero]	0,999
PEO 6000 + MgSO ₄	CLA = -33,93 + 21,64[sal] -5,28[polímero]	0,999
PEO 6000 + Li ₂ SO ₄	CLA = -13,44 + 2,31[sal] +1,37[polímero]	0,999
PEO 6000 + ZnSO ₄	CLA = 121,54 – 28,92[sal] +10,04[polímero]	0,992

As equações encontradas servem como ferramenta para encontrar composições que se deseja um determinado tamanho de comprimento de linha de amarração. Entretanto, o uso destas equações está restrito aos limites experimentais encontrados.

3.2- EFEITO DA TEMPERATURA

A temperatura pode provocar a variação, para mais ou para menos, da região bifásica dependendo do tipo de sistema (polímero + polímero ou polímero + sal). A combinação de PEG 400 + Na₂SO₄ ou MgSO₄ não formam sistema bifásicos em temperaturas menores que 288,2 K e desta maneira optou-se em obter diagramas nas temperatura maiores ou igual a 298,2 K. O motivo da inexistência de duas fases em sistemas formados por PEG 400 + Na₂SO₄ ou MgSO₄ em T < 288,2 K pode ser atribuído a duas causas intimamente interligadas. A primeira causa é devido à

diminuição da solubilidade do sulfato de sódio com a queda da temperatura. A segunda esta atrelada a primeira, pois a baixa massa molecular necessita de uma maior quantidade de sal para separar fase, porém a diminuição da solubilidade do sulfato de sódio vem em desencontro com a relação massa molar x quantidade de sal. Os sistemas de PEG 400 + Na₂SO₄ ou MgSO₄ não sofrem variação da região bifásica com o aumento da temperatura. Este fato indica que há uma variação insignificante da variação da capacidade calorífica das fases e conseqüentemente baixa variação de entalpia associada ao processo de separação.

A inclinação das linhas de amarração para os sistemas PEG 400 + Na₂SO₄ ou MgSO₄ foram calculadas e dispostas na tabela 8:

Tabela 8: Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de PEG 400 + Na₂SO₄ ou MgSO₄.

PEG + Sulfato de sódio + água			
LA	T/K		
	298,2	308,2	318,2
1	-1,63	-1,68	-1,69
2	-1,53	-1,69	-1,65
3	-1,62	-1,64	-1,62
4	-1,59	-1,63	-1,59
PEG + Sulfato de magnésio + água			
LA	T/K		
	298,2	308,2	318,2
1	-1,76	-1,65	-1,69
2	-1,61	-1,60	-1,62
3	-1,66	-1,57	-1,57
4	-1,58	-1,60	-1,62

As inclinações das várias linhas de amarração para os sistemas formados por PEG 400 + Na₂SO₄ ou MgSO₄ se mostraram independentes da temperatura e exibiram paralelismo entre as mesmas. O valor médio da ILA para ambos os sistemas em todas as temperaturas foi de $-1,63 \pm 0,05$. A invariância se deve a baixa hidrofobicidade e massa molar do PEG 400 que diminui significativamente a transferência de moléculas de água entre as fases com o aumento da temperatura.

Os sistemas formados por PEG 6000 + Na₂SO₄, Li₂SO₄, MgSO₄ ou ZnSO₄ não apresentam variação da região bifásica com a temperatura conforme pode ser observado no exemplo abaixo (figura 2):

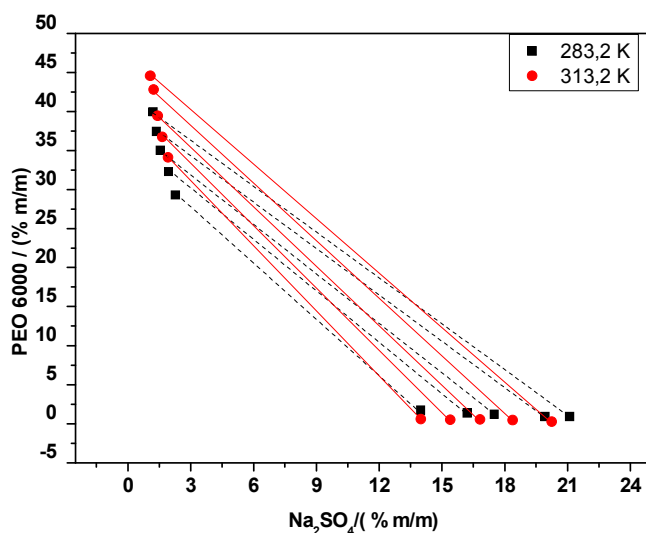


Figura 2: Efeito da temperatura sobre a região bifásica

A figura 2 mostra que não há modificações relevantes na região bifásica para o sistema de PEG 6000 + Na₂SO₄. A ausência do efeito também foi observado para os demais sistemas de PEG 6000 + sal estudados. Apesar da região bifásica não ter se alterado com a temperatura, a inclinação da linha de amarração sofreu

alterações com a variação da temperatura conforme pode ser observado na tabela 9.

Tabela 9: Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de PEG 6000 + Li_2SO_4 , Na_2SO_4 , ZnSO_4 ou MgSO_4 .

PEG 6000 + Sulfato de lítio + água			
LA	T/K		
	283,2	298,2	313,2
1	-2,59	-2,79	-2,92
2	-2,62	-2,78	-2,94
3	-2,51	-2,63	-2,63
4	-2,49	-2,57	-2,74
5	-2,38	-2,53	-2,66

PEG 6000 + Sulfato de sódio + água			
LA	T/K		
	283,2	298,2	313,2
1	-2,35	-2,56	-2,77
2	-2,17	-2,48	-2,63
3	-2,12	-2,30	-2,53
4	-1,97	-2,33	-2,48
5	-1,96	-2,23	-2,31

PEG 6000 + Sulfato de magnésio + água			
LA	T/K		
	283,2	298,2	313,2
1	-2,16	-2,32	-2,37
2	-2,07	-2,23	-2,28
3	-2,01	-2,14	-2,25
4	-2,01	-2,04	-2,22
5	-1,91	-2,02	-2,10

PEG 6000 + Sulfato de zinco + água			
LA	T/K		
	283,2	298,2	313,2

	283,2	298,2	313,2
1	-1,66	-1,81	-1,94
2	-1,73	-1,72	-1,89
3	-1,58	-1,72	-1,73
4	-1,60	-1,79	-1,79
5	-1,63	-1,71	-1,85

Como pode ser observado na tabela 9 a ILA aumenta, se torna mais negativa, com o aumento da temperatura. Este comportamento era esperado, pois o aumento da massa molar do polímero provoca aumento da hidrofobicidade da fase. A variação da ILA se deve ao fato de que o aumento da hidrofobicidade, intensificado pelo aumento de temperatura, promove a migração de moléculas de água de solvatação do polímero da fase superior para a fase inferior. A diminuição de moléculas de água leva ao aumento da concentração de polímero na fase superior e uma pequena diluição da fase inferior e como consequência um aumento ILA.

3.3- EFEITO DA MASSA MOLAR DO POLÍMERO

Foram comparados os sistemas de PEG 400 + Na₂SO₄ e PEG 6000 + Na₂SO₄ a 298,2K para verificação do efeito da massa molar do polímero. Os sistemas de PEG 400 + MgSO₄ e PEG 6000 + MgSO₄ a 298,2K também foram analisados. O efeito da massa molar é mostrado nas figuras 3 e 4

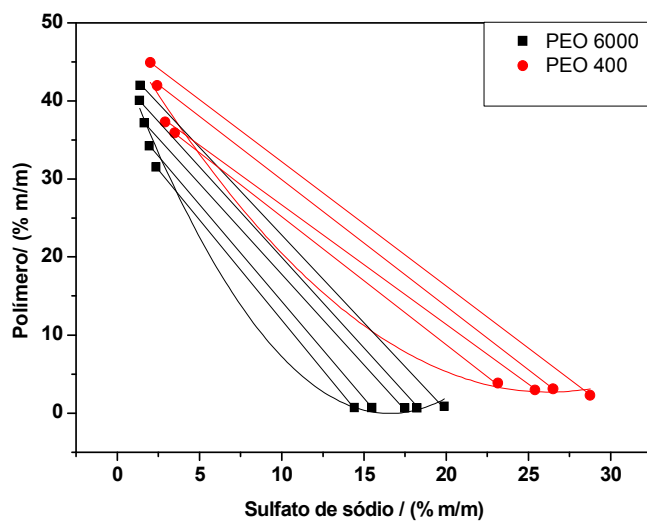


Figura 3: Efeito da massa molar nos sistemas de PEG 400 e PEG 6000 na presença do sal de sulfato de sódio a 298,2K.

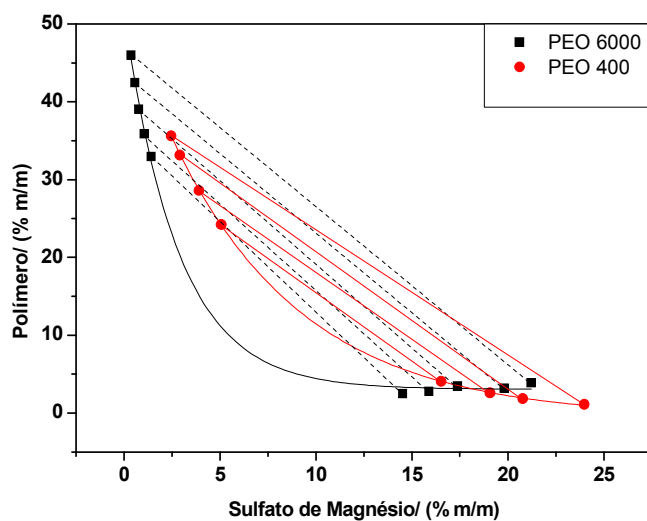


Figura 4: Efeito da massa molar nos sistemas de PEG 400 e PEG 6000 na presença do sal de sulfato de magnésio a 298,2 K.

É possível observar nas figuras 3 e 4 que em ambos os sistemas, Polímeros + sulfato de sódio ou sulfato de magnésio, apresentaram o efeito referente a massa molar do polímero. O PEO 6000 exibe uma região bifásica maior que o PEO 400. O aumento da massa molar do polímero provoca aumento da sua hidrofobicidade contribuindo assim para que o processo de segregação ocorra com menores quantidades de sal e polímero. Entretanto, este não é o único fato que tem influência na região bifásica.

Segundo a teoria de Flory-Huggins uma macromolécula com maior massa molecular implicará numa baixa entropia de mistura da solução. A entropia de mistura esta associada ao número de distribuições espaciais da macromolécula na solução. A relação entre a massa molar do polímero e a entropia de mistura da solução é dada pela equação 21 do capítulo 1.

$$\Delta_{mix}S = -k(n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2) \quad (\text{eq. 21})$$

Em que Φ_1 e Φ_2 são, respectivamente, a fração volumétrica do polímero e do solvente.

Na Equação 21 só são possíveis valores positivos para $\Delta_{mix}S$. Entretanto, esta contribuição da entropia de mistura para a minimização da energia livre de Gibbs diminui com o aumento da massa molar do polímero. Assim, os valores de $\Delta_{mix}S$ envolvendo sistemas contendo macromoléculas serão sempre menores que os valores da variação de entropia associada à mistura de moléculas pequenas, da mesma forma que uma macromolécula do tipo PEO 6000 promoverá um ganho entrópico menor que um polímero como o PEG 400. O modelo de Flory-huggins mostra que há uma pequena variação da entalpia de mistura devido à variação da massa molar do polímero e como o processo de separação de fase em sistemas do

tipo PEO + Sal é endotérmico o sistema irá ser regido exclusivamente pela entropia de mistura e como consequência o PEO 6000 terá uma região bifásica maior quando comparada ao PEG 400.

3.4- EFEITO DO SAL FORMADOR DO SISTEMA

A literatura reporta que os diferentes eletrólitos existentes causam, em geral, a modificação da região bifásica, sendo que cada sal induz a segregação de fase com maior ou menor facilidade. O efeito do cátion sobre a região bifásica para os sistemas de PEG 400 ou PEG 4000 + sal a 298,2 K é mostrado nas figuras 5 e 6.

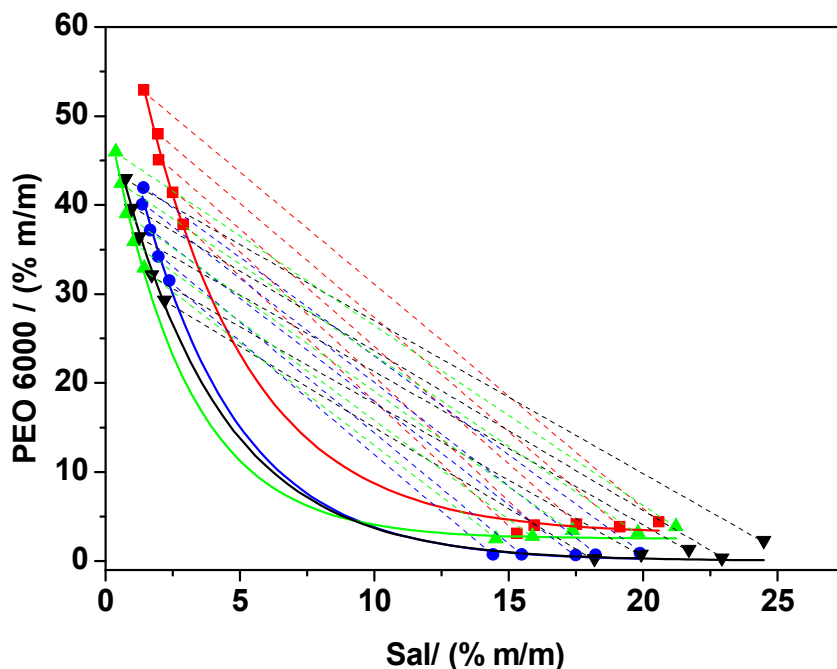


Figura 5: Efeito do cátion sobre a região bifásica para os sistemas de PEO 6000 + sal a 298,15K. (■): Li₂SO₄, (●): Na₂SO₄, (▼): MgSO₄, (▲): ZnSO₄.

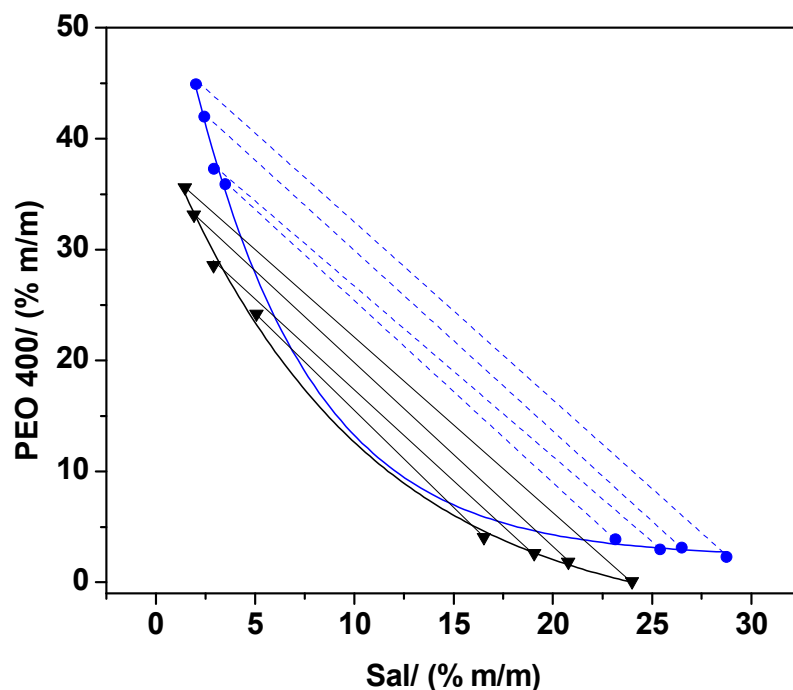


Figura 6: Efeito do cátion sobre a região bifásica para os sistemas de PEO 400 + sal a 298,2K. (●): Na_2SO_4 , (▼): MgSO_4 .

As figuras 5 e 6 mostram que o eletrólito exerce influência na processo de separação. Os sistemas formados por PEO 6000 + sal exibem a seguinte preferência na indução de fase: $\text{ZnSO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{Li}_2\text{SO}_4$. Os sistemas formados por PEO 400 + sal apresentam a seguinte ordem: $\text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$. Esta mesma tendência é observada para todos os sistemas independentemente da temperatura.

Segundo o modelo do pseudo-polication estas diferentes capacidades em induzir a separação de fase esta associada à interação dos cátions com os grupos EO do polímero. O lítio necessita de uma maior quantidade de íons para saturar a macromolécula. Entretanto, esta saturação da macromolécula não deve ser

entendida como uma proporção de um íon/segmento, mas como o máximo de íons possíveis, respeitando as repulsões íon-íon que ocorre entre os cátions e as conformações macromoleculares, interagindo com os sítios do polímero. A densidade resultante de cargas do pseudo-policátion dependerá do balanço da repulsão íon-íon na macromolécula e o número de interações do tipo íon-segmeneto.

A tendência de indução de fase exibida pelos diferentes sais reflete diretamente a questão que envolve a saturação energética devido ao balanço de interações citado anteriormente. Os íons com carga 2+, como o magnésio e o zinco, apresentarão repulsões íon-íon na macromolécula muito mais intensas, diminuindo assim o número de íons necessários para saturar a macromolécula quando comparadas aos íons de carga 1+, como o sódio e o lítio. O interessante é que o resultado final das interações possibilita que uma maior ou menor quantidade do cátion seja necessária para induzir a separação de fase.

Observa-se, por exemplo, que íon magnésio tem maior capacidade de induzir a separação frente ao sódio, todavia isto não é indicativo de que o par de interacional formado por sódio-segmeneto possua uma energia de interação mais forte que o par magnésio-segmeneto porque simplesmente há necessidade de uma maior quantidade de sódio para separar fase. É interessante salientar que não há estudos que mostrem qual a fração de íons presentes na fase superior que estão interagindo diretamente com o polímero e, portanto não há como afirmar qual quantidade exata de íons por macromolécula.

Um importante fato é que para ambas as massas molares houve a mesma ordem para indução de fase, ou seja, o íon magnésio apresenta maior capacidade em induzir a separação de fase frente ao íon sódio. Esta independência da massa

molar na ordem de segregação de fases ocasionadas pelos diferentes eletrólitos reforça a idéia da interação do cátion com o segmento, pois mostra que os mecanismos de formação de pares interacionais são similares e que o processo de separação irá se diferenciar, basicamente, devido à contribuição entrópica ocasionado pela massa molar do polímero.

3.4- CONCLUSÃO DO CAPÍTULO

Foram obtidos novos diagramas de fases de PEG 400 ou PEG 6000 + sais de sulfato em várias temperaturas.

Observou-se que a temperatura não exerce uma influência acentuada sobre a região bifásica, todavia os sistemas de PEG 6000 apresentaram um efeito de transferência de água da fase superior para fase inferior o que aumenta a inclinação da linha de amarração.

O aumento da massa molar do polímero ocasionou a expansão da região bifásica. A causa desta expansão pode estar associada à diminuição do valor da entropia de mistura devido ao aumento do número de vínculos entre os segmentos do polímero.

O eletrólito apresentou as seguintes ordens de preferência em induzir a separação de fase: PEG 6000: $\text{ZnSO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{Li}_2\text{SO}_4$. PEG 400: $\text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$. Estes diferentes comportamentos estão associados às diferentes interações que estes realizam com a macromolécula

CAPÍTULO 4: DIAGRAMAS DE FASE DO TIPO COPOLÍMERO F68 OU L35 + SAL + ÁGUA

4.1- COMPOSIÇÕES DAS FASES

Os dados de composição para os sistemas de L35 + Na₃C₆H₅O₇ + H₂O, L35 + Na₂C₄H₄O₄ + H₂O, L35 + NaNO₃ + H₂O nas temperaturas de 283,2, 298,2 e 313,2 K. Também foram obtidos dados de equilíbrio para os sistemas de F68 + Na₂SO₄ + H₂O, F68 + Li₂SO₄ + H₂O, F68 + ZnSO₄ + H₂O e F68 + (NH₄)₂SO₄ + H₂O nas temperaturas de 278,2, 288,2 e 298,2 K. Os resultados experimentais estão expresso em percentual mássico e se encontram nas tabelas de 1 a 7. Os dados de equilíbrio das tabelas de 1 a 7 mostram que o copolímero tende a se concentrar preferencialmente na fase superior e o sal na fase inferior. A concentração em que os copolímeros se encontram na fase superior provoca a formação de ambientes micelares já que a C.M.C. para os copolímeros F68 e L35 a 298,2 K são, respectivamente, $1,4 \times 10^{-3}$ e $1,3 \times 10^{-2}$ mol.L⁻¹. O sistema formado por L35 + NaNO₃ + H₂O exibe um comportamento bastante interessante no que diz respeito a concentração de sal na fase superior, pois a concentração pode chegar a 17 %m/m. Os sistemas de PEO + NaNO₃ + H₂O também exibem este comportamento. As tabelas de 1 a 7 também mostram os valores de CLA, calculados pela equação 1 do capítulo 1. A exemplo dos sistemas formados por PEO + sais, o aumento da composição global, copolímero e sal, promove o aumento do CLA causando maior diferenças termodinâmicas intensivas entre as fases superior e inferior.

Tabela 1: Dados de equilíbrio para os sistemas de L35 (w_{L35}) + Citrato de sódio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W
T = 283,2 K										
1	33,74	18,68	9,10	72,21	34,74	3,21	62,05	4,19	17,52	78,29
2	38,39	21,97	9,68	68,34	37,60	2,29	60,11	3,77	20,43	75,80
3	42,49	24,67	10,79	64,53	42,75	1,57	55,68	5,82	22,59	71,59
4	49,11	27,40	12,06	60,52	48,69	1,20	50,11	6,28	25,97	67,75
5	53,85	30,43	12,94	56,61	53,60	0,86	45,54	6,99	27,83	65,18
T = 298,2 K										
1	34,78	27,32	5,11	67,67	34,94	2,92	62,14	2,43	15,28	82,29
2	42,16	31,06	5,62	63,32	41,68	2,11	56,21	2,33	17,24	80,43
3	48,18	34,82	6,11	59,07	46,93	1,55	51,52	2,43	20,02	77,55
4	54,84	38,57	6,62	54,81	52,51	1,10	46,39	2,25	23,03	74,72
5	59,48	42,31	7,12	50,57	57,56	0,75	41,69	3,32	25,16	71,52
T = 313,2 K										
1	44,82	18,67	9,10	72,23	45,39	1,67	52,94	2,68	15,25	82,07
2	50,58	22,01	9,67	68,32	50,88	1,25	47,87	2,81	16,97	80,22
3	55,64	24,68	10,78	64,54	55,78	0,93	43,29	3,17	19,03	77,80
4	59,20	27,38	12,06	60,56	59,80	0,67	39,53	4,43	21,63	73,94
5	62,71	30,41	12,94	56,65	63,24	0,49	36,27	5,18	24,20	70,62

Tabela 2: Dados de equilíbrio para os sistemas de L35 (w_{L35}) + tartarato de sódio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W
T = 283,2 K										
1	23,68	20,00	8,21	71,79	26,72	4,48	68,80	6,51	16,82	76,67
2	39,43	22,11	10,21	67,68	37,85	2,57	59,58	2,88	20,78	76,34
3	46,22	25,28	11,32	63,40	42,59	1,89	55,52	2,41	24,73	72,86
4	51,55	28,20	12,13	59,67	46,78	1,49	51,73	2,33	27,59	70,08
5	55,84	30,59	13,39	56,02	52,83	1,18	45,99	4,51	29,16	66,33
T = 298,2 K										
1	40,85	35,99	4,55	59,46	41,06	2,54	56,40	3,02	17,44	79,54
2	48,20	39,92	5,34	54,74	47,57	1,77	50,66	3,13	20,44	76,25
3	52,77	45,04	5,63	49,33	52,67	1,24	46,09	4,55	22,89	72,56
4	58,43	49,66	6,33	44,01	57,39	1,12	41,49	4,24	25,39	70,37
5	69,28	54,62	6,59	38,79	68,25	0,56	31,19	5,82	30,59	63,59
T = 313,2 K										
1	53,65	25,78	9,93	64,29	53,20	1,52	45,28	2,03	17,64	80,33
2	57,19	25,58	11,16	63,26	58,02	1,13	40,85	3,63	18,82	77,55
3	62,29	29,02	12,02	58,96	61,86	0,85	37,29	3,12	21,57	75,31
4	69,07	32,69	12,66	54,65	67,89	0,62	31,49	3,26	24,99	71,75
5	70,63	38,89	14,22	46,89	70,63	0,36	29,01	6,10	29,08	64,82

Tabela 3: Dados de equilíbrio para os sistemas de L35 (w_{L35}) + Nitrato de sódio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W
T = 283,2 K										
1	40,51	21,11	25,13	53,76	38,56	15,79	45,65	2,08	33,41	64,51
2	46,99	23,04	25,61	51,35	43,14	15,20	41,66	0,79	35,55	63,66
3	52,72	25,05	26,22	48,73	48,22	14,39	37,39	1,08	37,99	60,93
4	56,30	26,84	26,78	46,38	51,17	14,00	34,83	0,82	39,18	60,00
5	60,51	28,67	27,34	43,99	53,36	13,80	32,84	0,01	42,35	57,64
T = 298,2 K										
1	46,35	19,16	24,60	56,24	44,88	14,03	41,09	1,71	30,91	67,58
2	50,95	21,28	25,44	53,28	48,71	13,19	38,10	1,71	32,86	65,43
3	56,24	23,12	25,67	51,21	53,11	12,63	34,26	1,30	34,50	64,20
4	61,35	25,14	26,11	48,75	57,35	12,02	30,63	1,01	36,31	62,68
5	62,56	27,14	26,55	46,31	60,06	11,71	28,23	3,20	37,79	59,01
T = 313,2 K										
1	35,95	19,19	24,83	55,98	33,94	17,28	49,60	1,00	31,67	67,33
2	40,26	21,25	25,12	53,63	39,13	16,64	44,23	2,22	32,72	65,06
3	46,04	22,97	25,29	51,74	43,06	15,28	41,66	1,07	34,17	64,76
4	53,71	25,10	26,21	48,69	48,26	14,35	37,39	0,04	38,00	61,96
5	57,77	27,10	26,69	46,21	53,46	13,68	32,86	1,74	39,41	58,85

Tabela 4: Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w_{F68}) + Sulfato de sódio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 278,2 a 298,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W
T = 278,2 K										
1	20,13	10,91	7,06	82,03	20,43	3,77	75,80	1,40	10,34	88,26
2	27,82	12,94	7,68	79,38	25,88	2,57	71,55	0,01	12,79	87,20
3	33,80	15,83	7,94	76,23	31,66	2,01	66,33	0,01	13,86	86,13
4	35,98	17,41	7,96	74,63	34,24	1,61	64,15	0,58	14,31	85,11
5	41,11	18,82	9,69	71,49	37,62	1,40	60,98	0,01	17,99	82,00
T = 288,2 K										
1	23,65	12,52	6,62	80,86	23,81	3,10	73,09	1,23	10,14	88,63
2	29,09	15,19	6,88	77,93	29,04	2,43	68,53	1,34	11,33	87,33
3	34,54	17,58	7,51	74,91	33,94	1,97	64,09	1,23	13,05	85,72
4	38,81	18,93	8,45	72,62	37,12	1,70	61,18	0,73	15,20	84,07
5	42,33	21,13	8,93	69,94	40,93	1,45	57,61	1,33	16,42	82,25
T = 298,2 K										
1	24,67	12,39	5,81	81,80	24,28	2,52	73,20	0,51	9,11	90,38
2	26,53	12,90	6,34	80,76	25,65	2,68	72,67	0,15	10,00	89,85
3	31,94	15,35	6,97	77,68	30,69	2,54	66,77	0,01	11,41	88,58
4	37,42	17,85	7,70	74,45	35,56	1,65	62,79	0,15	13,75	86,10
5	39,89	18,70	8,69	72,61	37,40	1,74	60,86	0,01	15,63	84,36

Tabela 5: Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w_{F68}) + Sulfato de zinco (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W
T = 278,2 K										
1	23,12	11,09	8,51	80,40	21,77	4,10	74,13	0,40	12,93	86,67
2	27,67	12,96	8,86	78,18	25,46	2,93	71,61	0,46	14,79	84,75
3	30,44	13,74	9,51	76,75	27,35	2,70	69,95	0,13	16,32	83,55
4	33,14	16,16	9,39	74,45	31,02	2,06	66,92	1,30	16,72	81,98
5	37,99	16,62	10,82	72,56	33,23	1,60	65,17	0,01	20,04	79,95
T = 288,2 K										
1	16,50	8,52	8,14	83,34	16,18	5,09	78,73	0,85	11,20	87,95
2	25,55	11,63	8,74	79,63	23,21	3,36	73,43	0,04	14,13	86,32
3	28,85	13,91	8,60	77,49	27,04	2,64	70,33	0,77	14,56	84,66
4	33,67	15,24	9,43	75,33	30,43	2,18	67,38	0,04	16,68	83,39
5	38,13	17,01	10,37	72,62	33,98	1,67	64,35	0,04	19,05	81,78
T = 298,2 K										
1	16,69	9,31	7,12	83,57	17,03	3,96	79,01	1,58	10,28	88,14
2	22,66	10,61	7,88	81,51	21,15	3,72	75,13	0,07	12,04	87,89
3	28,74	13,43	8,04	78,53	26,84	2,89	70,27	0,01	13,19	86,80
4	33,32	15,46	8,49	76,05	30,92	2,27	66,81	0,01	14,70	85,29
5	36,92	17,06	8,98	73,96	34,10	1,89	64,01	0,01	16,07	83,92

Tabela 6: Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w_{F68}) + Sulfato de amônia (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W
T = 278,2 K										
1	18,70	10,29	9,36	80,35	18,97	5,89	75,14	1,61	12,83	85,56
2	23,96	11,85	9,63	78,52	22,96	5,13	71,91	0,75	14,12	85,13
3	28,26	13,65	9,79	76,56	26,72	4,42	68,86	0,58	15,15	84,27
4	33,29	16,58	10,17	73,25	31,91	3,68	64,41	1,25	16,66	82,09
5	38,02	17,77	11,38	70,85	35,01	3,37	61,62	0,53	19,38	80,09
T = 288,2 K										
1	19,51	9,25	9,65	81,10	18,20	5,77	76,03	0,30	13,53	86,17
2	26,03	12,34	9,19	78,47	24,54	4,66	70,80	0,14	13,72	86,14
3	29,58	13,88	9,70	76,42	27,65	4,31	68,04	0,10	15,09	84,81
4	32,32	14,52	11,30	74,18	29,04	4,21	66,75	0,00	18,39	81,61
5	41,60	19,16	11,12	69,72	38,32	3,02	58,66	0,00	19,21	80,79
T = 298,2 K										
1	17,05	9,51	8,02	82,47	17,73	5,75	76,52	1,30	10,30	88,40
2	23,66	13,06	7,95	78,99	24,49	4,90	70,61	1,63	11,01	87,36
3	32,93	15,78	8,72	75,50	31,46	3,71	64,83	0,09	13,73	86,18
4	36,25	16,91	10,19	72,90	33,79	3,58	62,63	0,04	16,80	83,16
5	40,04	18,64	11,07	70,29	37,23	3,65	59,12	0,04	18,50	81,46

Tabela 7: Dados de equilíbrio para os sistemas de F68 (w_{F68}) + Sulfato de lítio (w_S) + água (w_W) nas temperaturas de 283,2 a 313,2 K.

LA	CLA	Composição Global			Fase Superior			Fase inferior		
		w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W
T = 278,2 K										
1	31,46	17,51	8,22	74,27	32,58	3,72	63,70	2,43	12,72	84,85
2	35,95	18,75	8,56	72,69	35,80	3,50	60,70	1,70	13,61	84,69
3	40,87	20,70	8,45	70,85	39,95	2,84	57,21	1,44	14,07	84,49
4	42,34	21,05	9,12	69,83	41,01	3,05	55,94	0,99	15,20	83,81
5	42,12	21,59	9,53	68,88	42,44	2,90	54,66	0,75	16,16	83,09
T = 288,2 K										
1	21,82	11,77	7,91	80,32	22,31	5,09	72,61	1,23	10,72	88,04
2	27,13	14,03	7,93	78,04	27,11	4,35	68,53	0,94	11,51	87,55
3	30,64	15,41	8,33	76,26	30,12	4,04	65,84	0,71	12,63	86,67
4	35,01	17,35	8,37	74,28	34,19	3,59	62,23	0,51	13,16	86,33
5	37,36	18,33	8,69	72,98	36,27	3,48	60,25	0,40	13,91	85,69
T = 298,2 K										
1	30,71	15,27	8,84	75,89	30,03	4,60	65,37	0,51	13,08	86,41
2	38,15	18,41	10,68	70,91	36,45	4,49	59,06	0,37	16,88	82,75
3	41,65	19,76	11,47	68,77	39,33	4,33	56,34	0,20	18,60	97,94
4	45,74	21,83	12,29	65,88	43,20	4,14	52,66	0,47	20,45	79,08
5	48,80	22,63	13,29	64,08	45,23	4,08	50,69	0,04	22,50	77,49

Tabela 8: Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de L35 + sais de sódio

L35 + Citrato de sódio + água			
LA	T/K		
	283,2	298,2	313,2
1	-2,11	-2,57	-3,67
2	-1,85	-2,57	-3,28
3	-1,75	-2,27	-2,77
4	-1,70	-2,21	-2,65
5	-1,72	-2,21	-2,45

L35 + Tartarato de sódio + água			
LA	T/K		
	283,2	298,2	313,2
1	-1,62	-2,56	-3,18
2	-1,91	-2,40	-3,06
3	-1,76	-2,26	-2,84
4	-1,70	-2,24	-2,65
5	-1,72	-2,07	-2,25

L35 + Nitrato de sódio + água			
LA	T/K		
	283,2	298,2	313,2
1	-2,07	-2,28	-2,54
2	-2,08	-2,29	-2,37
3	-2,00	-2,22	-2,36
4	-2,00	-2,04	-2,32
5	-1,87	-2,01	-2,18

Tabela 9: Inclinação das linhas de amarração para os sistemas de F68 + Li₂SO₄, Na₂SO₄, ZnSO₄ ou (NH₄)₂SO₄.

F68 + Sulfato de sódio + água			
LA	T/K		
	278,2	288,2	298,2
1	-2,90	-3,21	-3,61
2	-2,53	-3,11	-3,48
3	-2,67	-2,95	-3,46
4	-2,65	-2,70	-2,93
5	-2,27	-2,64	-2,69

F68 + Sulfato de zinco + água			
LA	T/K		
	278,2	288,2	298,2
1	-2,42	-2,51	-2,44
2	-2,11	-2,15	-2,53
3	-2,00	-2,20	-2,60
4	-2,03	-2,10	-2,49
5	-1,80	-1,95	-2,41

F68 + Sulfato de amônio + água			
LA	T/K		
	278,2	288,2	298,2
1	-2,47	-2,30	-3,61
2	-2,46	-2,68	-3,74
3	-2,43	-2,54	-3,13
4	-2,36	-2,04	-2,55
5	-2,15	-2,37	-2,50

F68 + Sulfato de lítio + água			
LA	T/K		
	278,2	288,2	298,2
1	-3,35	-3,74	-3,48
2	-3,25	-3,66	-2,91

3	-3,15	-3,42	-2,74
4	-3,07	-3,52	-2,62
5	-3,80	-3,44	-2,45

4.2- EFEITO DA TEMPERATURA

Conforme discutido em outros capítulos, a temperatura ocasiona ou não a expansão da região bifásica de sistema polímero + sal. Os sistemas formados por copolímeros podem apresentar algumas características diferenciadas em relação aos sistemas formados por outros polímeros como o PEO. Os diagramas formados por F68 + sais de sulfato foram construídos em temperaturas mais baixas, pois a elevação da temperatura promove a formação de um gel.

Em fase líquida, podemos identificar dois regimes, caracterizados por regiões de concentração diferentes: o regime diluído e o semi-diluído. No regime diluído, as concentrações de soluto são inferiores a uma concentração crítica, acima da qual as cadeias se entrelaçam. Acima desta concentração, os efeitos de entrelaçamento provocam uma grande redução na mobilidade das cadeias, resultando uma redução importante na sua velocidade de difusão, bem como um aumento substancial na viscosidade do meio.

Quando a concentração se torna tão elevada que todas as cadeias estão entrelaçadas em qualquer momento, de tal forma que elas formam uma rede tridimensional através do líquido e esta impede o escoamento do líquido, temos um gel (figura 1).

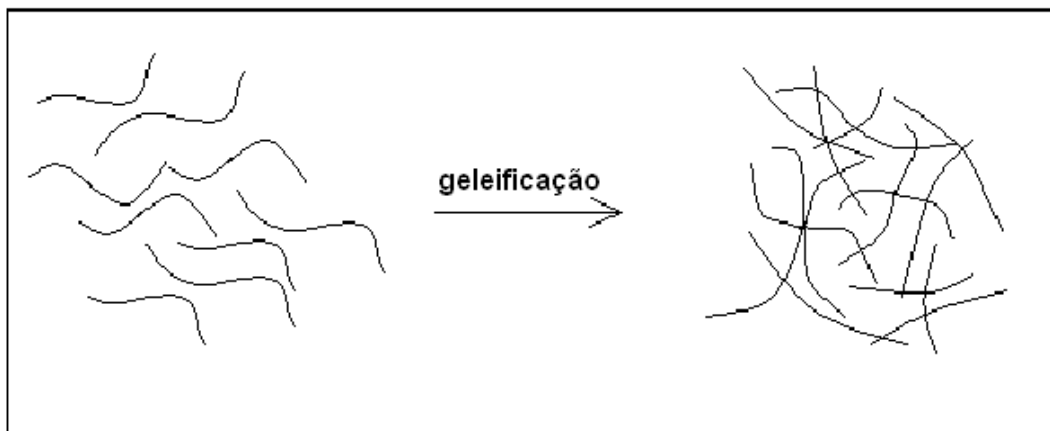


Figura 1: Representação do enlace das cadeias poliméricas no processo de formação de géis.

O aumento da temperatura também promove um maior entrelaçamento das cadeias poliméricas contribuindo significativamente para a formação de géis. O copolímero F68 apresentou a formação de gel na fase superior, o que impossibilitou a formação de uma fase aquosa e, portanto, foi necessário o abaixamento da temperatura para se obter fases superiores aquosas. É importante ressaltar que a capacidade de formação de géis é afetada significativamente pelo tipo e concentração do sal formador do sistema, uma vez que determinados sais como sulfato de lítio exibiram maior tendência de formação de géis em temperaturas mais elevada.

Outro evento físico-químico intensificado pelo aumento da temperatura se refere ao processo de formação de micelas macromoleculares, pois a energia entálpica associada à micelização tem valores positivos, ou seja, endotérmico. Este fato permite afirmar que em temperaturas maiores, quando comparamos uma mesma concentração de polímero e sal, os SAB apresentam um maior quantidade

de micelas para uma mesma quantidade de fase. Esta característica pode contribuir para extração de solutos mais hidrofóbicos.

O aumento da temperatura não provocou alterações de grande magnitude na região bifásica nos sistemas estudados (figuras 2 e 3). Entretanto, a inclinação da linha de amarração sofreu alterações conforme se pode observar nas figuras 2 e 3 e nas tabelas 8 e 9.

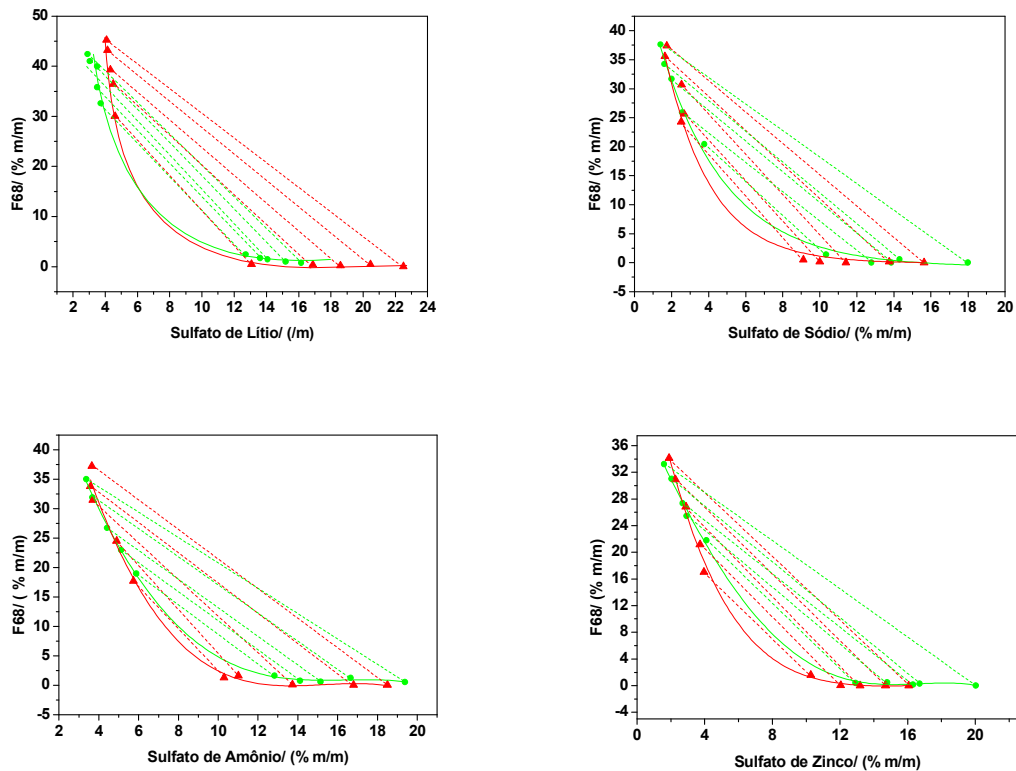


Figura 2: Efeito da temperatura sobre a região bifásica e linha de amarração para sistemas formados por F68 + sais de sulfato. (▲): 298,2K; (●): 278,2K.

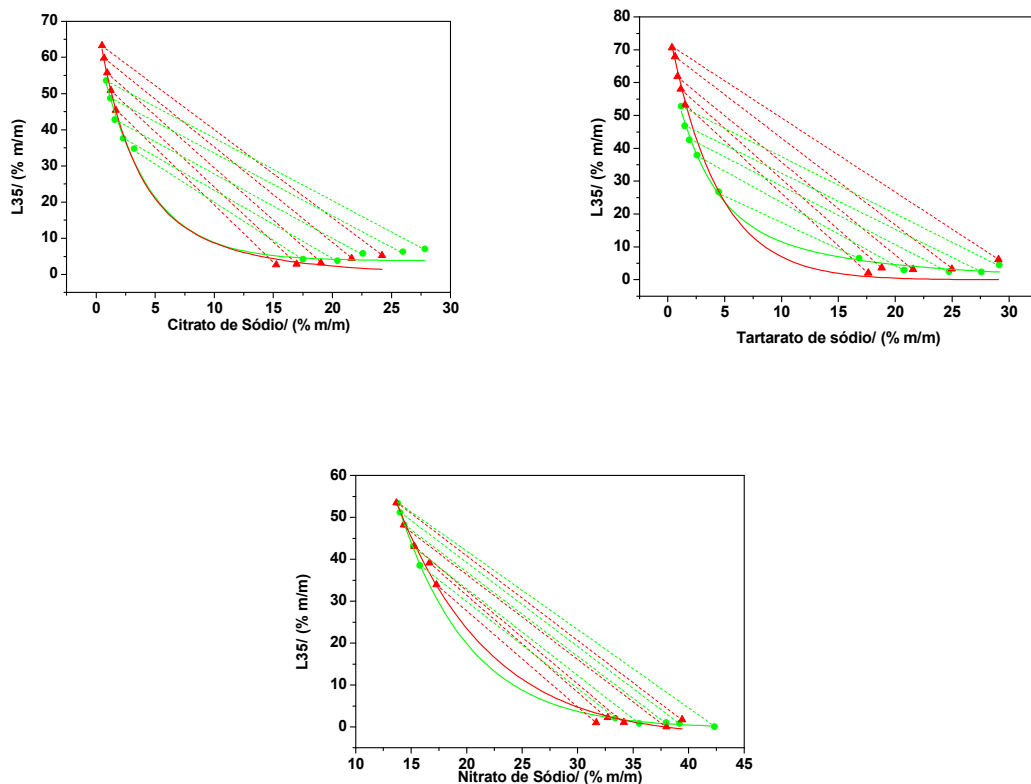


Figura 3: Efeito da temperatura sobre a região bifásica e alinha de amarração para sistemas formados por L35 + sais de sódio. (▲): 313,2K; (●): 283,2K.

A não observância da variação significativa da região binodal implica que a variação entálpica associada ao processo de separação de fases é muito pequena. Se compararmos as inclinações das linhas de amarração dos sistemas formados por copolímero + sais de sulfato e PEO 400 ou PEO 6000 + sais de sulfato conclui-se que os copolímeros apresentam uma maior variação da ILA em função da temperatura. Esta maior variação está associada à maior hidrofobicidade apresentada pelos copolímeros, uma vez que a presença de grupos PO da estrutura pode promover um aumento da hidrofobicidade da fase e com isso uma maior migração de moléculas de água da fase superior para fase inferior e com isto

aumenta-se a ILA. Outro fato observado nas tabelas 8 e 9 está associado ao fato de que o sal pode promover diferentes inclinações em função da temperatura. Na tabela 8 é possível observar, nos sistemas de L35, que os sais de citrato de sódio e tartarato de sódio promovem uma maior variação da ILA quando comparado ao nitrato de sódio. Os ânions com maior densidade de cargas, como o citrato e tartarato, podem ter inúmeras camadas de solvatação, sendo que as camadas mais externas começam a se desfazer com o aumento da temperatura devido ao aumento da energia cinética das moléculas que colidem nestas camadas desfazendo-as e conseqüentemente a interação entre o ânion e o solvente não consegue ser mantida o que conseqüentemente libera maior quantidade de água que pode ser transferida para a fase inferior e assim faz com que ocorra o aumento da ILA. O mesmo efeito ocorre para o ânion nitrato, porém com menor intensidade devido ao fato de que este ânion não possui muitas camadas de solvatação quando comparadas aos ânions com maior densidade de cargas. Na tabela 9 também é possível observar que o aumento da temperatura promove o aumento da ILA para todos os sais com exceção do sulfato de lítio. Experimentalmente observa-se que o sulfato de lítio + F68 promove a formação de gel mais facilmente que os outros sais, inclusive a 298,2K em pontos globais mais altos que os estudados. A diminuição da inclinação com o aumento da temperatura pode estar associada ao aprisionamento de moléculas de água devido ao aumento do enlace das cadeias do polímero e como conseqüência a diminuição de moléculas de água disponíveis para transferência para a fase inferior.

4.3- EFEITO DA MASSA MOLAR E DA HIDROFOBICIDADE

Pela teoria de Flory-Huggins o aumento do número de vínculos da macromolécula promove uma separação de fase com menor quantidade moléculas e como conseqüência desta teoria um sistema formado por PEO 400 + Na₂SO₄ exibirá uma menor região bifásica quando comparado ao sistema PEO 6000 + Na₂SO₄. Observar-se-á que a comparação ocorreu mantendo-se o mesmo sal e mesmo tipo de polímero com alteração apenas da massa molecular. Entretanto, quando o tipo da macromolécula é alterado, como, por exemplo, a mudança de PEO por L35, podem ocorrer fenômenos que vão além do efeito do tamanho da macromolécula. As figuras 4 e 5 estabelece uma comparação do efeito da massa molar e da hidrofobicidade sobre a região bifásica.

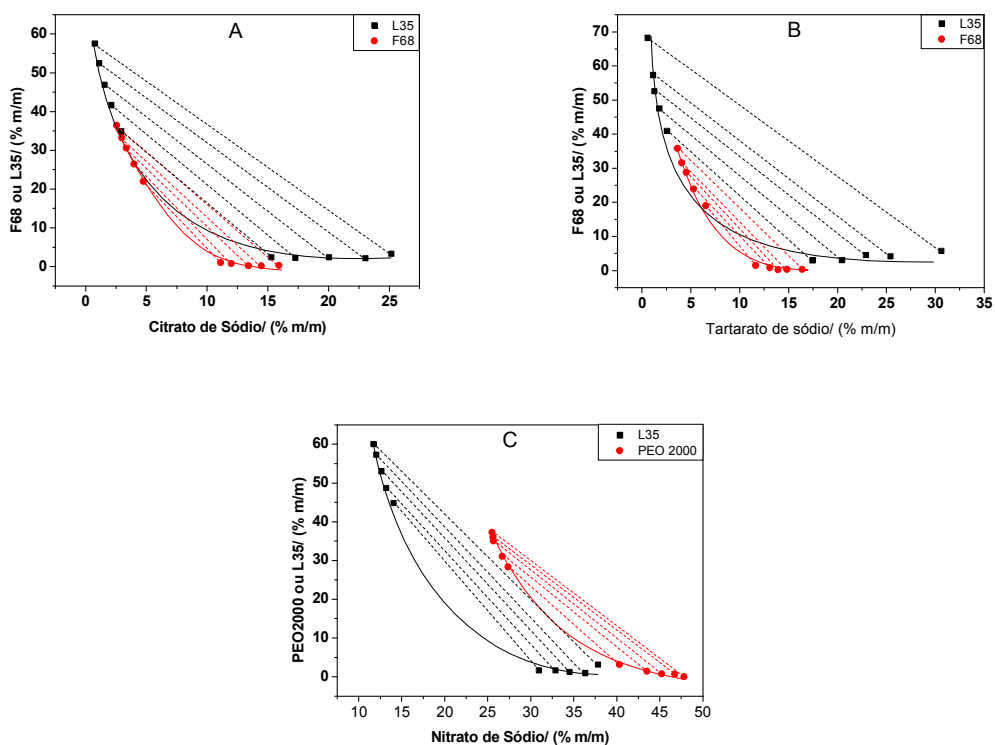


Figura 4: Efeito da massa molar e do tipo de macromolécula sobre a região bifásica. Comparação com sistemas do tipo F68 ou L35 + citrato ou tartarato; PEO 2000 ou L35 + nitrato a 298,2K.

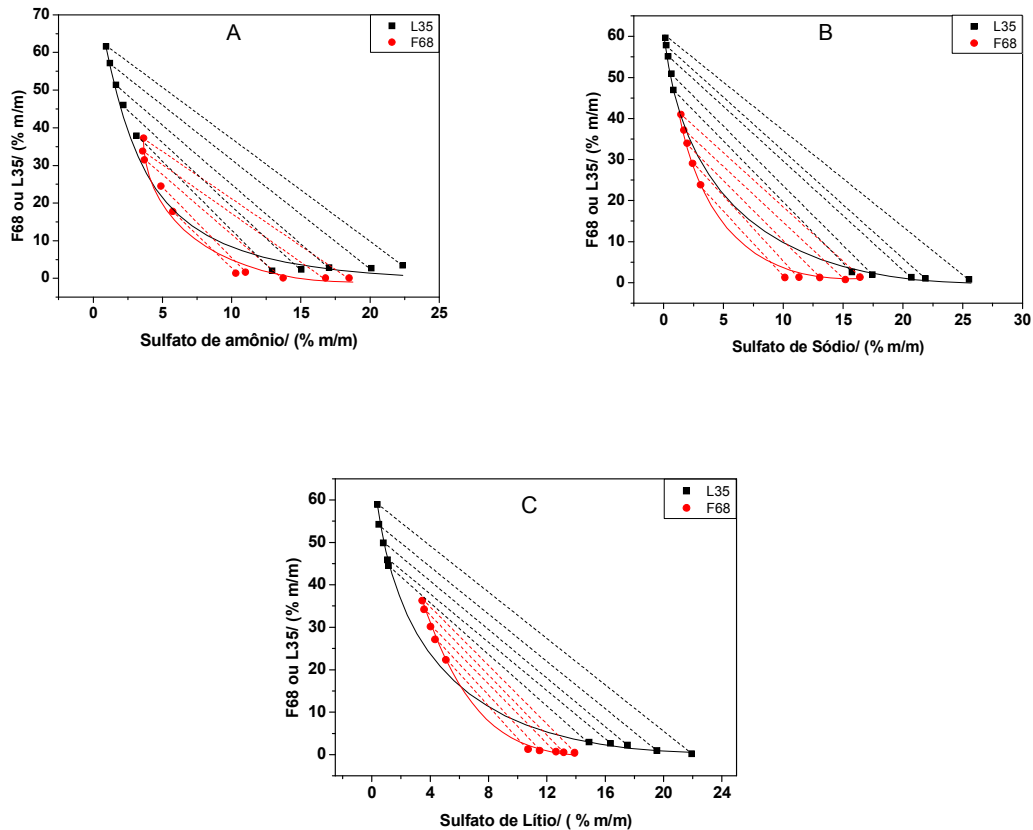


Figura 5: Efeito da massa molar e do tipo de macromolécula sobre a região bifásica. Comparação com sistemas F68 ou L35 + sais de sulfato a 298,2K.

As figuras 4A e 4B e 5 mostram que o F68 por ter maior massa molecular exibe uma maior região bifásica ligeiramente maior que o L35. Esta pequena diferença esta associada diretamente aos balanços EO/PO da macromolécula que modifica a hidrofobicidade do copolímero. O L35 é mais hidrofóbico que F68, pois o percentual de grupos EO na macromolécula é cerca de 50%, enquanto que no F68 este percentual é cerca de 80%. Apesar de a massa molar ser um fator que faria o F68 tivesse uma região bifásica mais generosa em relação ao L35, o efeito da maior hidrofobicidade do compensa a menor massa molecular que ele possui fazendo com que haja expansão de sua área bifásica.

A fim de mostrar o efeito causado pela hidrofobicidade foram comparados os sistemas de PEG 2000 + Nitrato e L35 + Nitrato (Figura 4 C). O L35 possui massa molar (1950 g.mol^{-1}) ligeiramente menor que PEG 2000, porém o que se observa é que a região bifásica do sistema formado por L35 é bem superior ao sistema de PEG 2000. Isto mostra que a presença de PO na macromolécula contribui significativamente para o processo de separação de fase.

Para os sistemas formados F68 ou L35 + sulfato de amônio ou lítio praticamente não há diferenças entre as regiões bifásicas. É importante relembrar que aumento da concentração do F68 e do sal promove a formação de gel e por isso a região bifásica em que o sistema permanece com duas fases líquidas é sempre maior para o L35, que não induz a formação de gel. É claro que nem todas as regiões acima da linha binodal formam exclusivamente duas fases (líquidas ou gel), uma vez que há um limite máximo de sal e polímero em que há permanência duas fases. Após este limite há formação de uma terceira fase, porém esta é caracterizada por ser sólida formada basicamente por sal.

4.4- EFEITO DO SAL FORMADOR DO SISTEMA

O efeito do ânion sobre a região bifásica nos sistemas formados por L35 + sais de sódio pode ser observado na figura 6.

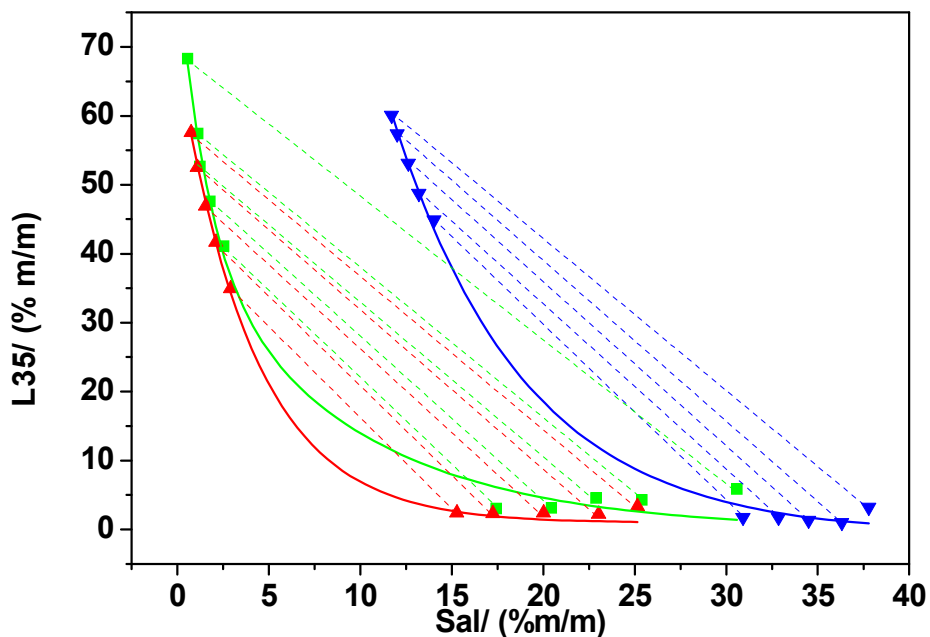


Figura 6: Efeito do ânion sobre a região bifásica. (▲): Citrato; (■): Tartarato; (▼): Nitrito a 298,2K.

Os ânions são capazes de induzir o processo de separação de fase de maneira diferente uns dos outros conforme pode ser observado na figura 6. O ânion citrato apresenta uma ligeira maior capacidade de separação de fase mediante o ânion tartarato que por sua vez apresenta uma capacidade muito maior induzir a separação de fase frente ao nitrito de sódio. A ordem observada na capacidade em induzir a separação de fase é independente da temperatura e segue a ordem: Citrato > Tartarato > Nitrito. Esta mesma ordem, Citrato > Tartarato, é observada para sistema os sistema formados por F68, porém o efeito do citrato sobre a região bifásica é mais acentuado. A diminuição da diferença entre citrato e tartarato no L35 está diretamente associada à maior hidrofobicidade deste polímero frente ao F68.

As diferentes capacidades dos ânions em induzir a separação de fase podem ser interpretadas através da interação destes ânions com os grupos EO e PO do polímero através do cátion. A maior interação com a macromolécula implica em maior quantidade sal para ocorrer à separação de fase. Desta forma o ânion nitrato possui maior interação com o polímero seguido do tartarato e depois o citrato. Uma explicação plausível para esta ordem esta relacionada à estabilização das nuvens eletrônicas destes ânions e densidade de cargas dos mesmos. O nitrato apresenta três estruturas de ressonância o que diminui a interação com polímero, porém seu pequeno tamanho e pequena carga fazem com que as repulsões entre os ânions que estão interagindo via cátion com o polímero seja bem menor que os ânions citrato e tartarato e desta forma é possível haver um maior número íons nitrato interagindo com polímero. O citrato e o tartarato possuem duas estruturas de ressonância por grupo COO^- que também contribuem para diminuir a interação com o polímero. A realização de ligações de hidrogênio devido à presença de grupos OH em suas estruturas também diminuem sua interação (figura 7), porém o citrato apresenta maior volume molar e maior densidade de cargas quando comparado ao tartarato e desta forma as repulsões ânion-ânion na cadeia polimérica reduz o número de ânions citrato interagindo com a macromolécula frente ao tartarato e conseqüentemente uma menor quantidade sal é necessária para promover a separação de fase.

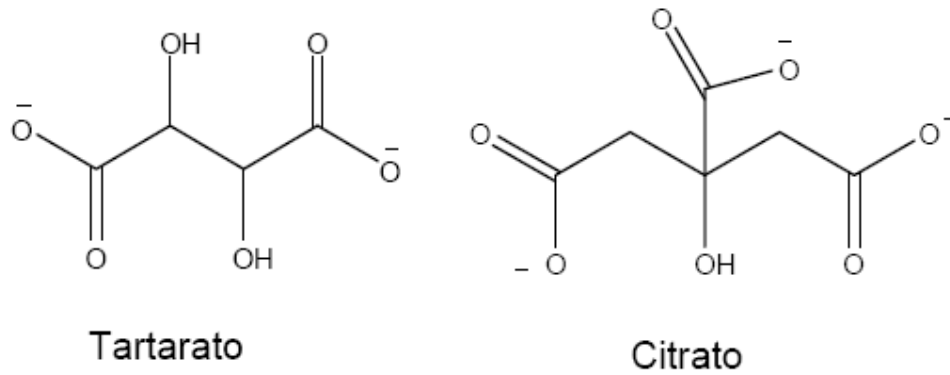


Figura 7: Estruturas dos ânions citrato e tartarato.

O efeito do cátion nos diagramas de F68 + sulfatos é mostrado na figura 8.

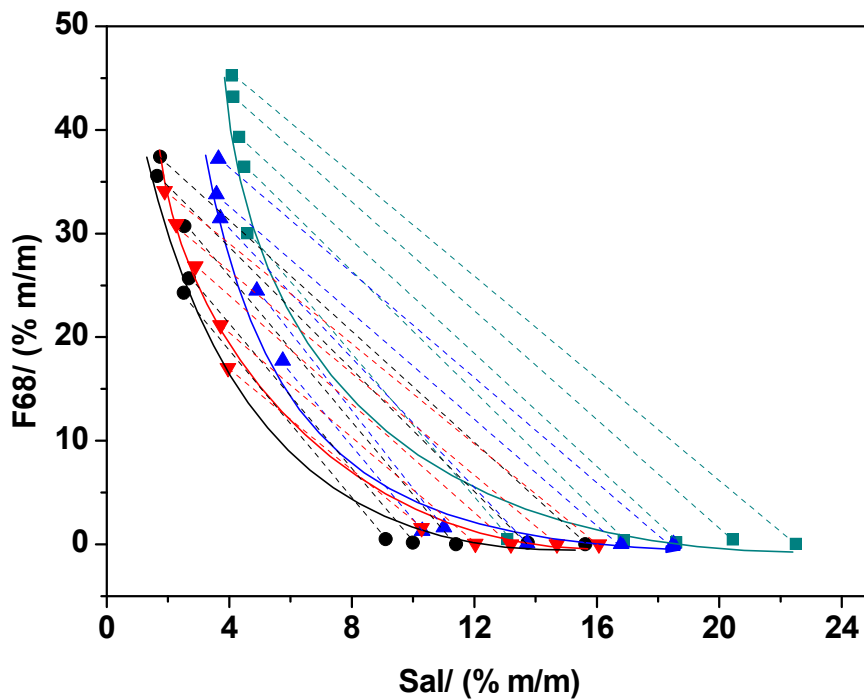


Figura 8: Efeito do cátion sobre a região bifásica. (●): Sódio; (▼): Zinco; (▲): Amônio; (■): Lítio a 298,2K.

A figura 8 mostra que há uma tendência em induzir a separação de fase que a seguinte ordem: $\text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{ZnSO}_4 > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{Li}_2\text{SO}_4$. Esta tendência foi observada em todas as temperaturas estudadas. Os sistemas formados por PEO 6000 + sulfatos mostram uma inversão em relação ao sódio e zinco, uma vez que o zinco nestes sistemas tem uma ligeira maior tendência em separar fase. Este fato pode estar relacionado às diferentes interações entre o sódio e grupos PO.

O modelo do pseudo-polication se desenvolveu baseado em medidas executadas com o polímero PEG, porém este modelo pode ser expandido para entender o mecanismo de formação de SAB para todos os tipos de polímero. O polímero F68 possui grupos EO e PO e é razoável admitir que a interação dos cátions ocorre com ambos os segmentos. Entretanto, devido a maior hidrofobicidade dos PO, os cátions devem interagir mais fortemente com grupos EO e por este fato o comportamento dos sistemas de F68 deve se assemelhar ao PEG, pois a grande maioria dos grupos do F68 são de EO. Deste modo a interpretação dada ao efeito do cátion em sistemas formados por PEG pode ser aplicada aos copolímeros e as diferenças encontradas devem ser interpretadas como fruto da diferente interação dos cátions com os PO.

4.5- CONCLUSÃO DO CAPÍTULO

Foram construídos novos diagramas formados por L35 + sais de sódio e F68 + sais de sulfato em várias temperaturas. As concentrações de copolímero encontradas nas fases superiores atestam que estes sistemas formam ambientes micelares, que é de extrema importância para extração de solutos hidrofóbicos.

A temperatura influencia a transferência de moléculas de água entre as fases o que gera alteração na inclinação da linha de amarração. O copolímero F68 apresenta formação de gel em concentrações mais altas, sendo que este processo é intensificado com o aumento da temperatura.

A hidrofobicidade do polímero afeta região bifásica e em alguns casos praticamente anula o efeito produzido pela massa molecular do polímero.

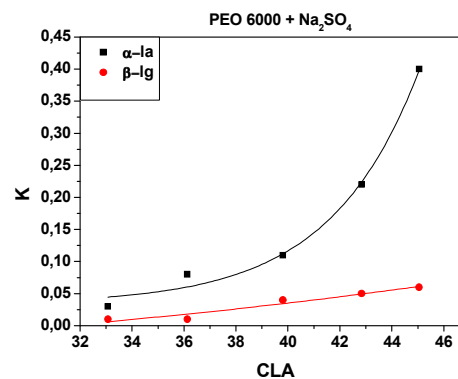
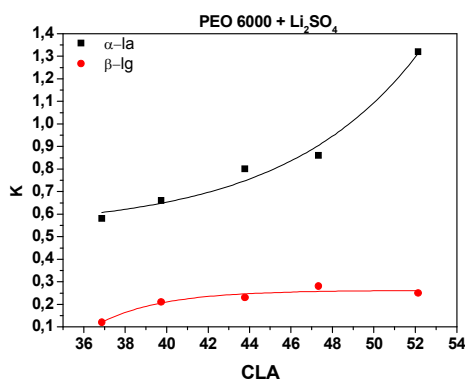
Os ânions apresentaram uma ordem específica no processo de separação de fase como se segue: $C_6H_5O_7^{-3} > C_4H_4O_4^{-2} > NO_3^-$. Os cátions também apresentaram uma preferência no processo de separação de fase: $Na^+ > Zn^{+2} > NH_4^+ > Li^+$. As diferenças na preferência em indução de fases encontradas entre PEO e F68 podem ser atribuídas às diferentes interações que os cátions realizam com os grupos PO.

CAPÍTULO 5: PARTIÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS

5.1- COMPORTAMENTO GERAL DE PARTIÇÃO

Foram realizados experimentos de partição com as proteínas α -lactoalbumina e β -actoglobulina em sistemas aquosos bifásicos formados por PEG 1500 ou 6000 + Li_2SO_4 , Na_2SO_4 ou MgSO_4 + H_2O a 298,2 K. Os procedimentos utilizados na partição foram previamente descritos no capítulo 2.

O comportamento de partição encontrado revela um comportamento diferenciado entre as duas proteínas. A α -lactoalbumina apresentou maior coeficiente de partição que a β -lactoglobulina em todos os sistemas estudados. As figura 1 e 2 ilustra este comportamento.



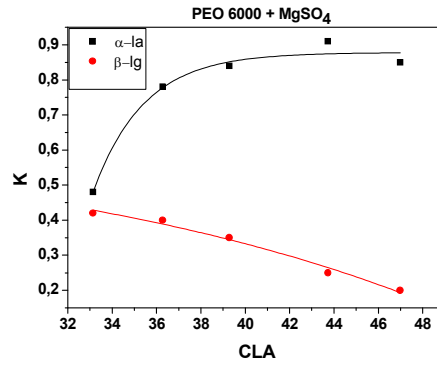


Figura 1: Comportamento de partição das proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina em sistemas de PEO 6000 a 298,2K.

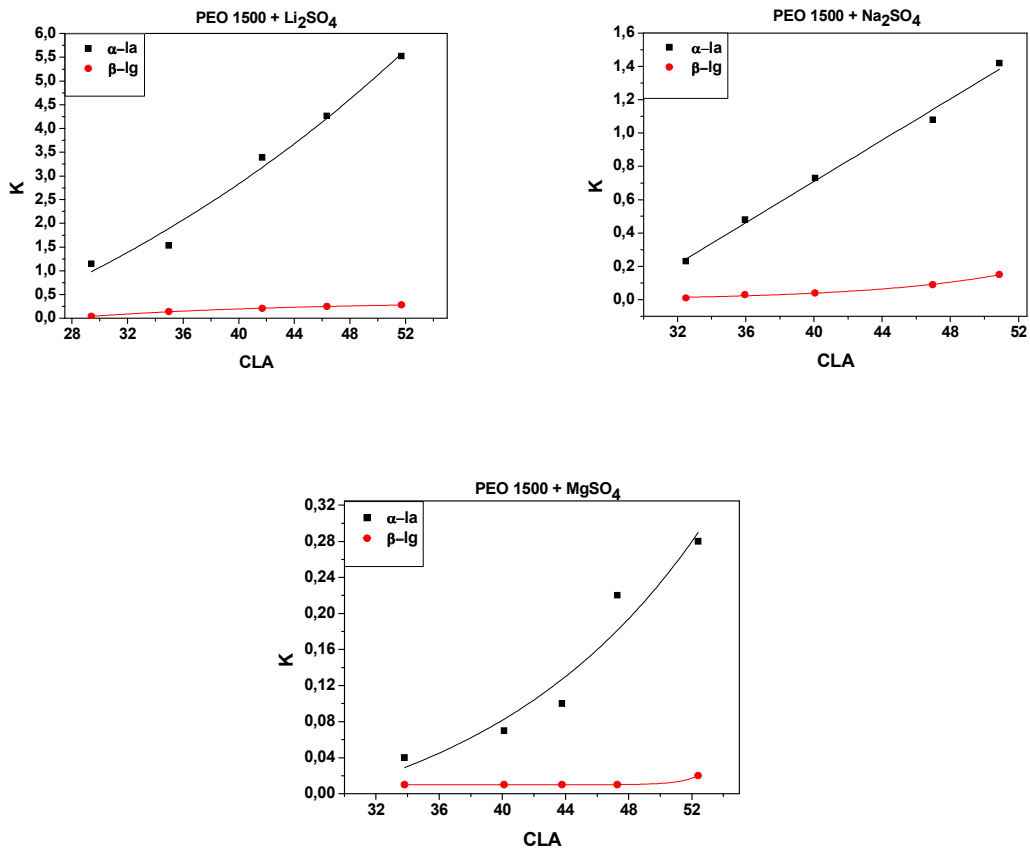


Figura 2: Comportamento de partição das proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina em sistemas de PEO 1500 a 298,2K.

As figuras 1 e 2 ilustram o comportamento de partição para ambas as proteínas, sendo que a α -lactoalbumina exibe coeficientes de partição maiores quando comparada a β -lactoglobulina em todos os sistemas estudados. Cabe salientar que esta comparação é feita levando-se em consideração o mesmo sistema e CLA. O aumento da diferença das propriedades intensivas entre as fases promove, em geral, um aumento da transferência de ambas as proteínas para a fase rica em polímero com exceção da β -lactoglobulina no SAB PEO 6000 + $MgSO_4$. O coeficiente de partição da α -lactoalbumina segue padrões de crescimento exponencial em função do CLA, enquanto a β -lactoglobulina se mantém com coeficientes de partição bem modestos em função do CLA. Este comportamento é muito importante, pois possibilita a separação das proteínas no soro de leite.

É conhecido na literatura que a α -lactoalbumina se concentra preferencialmente na fase superior e a β -lactoglobulina tem preferência pela fase inferior [71]. Alguns autores afirmam que a diferença de comportamento entre as proteínas esta associada à diferença de hidrofobicidade entre elas [70]. Estudos mostram que a β -lactoglobulina exibe maior hidrofobicidade que a α -lactoalbumina, porém os resultados experimentais de partição apontam que a hidrofobicidade não é o fator dominante no processo de transferência, pois caso a diferença de hidrofobicidade fosse o fator responsável pela partição, a β -lactoglobulina exibiria coeficientes de partição maiores que a α -lactoalbumina. As pesquisas envolvendo estas proteínas se limitam a expressar os resultados experimentais sem propor possíveis causas para este comportamento antagônico entre estas proteínas.

5.2- EFEITO DO ELETRÓLITO E MASSA MOLAR DO POLÍMERO

Estudos envolvendo diferentes tipos de soluto, como proteínas e complexos metálicos, mostram que o sal exerce grande influência no comportamento de partição [5,25]. Alguns trabalhos de partição envolvendo sais de sulfato de lítio, sódio ou magnésio mostram que estes sais produzem diferentes comportamentos de partição em solutos como íons metálicos ou proteínas, sendo que em muitos destes trabalhos o sal de sulfato de lítio se apresenta como o eletrólito que causa maior transferência de determinados solutos para a fase superior [94]. O efeito destes eletrólitos sobre a partição das proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina podem ser vistos nas figuras de 3-6:

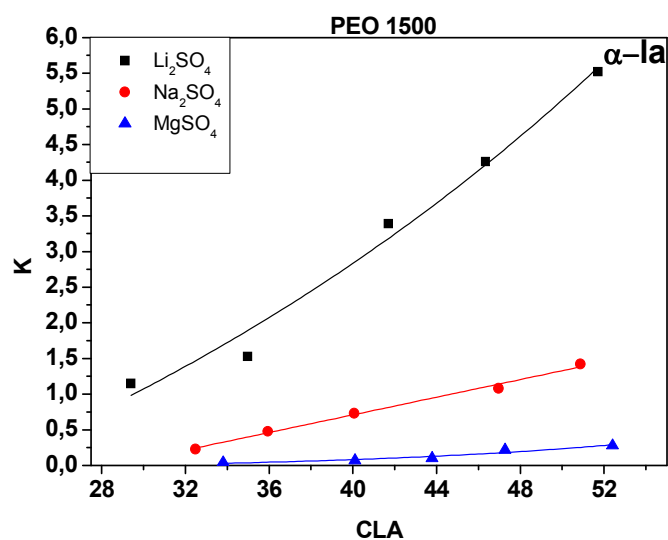


Figura 3: Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da α -lactoalbumina em sistemas de PEO 1500 + sais de sulfato.

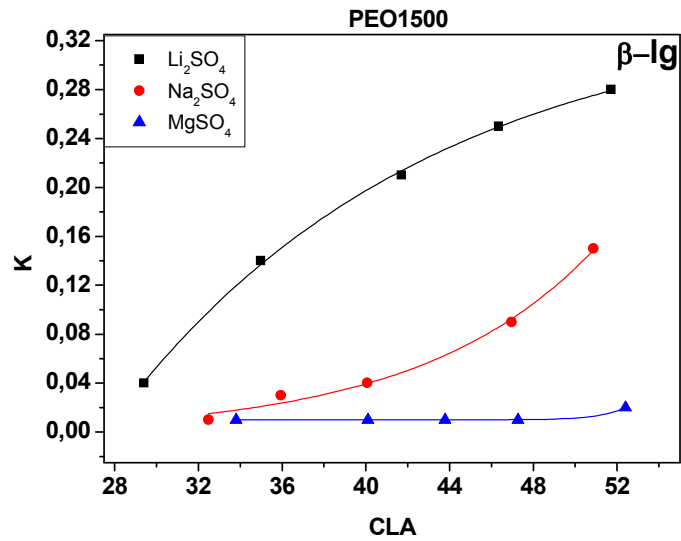


Figura 4: Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da β -lactoglobulina em sistemas de PEO 1500 + sais de sulfato.

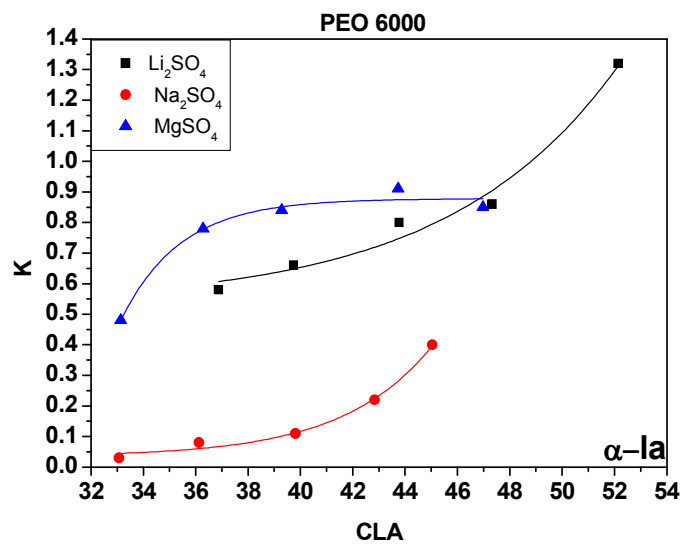


Figura 5: Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da α -lactoalbumina em sistemas de PEO 6000 + sais de sulfato.

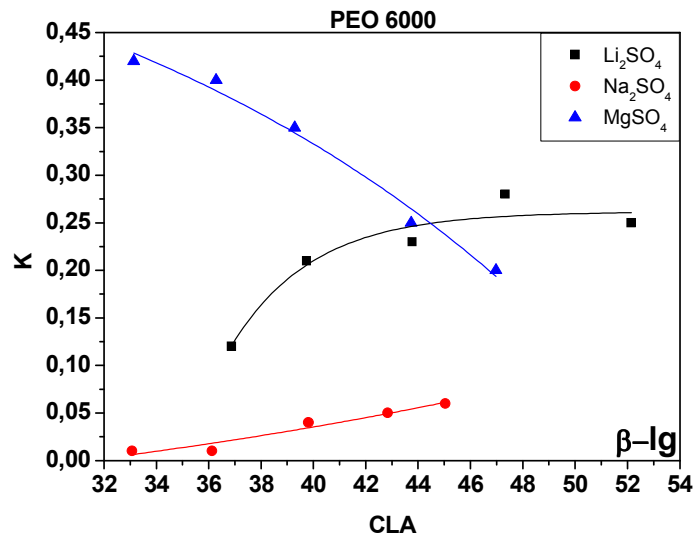


Figura 6: Efeito do tipo eletrólito sobre a partição da β -lactoglobulina em sistemas de PEO 6000 + sais de sulfato.

Como pode ser observado nas figuras 3 e 4 os sistemas formados por PEO 1500 + sulfatos exibem diferentes coeficientes de partição de modo que os coeficientes de partição seguem a seguinte ordem para ambas as proteínas: $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{Mg}^{+2}$. Entretanto, as figuras 5 e 6 mostram uma tendência diferente para os sistemas formados por PEO 6000 + sulfatos. A figura 5 e 6 exibem um comportamento para as duas proteínas em que a diminuição do CLA faz com que o coeficiente de partição siga seguinte ordem: $\text{Mg}^{+2} > \text{Li}^+ > \text{Na}^+$, porém o aumento do CLA promove a seguinte inversão: $\text{Li}^+ > \text{Mg}^{+2} > \text{Na}^+$. Em algumas curvas o aumento do CLA não promove variação do coeficiente de partição, como por exemplo, na figura 6 do sal sulfato de lítio. Este comportamento é indicativo de indisponibilidade de mais sítios de interação.

O modelo do pseudo-polication pode auxiliar, em parte, na compreensão destas ordens. A ordem exibida pelos eletrólitos nos sistemas formados pelo PEO

1500 também foi encontrada nos estudos de partição de complexos metálicos [94]. A formação do pseudo-polication com alta densidade de cargas positivas é um dos fatores que contribuem para a transferência de solutos carregados negativamente para a fase superior, pois estes SAB de PEO 1500 ou PEO 6000 tem suas fases com pH em torno de 7 o que confere a estas proteínas uma carga negativa [62,69], 69. Este modelo auxilia na explicação no qual outros estudos mostram que o aumento do pH promoveu maior transferência das proteínas para fase superior. O aumento do pH promove uma densidade de carga mais negativa sobre a superfície das proteínas [72]. Portanto, a macromolécula com maior densidade de cargas positivas promoverá maior atração eletrostática entre a proteína e o pseudo-polication.

O comportamento de partição destas proteínas nos SAB's deve ser compreendido em termos das interações intermoleculares que ocorrem no processo de transferência. As interações polímero-polímero, polímero-solvente, polímero-íon, polímero-proteína, proteína-íon, proteína-solvente e íon-íon são dependentes do tipo e estrutura polimérica; das concentrações de sal e do polímero; da hidratação das cadeias poliméricas, das proteínas e dos íons; do tamanho e valência dos cátions e ânions. O balanço destas diferentes interações, entálpicas e entrópicas, define o comportamento de partição. Todas estas interações são expressas no parâmetro termodinâmico chamado de energia livre de Gibbs de transferência, $\Delta_{tr}G^{\circ}$, relacionado ao coeficiente de partição pela relação clássica, $\Delta_{tr}G^{\circ} = -RT \ln K$. Os cálculos de variação de energia livre de transferência para estas proteínas podem ser visto nas figuras 7 e 8.

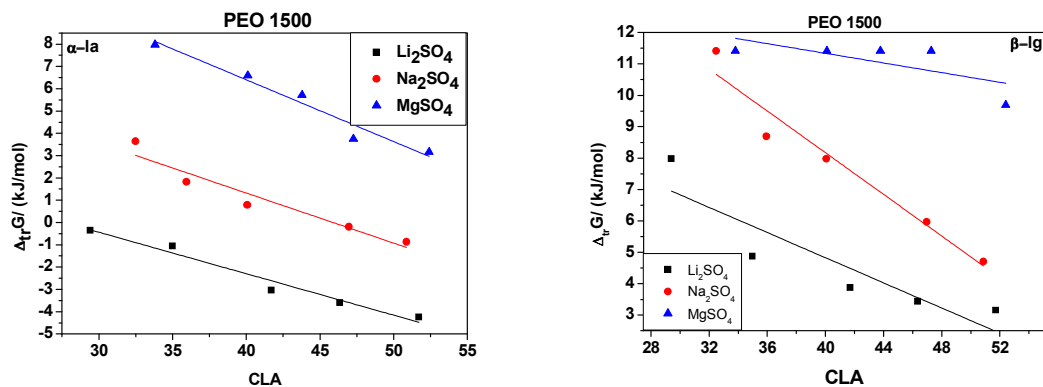


Figura 7: Variação de energia livre de transferência das proteínas em PEO 1500 + sulfatos.

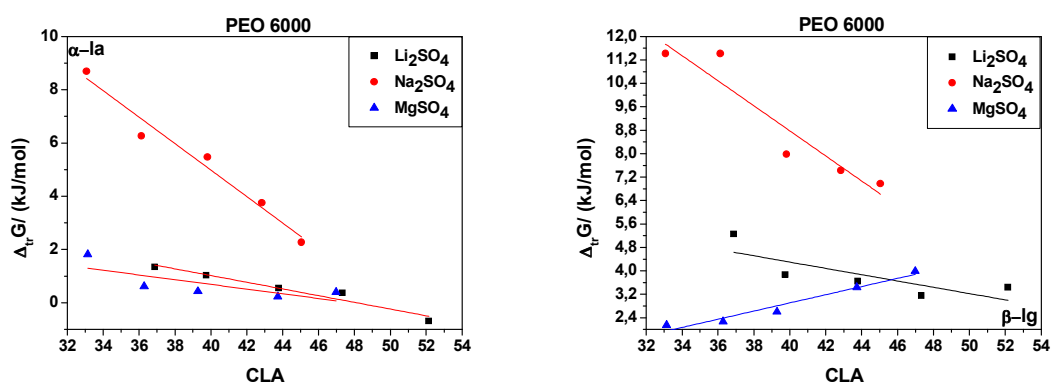


Figura 8: Variação de energia livre de transferência das proteínas em PEO 6000 + sulfatos.

As figura 7 e 8 mostra que a transferência das proteínas da fase inferior para a superior é um processo energeticamente desfavorável na maioria dos sistemas estudados, porém os sistemas tendem a minimizar a energia livre de transferência com o aumento do CLA. Este fato indica que há interações favoráveis na fase superior principalmente na presença de maior quantidade de polímero.

Os sistemas formados PEO 1500 + Li₂SO₄ mostram que o processo de transferência das proteínas para a fase superior é energeticamente favorável.

É importante ressaltar que o valor calculado de $\Delta_{tr}G^\circ$ para as proteínas pode ser analisado através da equação proposta por Haynes, em que os balanços entálpicos e entrópicos são devidamente explicitados:

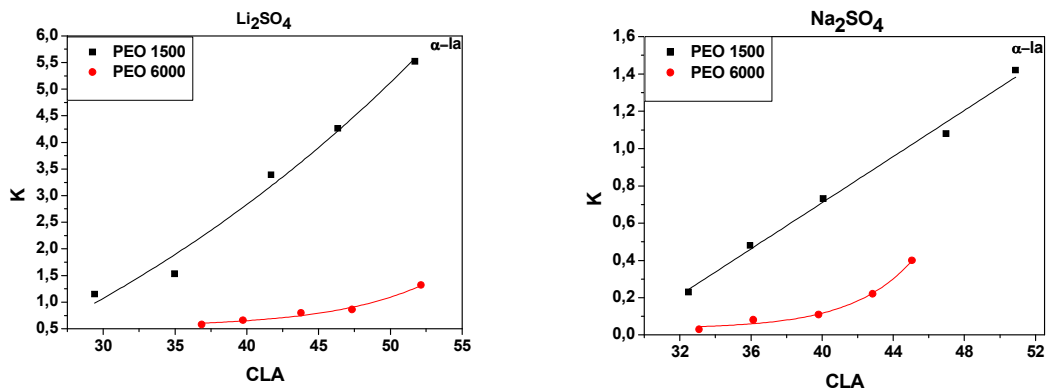
O termo, $[\sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (\phi_i^S \phi_j^S - \phi_i^I \phi_j^I) w_{ij}]$, do modelo de Haynes mostra exatamente o parâmetro que correlaciona o conteúdo entálpico de cada fase, sendo que a proteína vai para fase em que haja menor gasto de energia para abrir uma cavidade. A proteína α -lactoalbumina apresenta massa molar (14.176 g.mol⁻¹) menor que a β -lactoglobulina (18.283 g. mol⁻¹) e desta forma seria mais fácil que a proteína de maior tamanho, β -lactoglobulina, se transferisse majoritariamente para a fase superior, pois a diferença energética (energia de cavidade da fase inferior – energia de cavidade da fase superior) para se abrir um cavidade será maior para a β -lactoglobulina. Entretanto, observa-se experimentalmente que α -lactoalbumina exibe maior transferência para a fase superior e, portanto a auto-energia da fase não é o termo responsável pelos distintos comportamentos de partição.

A contribuição entrópica deste modelo é expressa pelo termo $(\frac{n^S}{V^S} - \frac{n^I}{V^I})$ e mostra que se a causa da partição for de origem entrópica a proteína irá se transferir para a fase com maior densidade numérica. Como a fase inferior dos SAB's formados por polímero+eletrólito é a que possui maior número de moléculas, este deverá ser o destino da proteína. Pode-se, então, inferir que a β -lactoglobulina tem seu comportamento de partição regido basicamente pela entropia, supondo que

a interação β -lg-sal < β -lg-polímero, enquanto a α -lactoalbumina, em alguns sistemas apresenta comportamento de partição entalpicamente dirigido ($K > 1$).

O primeiro termo da equação de Haynes, $[\sum_{i=1}^3(\phi_i^S - \phi_i^I)w_{is}]$, mostra que as proteínas irão se transferir para a fase cujo componente o qual ele interage mais fortemente estiver em maior quantidade. Como a fase superior é extremamente rica em macromoléculas e o coeficiente de partição da α -lactoalbumina aumenta à medida que a concentração de polímero aumenta, pode-se afirmar que o componente com que esta proteína mais interage é a macromolécula e que esta interação é intensificada pelo sal formador no sistema segundo ordem encontrada. A β -lactoglobulina por ter uma interação fraca com o polímero permanecerá na fase inferior onde possui maior entropia configuracional.

O efeito da massa molar do polímero sobre a partição é mostrado nas figuras 9 e 10.



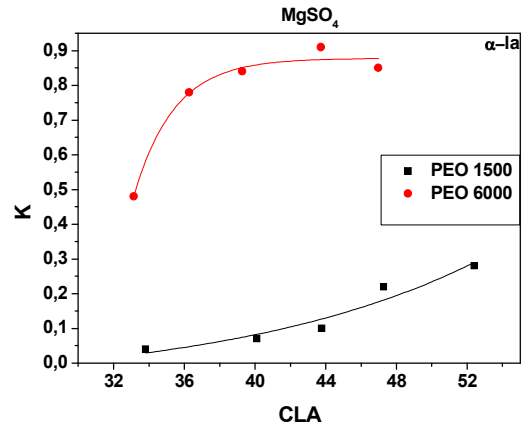


Figura 9: Efeito da massa molar sobre a partição da α -lactoalbumina.

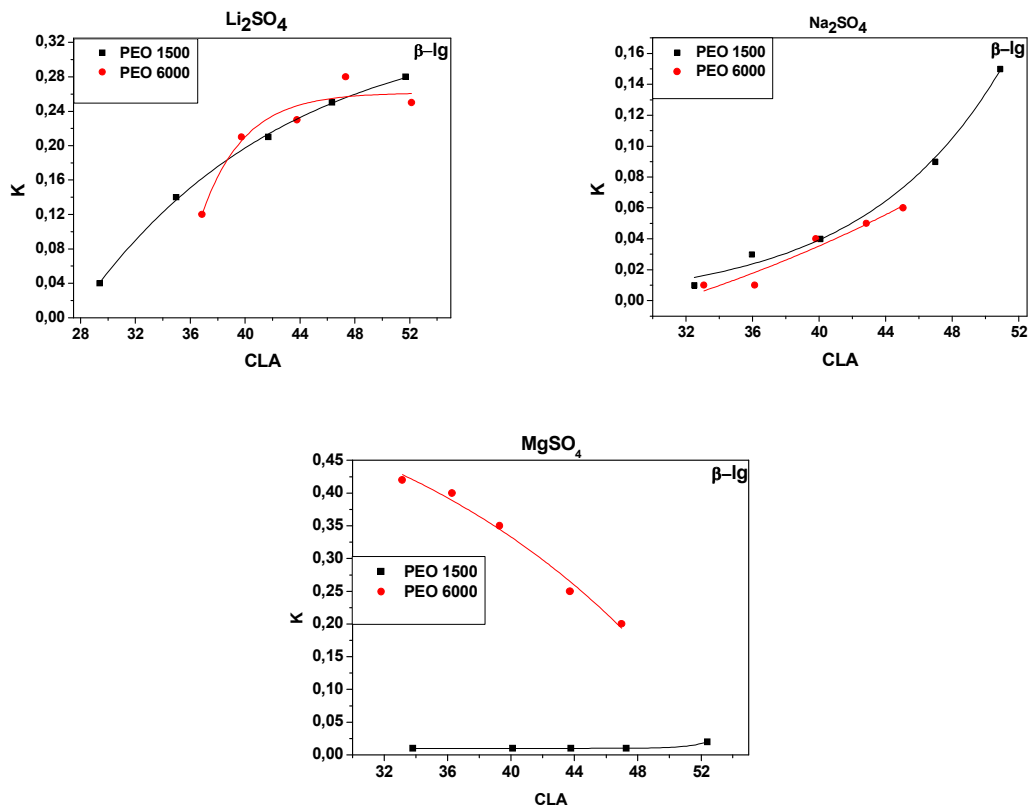


Figura 10: Efeito da massa molar sobre a partição da β -lactoglobulina.

A figura 9 mostra que o aumento da massa molar promove a diminuição do coeficiente de partição da α -lactoalbumina para os sistemas formados pelos sais de lítio e sódio, com exceção para o sal de magnésio. Esta diminuição do coeficiente de partição com aumento da massa molar esta associada a diminuição do número configurações na fase superior o que diminui o número de sítios na fase superior justificando assim o comportamento apresentado pelos sistemas formados por lítio e sódio. Todavia, esta diminuição de sítios pode ser compensada ou mesmo superada se a macromolécula se abrir disponibilizando sites de interação com polímero que antes estavam inacessíveis devido ao seu enovelamento em solução. O que se sugere é que o comportamento exibido pelo sal de magnésio seja fruto da maior abertura da macromolécula ocasionado pelo íon magnésio.

A β -lactoglobulina praticamente não exibiu efeitos de massa molar os sistemas formados, com exceção para o sal de magnésio. A β -lactoglobulina exibe uma maior hidrofobicidade frente à α -lactoalbumina e como consequência do aumento da massa molar do polímero produz-se uma fase ligeiramente mais hidrofóbica em relação a massas moleculares menores impulsionando uma maior transferência da β -lactoglobulina para a fase superior o que compensa o efeito da diminuição de sítios justificando assim o não aparecimento de um efeito mais pronunciado da massa molar.

5.3- CONCLUSÃO DO CAPÍTULO

Foi realizado o estudo de partição das proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina em sistemas aquosos bifásicos formados por PEO 1500 ou PEO 6000 + Li_2SO_4 , MgSO_4 ou Na_2SO_4 .

A proteína α -lactoalbumina apresentou coeficientes de partição maiores que a β -lactoglobulina em todos os sistemas estudados.

O sal formador do sistema promove diferença de comportamento de partição para ambas as proteínas sendo que os sistemas formados por PEO 1500 + sulfatos exibem a seguinte ordem de impulsão das proteínas para fase superior: $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{Mg}^{+2}$. Entretanto, para os sistemas formados por PEO 6000 + sulfatos a ordem encontrada com o aumento do CLA foi: $\text{Li}^+ > \text{Mg}^{+2} > \text{Na}^+$. O aumento da massa molar promoveu a diminuição da partição da α -lactoalbumina, sendo este comportamento descrito na literatura, enquanto que para a β -lactoglobulina praticamente não houve alteração da partição, com exceção, para ambas as proteínas, do sal de magnésio onde o coeficiente de partição houve uma grande elevação ao aumentar a massa molar do polímero.

A possível causa do comportamento exibido pelo sal de sal magnésio pode estar associado à abertura da macromolécula de maior massa molecular disponibilizando assim mais sítios para interação entre a proteína e o polímero.

O comportamento antagônico de uma proteína em relação a outra propicia a utilização de SAB para separação destas proteínas em soro “in natura”.

CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO GERAL E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6.1- CONCLUSÃO GERAL

Foram construídos inúmeros diagramas ternários constituídos por PEO 400 + sais de sulfato (sódio e magnésio); PEO 6000 + sais de sulfato (sódio, lítio, zinco e magnésio); L35 + sais de sódio (Citrato, tartarato e nitrato); F68 + sais de sulfato (lítio, sódio, zinco e amônia). Os diagramas foram construídos em diversas temperaturas, sendo possível mostrar que não há grande variação da região bifásica. Entretanto, a inclinação da linha de amarração sofre aumento com o aumento da temperatura, principalmente nos copolímeros onde há maior hidrofobicidade, indicando transferência de moléculas de águas da fase superior para inferior. Uma forte dependência da natureza do eletrólito foi observada em todos os tipos de sistemas estudados através da alteração da região bifásica. De maneira geral o aumento da massa molar promove o aumento da região bifásica, porém este efeito é minimizado devido ao efeito de maior hidrofobicidade do polímero.

Os estudos de partição das proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina foram investigados e verificou-se que os coeficientes de partição têm forte dependência em relação ao eletrólito formador do sistema, sendo que os sais de lítio juntamente com o PEO 1500 exibem os maiores coeficientes. A α -lactoalbumina apresenta coeficientes de partição maiores que o da β -lactoglobulina em todos os sistemas estudados. O aumento da massa molar ocasionou a diminuição da partição da α -lactoalbumina, porém não casou grandes variações da partição da β -lactoglobulina, com exceção do sal de magnésio para ambas as proteínas. Este

comportamento diferenciado do sal de magnésio sugere que este promove maior abertura da macromolécula disponibilizando mais sítios de interação e consequente aumento da partição das proteínas.

Como sugestão para trabalhos futuros indica-se a construção de diagramas do tipo polímero-polímero com copolímeros para propiciar a partição de solutos hidrofóbicos que não suportam um meio com alta força iônica.

Sugere-se também ampliar os estudos com as proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina no sentido de se verificar os efeitos da temperatura, da hidrofobicidade sobre a partição destas proteínas com o intuito final de se aplicar a metodologia desenvolvida no soro “in natura” visando à extração e separação destas de ambas as proteínas.

6.2- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- 1) Nameroff, T. J.; Garant, R. J.; Albert, M. B.; *Res. Policy* **2004**, 33, 959.
- 2) Lenardão, E. J.; Freitag, R. A.; Dabdoub, M. J.; Batista, A. C. F.; Silveira, C. C.; *Quím. Nova* **2003**, 26, 123.
- 3) da Silva, M. C. H.; da Silva L. H. M.; Paggioli, F. J.; *Anal. Sci.* **2005**, 21, 933.
- 4) da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *Quím. Nova* **2006**, 29, 1332.
- 5) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Amim-Junior, J.; Martins, J. P.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *Sep. Purif. Technol.* **2008**, 60, 103.
- 6) Jayapal, M.; Regupathi, L.; Murugesan, T.; *J. Chem. Eng. Data* **2007**, 52, 56.
- 7) Silva, T. M.; Minim, L. A.; Maffia, M. C.; Coimbra, J. S. R.; Minim, V. P. R.; da Silva, L. H. M.; *J. Chem. Eng. Data* **2007**, 52, 1649.
- 8) Kyu, T.; Zhuang, P.; Mukherjee, P.; *Pol. Assoc. Struct.* **1989**, 16, 266.
- 9) Silvério, S. C.; Madeira, P. P.; Rodriguez, O.; Teixeira, J. A.; Macedo, E. A.; *J. Chem. Eng. Data* **2008**, 53, 1622.
- 10) Sé, R. A. G.; Aznar, M.; *J. Chem. Eng. Data* **2002**, 47, 1401.
- 11) Perumalsamy, M.; Murugesan, T.; *J. Chem. Eng. Data* **2009**, 54, 1359.
- 12) Beijerinck, M. W. *Zbl.Bakt.* **1896**, 627, 698.
- 13) Beijerinck, M. W. *Kolloid-Z.* **1910**, 7, 16.
- 14) Ostwald, W.; Hertel, R. H. *Kolloid-Z.* **1929**, 47, 258.
- 15) Ostwald, W.; Hertel, R. H. *Kolloid-Z.* **1929**, 47, 357.
- 16) Dobry, A; Boyer-Kawenoki, F. *J. Polymer Sci.* **1947**, 2, 90.
- 17) Dobry, A. *Bull.soc.chim.Belg.* **1948**, 57, 280.

- 18) Albertsson, P. A. *Partition of Cell Particles and Macromolecules*, 2nd ed., Wiley-Interscience: New York, **1971**.
- 19) Picó, G.; Romanini, D.; Nerli, B.; Farruggia, B.; *J. Chrom. B* **2006**, 830, 286.
- 20) Eiteman, M. A.; Gainer, J. L.; *Biotechnol. Prog.*, **1990**, 6, 479.
- 21) Rosa, P. A. J.; Azevedo, A. M.; Aires-Barros, M. R.; *J. Chrom. A* **2007**, 1141, 50.
- 22) Mohamadi, H. S.; Omidinia, E.; *J. of Chrom. B* **2007**, 854, 273.
- 23) Zvarova, T. I.; Shkinev, V. M.; Vorobeva, G. A.; Spivakov, B. Y.; Zolotov, Y. A.; *Mikrochim. Acta* **1984**, 3, 449.
- 24) Braas, G.; Walker, S.; Lyddiatt, J.; *J. Chrom. B* **2000**, 743, 409.
- 25) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R.; *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112, 11669.
- 26) Rodrigues, G. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R.; *Sep. Purif. Technol.* 2008, 62, 687.
- 27) Martins, J. P.; Mageste, A. B.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Patrício, P. R.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *J. Chem. Eng. Data* **2009**, 54, 2891.
- 28) Martins, J. P.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Senra, T. D. A.; Ferreira, G. M. D.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *J. Chem. Eng. Data* **2009**, ASAP.
- 29) Zaslavsky, B. Y. *Aqueous Two-Phase Partitioning Physical Chemistry and Bioanalytical Applications*; Marcel Dekker: New York, **1994**.
- 30) Elias, H.G.; *Macromolecules: Structure and Properties 1*, Plenum Press, **1977**.
- 31) Shimin, Z.; *J. Math. Chem* **2005**, 38, 141.
- 32) Bailey, F. E.; Koleske, J. V.; *Alkylene Oxides and Their Polymers*; Marcel Dekker Inc, **1991**.

- 33) Harris, J. M.; *Poly(ethylene glycol) chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*; Plenum Press, **1992**.
- 34) Martins, J. P.; de Oliveira, F. C.; Coimbra, J. S. R.; da Silva, L. H. M. da Silva, da Silva, M. C. H.; do Nascimento, I. S. B.; *J. Chem. Eng. Data* **2008**, 53, 2441.
- 35) Zafarani-Moattar, M. T.; Samadi, F.; Sadeghi, R.; *J. Chem. Thermodyn.* **2004**, 36, 871.
- 36) Sadeghi, R.; Ziamajidi, F.; *Fluid Phase Equilibr.* **2006**, 249, 165.
- 37) Lopes, J. R.; Loh, W.; *Langmuir* **1998**, 14, 750.
- 38) Loh, W.; *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*; Marcel Dekker, **2002**.
- 39) Fredrickson, G. H.; Bates, F. S.; *Annu. Rev. Matter. Sci.* **1996**, 26, 501.
- 40) Chu, B. *Langmuir* **1995**, 11, 414.
- 41) Alexandridis, P.; Hatton, T. A. *Colloids Surf., A* **1995**, 96, 1.
- 42) Jansson, J.; Schillen, K.; Olofsson, G.; da Silva, R.C.; Loh, W.; *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 82.
- 43) Booth, C.; Atwood, D.; *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, 21, 501.
- 44) Beezer, A.E.; Mitchell, J.C.; Rees, N.H.; Armstrong, J.K.; Chowdhry, B.Z.; Leharne, S.; Buckton, G.; *J. Chem. Res* **1991**, 9, 254.
- 45) Beezer, A.E.; Loh, W.; Mitchell, J.C.; Royall, P.G.; Smith, D.O.; Tute, M.S.; Armstrong, J.K.; Chowdhry, B.Z.; Leharne, S.A.; Eagland, D.; Crowther, N.J. *Langmuir* **1994**, 10, 4001.
- 46) Alexandridis, P.; Hatton, T. A.; *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* **1995**, 96, 1.
- 47) Alexandris, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A.; *Macromolecules* **1994**, 27, 2414.

- 48) Blokzijl, W.; Engberts, J. B. F. N.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1545.
- 49) Chandler, D.; *Nature* **2005**, *437*, 640.
- 50) Hummer, G.; Garde, S.; Garcia, A. E.; Paulaitis, M. E.; Pratt, L. R.; *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 10472.
- 51) Mikheev, Y. A.; Guseva, L. N.; Davydov, E. Y.; Ershov, Y. A.; *J. Phys. Chem. A* **2007**, *81*, 1897.
- 52) Flory, P. J.; *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, **1953**.
- 53) Al-Saigh, Z. Y.; *Polymer*, **1999**, *40*, 3479.
- 54) Venohr, H.; Fraaije, V.; Strunk, H.; Borchard, W.; *Eur. Polym. J.*; **1998**, *34*, 723.
- 55) Kratochvíl, P.; *Classical Light Scattering from Polymer Solutions*, Elsevier, **1987**.
- 56) Petri, H.-M.; Wolf, B. A.; *Macromolecules*, **1994**, *27*, 2714.
- 57) Petri, H.-M.; Shuld, N.; Wolf, B. A.; *Macromolecules*, **1995**, *28*, 4975.
- 58) Johansson, H. O.; Karlstrom, G.; Tjerneld, F.; Haynes, C. H. *J. Chromatogr. B* **1998**, *711*, 3.
- 59) da Silva, L. H. M.; Loh, W. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10069.
- 60) Bock, C. W.; Markham, G. D.; Katz, A. K.; Glusker, J. P.; *Theor. Chem. Acc.* **2006**, *115*, 100.
- 61) Pieter, W.; Wouters, J. T. M.; Geurts, T. J.; *Dairy Science and Technology*, New York: Taylor & Francis Group, **2006**.
- 62) Walstra, P.; Geurts, T. J.; Noomen, A.; Jellema, A.; Boekel, M. A. J. S. *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza: Editorial Acribia, **2001**.

- 63) Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H.; Dairy Chemistry and Biochemistry, Ireland: Blackie Academic & Professional, **1998**.
- 64) Bramaud, C.; Aimar, P.; Davee, G.; *Biotechnol. Bioengin.* **1997**, 56, 391.
- 65) Chatterton, D. E. W.; Smithers, G.; Roupas, P.; Brodkoba, A.; *International Dairy Journal* **2006**, 16, 1229.
- 66) Mezzaroba, L. F. H.; Carvalho, J. E.; Ponezi, A. N.; Antônio, M. A.; Monteiro, K. M.; Possenti, A. Sgarbieri, V. C.; *International Dairy Journal* **2006**, 16, 1005.
- 67) Troullier, A.; Reinstadler, D.; Dupont, Y.; Naumann, D.; Forge, V.; *Nature Struct. Biol.* **2000**, 7, 78.
- 68) Nope, W.; Haezebrouck, P.; Hanssens, I.; Cuyper, M. D.; *Bioseparation* **1999**, 8, 153.
- 69) Moors, C.; Ha, E. W.; *Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Columbus* **1993**, 33, 431.
- 70) Chen, J. P.; *J. Ferm. Bioeng.* **1992**, 73, 140.
- 71) Giraldo – Zuniga, A. D.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *Ciencia Y tecnologia Alimentaria* **2001**, 3, 149.
- 72) Capezio, L.; Romanini, D.; Picó, G. A.; Nerli, B.; *J. Chrom. B* **2005**, 819, 25.
- 73) Boaglio, A.; Bassani, G.; Picó, G. A.; Nerli, B.; *J. Chrom. B* **2006**, 837, 18.
- 74) Rodrigues, L. R.; Venâncio, A.; Teixeira, J.A. *Biotechnol. Letters* **2001**, 23, 1893.
- 75) da Silva, L. H. M.; Meirelles, A. J. A.; *Carbohydr. Pol.* **2000**, 42, 279.
- 76) da Silva, L. H. M.; Meirelles, A. J. A.; *Carbohydr. Pol.* **2001**, 46, 267.
- 77) de Oliveira, M. C.; de Abreu Filho, M. A. N.; Pessoa Filho, P. A.; *Biochem. Engin. J.* **2007**, 37, 311.

- 78) Martins, J. P.; Coimbra, J. S. R.; de Oliveria, F. C.; Sanaiotti, G.; da Silva, C. A. S.; da Silva, L. H. M.; da Silva M. C. H.; *J. Chem. Eng. Data*, **2010**, 55, 1247.
- 79) Ma, B.; Hu, M.; Li, S.; Jiang, Y.; Liu, Z.; *J. Chem. Eng. Data* **2005**, 50, 792.
- 80) Imelio, N.; Marini, A.; Spelzini, D.; Picó, A. G.; Farrugia, B.; *J. Chrom. B* **2008**, 873, 133.
- 81) Tubio, G.; Pellegrini, L.; Nerli, B.; Picó, G. A.; *J. Chem. Eng. Data* **2006**, 51, 209.
- 82) Lei, X.; Diamond, A. D.; Hsu, J. T.; *J. Chem. Eng. Data* **1990**, 35, 420.
- 83) Freriz, A.; Schonewald, M.; Geilenkirchen, P.; Muller, M.; Kula, M. R.; Hubbuch, J.; *Langmuir* **2006**, 22, 4282.
- 84) Zhua, J.; Yan, X.; Chenb, H.; Wang, Z.; *J. chrom. A* **2007**, 1147, 127.
- 85) Willauer, H. D.; Huddleston, J. G.; D. Rogers. R. D.; *Ind. Eng. Chem. Res.* **2002**, 41, 1892.
- 86) Dalora, N. L. P.; Klemz, J. G. D.; Pessôa, Filho, P. A.; *Biochem. Engine, J.* **2007**, 37, 92.
- 87) de Oliveira, R. M.; Coibra, J. S. R.; Minim, L. A.; da Silva, L. H. M.; *J. Chem. Eng. Data* **2008**, 53, 895.
- 88) Haghtalab, A.; Mokhtarani, B.; *J. chem. Thermodyn.* **2005**, 37, 289.
- 89) Martins, J. P.; Carvalho, C. P.; da Silva, L. H. M.; Coimbra, J. S. R.; da Silva, M. C. H.; Rodrigues, G. D.; Minil, L. A.; *J. Chem. Eng. Data* **2008**, 53, 895.
- 90) Rogers, R. D.; Bauer, C. B.; *J. chrom. B* **1996**, 680, 237.
- 91) Rogers, R. D.; Zhang, J. H.; *J. chrom. B* **1996**, 680, 231.
- 92) Murugesan, T.; Perumalsamy, M.; *J. Chem. Eng. Data*, **2005**, 50, 1392.

- 93) Graber, T. A.; Taboada, M. A.; Asenjo, J. A.; Andrews, B. A.; *J. Chem. Eng. Data*, **2001**, *46*, 765.
- 94) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; de Aquino, R. A. N.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R.; *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 23540.
- 95) de Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S. R.; Francisco, K. R.; Minim, L. A.; da Silva, L. H. M.; Rojas, E. E. G.; *J. Chem. Eng. Data*, **2008**, *53*, 1571.
- 96) Graber, T. A.; Taboada, M. E.; cartón, A.; Bolado, S.; *J. Chem. Eng. Data*, **2000**, *45*, 182.
- 97) Hu, M.; Zhai, Q.; Jiang, Y.; Jin, L.; Liu, Z.; *J. Chem. Eng. Data*, **2004**, *49*, 1440.
- 98) Amaresh, S. P.; Murugesan, S.; Regupathi, I.; Murugesan, T.; *J. Chem. Eng. Data*, **2008**, *53*, 1574.
- 99) Carvalho, C. P.; Coimbra, J. S. R.; Costa, I. A. F.; Minim, L. A.; da Silva, L. H. M.; Maffia, M. C.; *J. Chem. Eng. Data* **2007**, *52*, 351.
- 100) Zafarani-Moattar, M. T.; Hamzehzadeh, S.; Hosseinzadeh, S.; *Fluid Phase Equilibr.* **2008**, *268*, 142.
- 101) Martins, J. P.; de Oliveira, F. C.; Coimbra, J. S. R.; da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Nascimento, I. S. B.; *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 2441.
- 102) Salabat, A.; Dashti, H.; *Fluid Phase Equilibr.* **2004**, *216*, 153.
- 103) Cheluget, E.L.; Gelinas, S.; Vera, J.H.; Weber, M.E.; *J. Chem. Eng. Data* **1994**, *39*, 127.
- 104) Zafarani-Moattar, M. T.; Salabat, A.; *Fluid Phase Equilibr.* **1998**, *152*, 57.
- 105) Zafarani-Moattar, M. T.; Sadeghi, R.; *J. Chem. Eng. Data* **2005**, *50*, 947.
- 106) Lemos, L. R.; Santos, I. J. B.; Rodrigues, G. D.; Ferreira, G. M. D.; da Silva,

- L. H. M.; da Silva, M. C. H.; de Carvalho, R. M. M.; *J. Chem. Eng. Data* **2010**, 55, 1193.
- 107)da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Júnior, J. A.; Guimarães, R. O.; Martins, J. P.; *J. Chem. Eng. Data* **2006**, 50, 1457.
- 108)da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Mesquita, A. F.; do Nascimento, K.S.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *J. Chem. Eng. Data* **2005**, 50, 1457.
- 109)Haraguchi, L. H.; Mohamed, R. S.; Loh, W.; Pessoa Filho, P. A. *Fluid Phase Equilib.* **2004**, 215, 1.
- 110)Rodrigues, G. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Teixeira, L. S.; de Andrade, V. M.; *J. Chem. Eng. Data*, **2009**, 54, 1894.
- 111)Rodrigues, G. D.;Teixeira, L. S.; Ferreira, G. M. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; de Carvalho, R. M. M.; *J. Chem. Eng. Data* **2010**, 55, 1158.
- 112)Ananthapadmanabhan, P.; Goddard, E. D.; *Langmuir* **1987**, 3, 25.

APÊNDICE

ARTIGOS PUBLICADOS

Equilibrium Phase Behavior for Ternary Mixtures of Poly(ethylene)
Glycol 6000 + Water + Sulfate Salts at Different Temperatures

Equilibrium Phase Behavior for Ternary Mixtures of Poly(ethylene) Glycol 6000 + Water + Sulfate Salts at Different Temperatures

João Paulo Martins,[†] Fabíola Cristina de Oliveira,[‡] Jane Sélia dos Reis Coimbra,^{*,‡} Luis Henrique Mendes da Silva,[†] Maria do Carmo Hespanhol da Silva,[†] and Ingrid Silva Barberino do Nascimento[§]

Departamento de Química and Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Vicosa (UFV), P. H. Rolfs Avenue, s/n, Zip Code 36570-000, Vicosa, MG, Brazil, and Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Praça da Primavera, 40, 45-700, Itapetinga, BA, Brazil

Phase diagrams of aqueous two-phase systems composed of poly(ethylene) glycol (PEG) 6000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, lithium sulfate, sodium sulfate, and magnesium sulfate or zinc sulfate were determined at (283.15, 298.15, and 313.15) K. The effect of temperature on binodal position was not significant, indicating a small enthalpic contribution associating to the phase segregation. The ability of four sulfate salts to induce the formation of the biphasic system with PEG 6000 is as follows: $\text{ZnSO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{Li}_2\text{SO}_4$.

Introduction

Separation processes are applied in various types of industries including chemical, pharmaceutical, and food. Classic methods involving liquid–liquid extraction use an organic solvent and an aqueous solution as the two immiscible phases for the fractionation and purification of molecules. However, these systems are very toxic and present risks to human health.

An alternative to substitute organic two-phase systems, based on the beginning of green chemistry, is aqueous biphasic systems (ABS). They are formed by the mixture of a polymer + water + salt or two water-soluble polymers differing in chemical structure.^{1,2} This methodology has been widely used to separate metallic ions^{3,4} and biological materials,^{1,2,5,6} such as viruses, nucleic acids, and proteins. These characteristics are important because an organic solvent is not used in the separation processes.

The ABS typically applied in separation or purification processes are constituted of poly(ethylene) glycol (PEG) + dextran + water or PEG + inorganic salt + water. The literature mentions several equilibrium data for different ABS formed of PEGs of different average molar masses and inorganic salts.^{1,2,7–12} However, this type of data for systems containing PEG6000 + sulfate salts (Li_2SO_4 , Na_2SO_4 , MgSO_4 , ZnSO_4) at different temperatures are scarce.

In this work, aqueous two-phase systems composed of PEG6000 + sulfate salt + water were determined, and the phase compositions were measured. Equilibrium data at (283.15, 298.15, and 313.15) K were determined for the systems consisting of PEG6000 + lithium sulfate + water, PEG6000 + sodium sulfate + water, PEG6000 + magnesium sulfate + water, and PEG6000 + zinc sulfate + water. The influences of the electrolyte nature and temperature on the phase diagram were also investigated.

* To whom correspondence should be addressed. E-mail: jcoimbra@ufv.br. Fax: + 55-31-3899-2208. Phone: + 55-31-3899-2229.

[†] Departamento de Química.

[‡] Departamento de Engenharia de Alimentos.

[§] Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Experimental Section

Materials. The following reagents were used: poly(ethylene) glycol with an average molar mass of 6000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Sigma, USA) and the sulfate salts Na_2SO_4 , Li_2SO_4 , ZnSO_4 , and MgSO_4 (Vetec, Brazil), all of analytical grade. Millipore (USA) water was used in all experiments ($R \geq 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$).

Aqueous Two-Phase Systems (ATPS). Ternary phase diagrams were prepared by weighing appropriate quantities of PEG6000, sulfate salts (lithium, sodium, zinc, or magnesium), and water on an analytical balance (Gehaka, AG200, Brazil) accurate to $\pm 0.0001 \text{ g}$. Liquid–liquid glass tubes were used to carry out phase equilibrium determinations. Typically, 15 g of the system was prepared. After vigorously stirring the system until becoming turbid, it was placed in a temperature-controlled bath (Microquímica, MQBTC 99-20), accurate to $\pm 0.1 \text{ K}$, for 48 h at (283.15, 298.15, or 313.15) K. The equilibrium state was characterized by the absence of turbidity in both the top and bottom phases. Samples from the top and bottom phases were collected for analysis.

Quantitative Analysis. Salt concentration (Na_2SO_4 , Li_2SO_4 , MgSO_4 , and ZnSO_4) was determined by conductivity (Schott CG853, Germany) of the electrolyte in the range of (10^{-4} to 10^{-3}) M. The salt solutions showed the same conductivity in water or the diluted polymer solution [(0.01 to 0.001) %]. The standard deviation of the salt mass percent from this method was $\pm 0.10 \%$. A refractometer (Analytic Jena AG Abbe refractometer 09-2001, Germany) was used to measure PEG6000 quantity at 298.15 K. Since the refractive index of the phase depends on the polymer and salt concentrations, PEG6000 content was obtained by subtracting the salt concentration obtained by conductivity from the total solution composition (refractive index). The standard deviation of the PEG6000 mass percent was on the order of 0.03 %. Analytical curves were obtained for the salt and PEG measurements, and water content was determined by mass balance. All analytical measurements were performed in triplicate.

Results and Discussion

The phase compositions for the aqueous two-phase systems formed of PEG6000 and sulfate salts are shown in Tables 1 to

Table 1. Equilibrium Data (Mass %) for the PEG6000 (w_{PEG}) + Lithium Sulfate (w_{S}) + Water (w_{W}) System from (283.15 to 313.15) K

tie line	overall			top phase			bottom phase		
	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}
283.15 K									
1	21.36	8.62	70.02	35.52	3.22	61.26	3.64	15.51	80.85
2	22.91	9.05	68.04	39.63	2.69	57.68	3.96	16.31	79.73
3	25.10	9.53	65.37	42.40	2.29	54.31	4.01	17.97	78.02
4	26.82	9.98	63.20	46.65	1.96	51.39	4.47	18.92	76.61
5	29.45	10.58	59.97	50.93	1.62	47.45	4.55	21.07	74.38
298.15 K									
1	22.54	8.36	69.10	37.81	2.89	59.30	3.10	15.31	81.59
2	24.14	8.71	67.15	41.41	2.50	56.09	4.02	15.95	80.03
3	26.04	9.21	64.75	45.06	1.97	52.97	4.14	17.53	78.33
4	27.94	9.73	62.33	47.96	1.95	50.09	3.86	19.14	77.00
5	30.33	10.34	59.33	52.91	1.42	45.67	4.42	20.59	74.99
313.15 K									
1	23.65	8.26	68.09	41.29	2.26	56.45	3.17	15.33	81.50
2	25.30	8.71	65.99	45.70	1.74	52.56	3.40	16.14	80.46
3	27.25	9.12	63.63	46.51	1.70	51.79	3.38	18.10	78.52
4	29.83	9.70	60.47	52.40	1.45	46.15	3.48	19.30	77.22
5	31.81	10.17	58.02	55.76	1.13	43.11	4.36	20.46	75.18

Table 2. Equilibrium Data (Mass %) for the PEG6000 (w_{PEG}) + Sodium Sulfate (w_{S}) + Water (w_{W}) System from (283.15 to 313.15) K

tie line	overall			top phase			bottom phase		
	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}
283.15 K									
1	16.35	7.81	75.84	29.28	2.28	68.44	1.72	13.95	84.29
2	18.31	8.36	73.33	32.28	1.95	65.77	1.37	16.22	82.41
3	19.64	8.82	71.54	35.00	1.56	63.44	1.18	17.51	81.31
4	21.53	9.41	69.06	37.41	1.37	61.22	0.91	19.93	79.16
5	22.94	9.85	67.21	39.93	1.21	58.86	0.90	21.10	78.00
298.15 K									
1	16.82	8.08	75.10	31.53	2.37	66.10	0.72	14.42	84.86
2	18.17	8.45	73.38	34.22	1.96	63.82	0.72	15.49	83.79
3	20.14	8.94	70.92	37.19	1.65	61.16	0.67	17.45	81.84
4	21.64	9.34	69.02	40.07	1.36	58.57	0.69	18.23	81.08
5	23.94	9.82	66.24	41.96	1.41	56.63	0.88	19.89	79.23
313.15 K									
1	17.18	7.97	74.85	34.09	1.92	63.99	0.58	14.00	85.42
2	19.00	8.45	72.55	36.71	1.65	61.64	0.50	15.40	84.10
3	20.55	8.89	70.56	39.42	1.44	59.14	0.54	16.83	82.63
4	22.46	9.39	68.15	42.77	1.24	55.99	0.44	18.39	81.17
5	24.18	9.84	65.98	44.54	1.09	54.37	0.25	20.25	79.50

4. All concentrations are expressed in mass percent. It was observed that polymer and salt segregation rose with the increase in overall composition. This behavior is in agreement with reported results describing the system formed by macromolecules and electrolytes.^{4,15}

The influence of temperature was not relevant for all systems, indicating only a small change in ΔC_p and ΔH associated with the phase separation process.¹⁴ However, temperature affected the concentration and volume of both phases for all systems studied.

Table 5 shows the slope of the tie line (STL) values for the systems in all temperatures. The STL is defined as the ratio of the difference in the polymer and the salt concentration in the top and bottom phases, as presented by eq 1

$$\text{STL} = \frac{w_{\text{PEG}}^{\text{T}} - w_{\text{PEG}}^{\text{B}}}{w_{\text{S}}^{\text{T}} - w_{\text{S}}^{\text{B}}} \quad (1)$$

where w_{PEG} and w_{S} are the polymer and salt concentrations and the superscripts T and B designate the top and bottom phases, respectively.

Table 3. Equilibrium Data (Mass %) for the PEG6000 (w_{PEG}) + Magnesium Sulfate (w_{S}) + Water (w_{W}) System from (283.15 to 313.15) K

tie line	overall			top phase			bottom phase		
	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}
283.15 K									
1	18.15	7.78	74.07	31.57	1.58	66.85	2.91	14.85	82.24
2	20.15	8.29	71.56	34.84	1.15	64.01	2.57	16.72	80.71
3	21.88	8.77	69.35	37.82	0.83	61.35	3.97	17.71	78.32
4	23.88	9.30	66.82	41.38	0.62	58.00	4.81	18.82	76.37
5	26.13	9.90	63.97	44.35	0.40	55.25	4.55	21.21	74.24
298.15 K									
1	18.52	7.63	73.85	32.94	1.43	65.63	2.50	14.52	82.98
2	20.09	8.15	71.76	35.90	1.06	63.04	2.79	15.89	81.32
3	21.99	8.75	69.26	39.05	0.77	60.18	3.45	17.38	79.17
4	24.05	9.45	66.50	42.46	0.57	56.97	3.19	19.81	77.00
5	26.20	10.15	63.65	46.00	0.37	53.63	3.90	21.22	74.88
313.15 K									
1	19.26	7.50	73.24	34.58	1.05	64.37	1.53	15.01	83.46
2	21.43	8.06	70.51	38.13	0.77	61.10	1.81	16.73	81.46
3	23.19	8.47	68.34	40.94	0.63	58.43	2.80	17.56	79.64
4	25.10	8.91	65.99	43.77	0.42	55.81	4.33	18.21	77.46
5	27.10	9.49	63.41	46.52	0.25	53.23	4.23	20.37	75.40

Table 4. Equilibrium Data (Mass %) for the PEG6000 (w_{PEG}) + Zinc Sulfate (w_{S}) + Water (w_{W}) System from (283.15 to 313.15) K

tie line	overall			top phase			bottom phase		
	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}	w_{PEG}	w_{S}	w_{W}
283.15 K									
1	18.02	8.64	73.34	28.31	2.40	69.29	0.31	19.24	80.45
2	19.64	9.21	71.15	32.15	1.88	65.97	0.90	19.92	79.18
3	21.37	9.77	68.86	34.79	1.35	63.86	0.70	22.94	76.36
4	23.41	10.40	66.19	38.33	1.15	60.52	1.39	24.23	74.38
5	24.74	10.83	64.43	40.95	0.81	58.24	1.94	24.76	73.30
298.15 K									
1	16.96	8.96	74.08	29.31	2.19	68.50	0.29	18.20	81.51
2	18.87	9.48	71.65	32.14	1.71	66.15	0.76	19.93	79.31
3	20.95	10.05	69.00	36.43	1.24	62.33	1.29	21.70	77.01
4	22.51	10.50	66.99	39.63	0.96	59.41	0.35	22.94	76.71
5	25.02	11.25	63.73	42.99	0.74	56.27	2.28	24.50	73.22
313.15 K									
1	17.21	9.10	73.69	31.50	1.83	66.67	0.62	17.71	81.67
2	19.11	9.64	71.25	34.66	1.41	63.93	1.42	18.98	79.60
3	20.94	10.13	68.93	36.69	1.06	62.25	1.45	21.34	77.21
4	22.84	10.63	66.53	40.49	0.78	58.73	1.89	22.38	75.73
5	24.75	11.12	64.13	44.29	0.61	55.10	2.65	23.10	74.25

A temperature increase promoted the amplification of the STL, verifying results reported for other aqueous two-phase systems.⁷ It is possible that the STL change from the PEG + sulfate salt system was due to the transfer of water from the top to the bottom phase.¹⁴ Thus, the polymer concentration increased in the upper phase, and the salt content decreased in the lower phase.

Figure 1 shows the influence of salt in inducing phase segregation. The formation of ATPS clearly indicates the mutual exclusion of the salt and polymer and their high affinity to water. This tendency is observed in all systems constituted of PEG and inorganic salts, such as sulfates.¹³ The aptitude of the four salts for inducing the phase segregation in ATPS follows the order of: $\text{ZnSO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{Li}_2\text{SO}_4$. A model proposed by da Silva and Loh¹⁴ based on calorimetric measurements attributed the trend in efficacy of lithium and sodium sulfates for inducing ATPS formation to the cation-polymer interactions. Their proposed model states that when the PEG and sulfate salts are mixed cations interact with the ethylene oxide polymer groups, releasing some water molecules there were solvating them in a process that is driven by entropy increase. This cation binding continues as more electrolytes are

Table 5. STL Values for PEG6000 + Salt + Water Systems

PEG6000 + Lithium Sulfate + Water			
	T/K		
tie line	283.15	298.15	313.15
1	-2.59	-2.79	-2.92
2	-2.62	-2.78	-2.94
3	-2.51	-2.63	-2.63
4	-2.49	-2.57	-2.74
5	-2.38	-2.53	-2.66
PEG6000 + Sodium Sulfate + Water			
	T/K		
tie line	283.15	298.15	313.15
1	-2.35	-2.56	-2.77
2	-2.17	-2.48	-2.63
3	2.12	2.30	2.53
4	-1.97	-2.33	-2.48
5	-1.96	-2.23	-2.31
PEG6000 + Magnesium Sulfate + Water			
	T/K		
tie line	283.15	298.15	313.15
1	-2.16	-2.32	-2.37
2	-2.07	-2.23	-2.28
3	-2.01	-2.14	-2.25
4	-2.01	-2.04	-2.22
5	-1.91	-2.02	-2.10
PEG6000 + Zinc Sulfate + Water			
	T/K		
tie line	283.15	298.15	313.15
1	-1.66	-1.81	-1.94
2	-1.73	-1.72	-1.89
3	-1.58	-1.72	-1.73
4	-1.60	-1.79	-1.79
5	-1.63	-1.71	-1.85

added until a saturation point after which no more entropy gain may be attained and phase splitting becomes more favorable.

The ATPS composed of PEG6000 + Na₂SO₄ present a larger biphasic area as compared to the PEG6000 + Li₂SO₄ system. This behavior may be explained by the fact that fewer sodium cations are required for saturating the interaction sites of the polymer chain as compared to lithium cations.

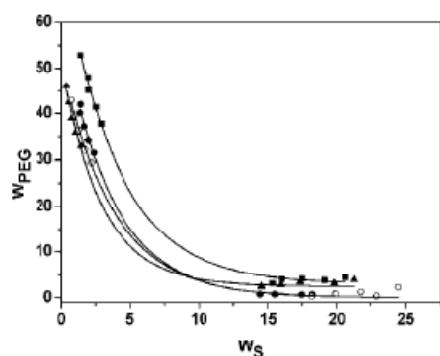


Figure 1. Influence of cation on the phase diagram (mass %) of the PEG6000 + salt at 298.15 K: ■, Li₂SO₄; ●, Na₂SO₄; ○, MgSO₄; ▲, ZnSO₄.

Conclusions

Liquid–liquid equilibrium data for the systems PEG6000 + Li₂SO₄ + water, PEG6000 + Na₂SO₄ + water, PEG6000 + MgSO₄ + water, and PEG6000 + ZnSO₄ + water were determined at different temperatures ranging from (283.15 to 313.15) K. The effect of temperature on the equilibrium data of the PEG6000 + sulfate salts system was not significant. The results agreed well with those in other literatures.^{8,12,13} The slope of the tie line increased with increasing temperature, and efficacy of the salts in inducing phase segregation follows the order of: ZnSO₄ > MgSO₄ > Na₂SO₄ > Li₂SO₄.

Literature Cited

- Albertsson, P. A. *Partition of Cells Particles and Macromolecules*, 3rd. ed.; Wiley & Sons, Inc.: New York, NY, 1986.
- Zaslavsky, B. Y.; *Aqueous Two Phase Partitioning, Physical Chemistry and Bioanalytical Applications*; Marcel Dekker: New York, 1995.
- Rodrigues, G. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. Liquid-liquid extraction of metal ions without use of organic solvent. *Sep. Purif. Technol.* **2007**, doi: 10.1016/j.seppur.2008.03.032
- da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Amim Junior, J.; Martins, J. P.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. Hydrophobic effect on the partitioning of [Fe(CN)₅(NO)]²⁻ and [Fe(CN)₆]³⁻ anions in aqueous two-phase systems formed by triblock copolymers and phosphate salts. *Sep. Purif. Technol.* **2008**, *60*, 103–112.
- Klomkiao, S.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Simpson, B. K.; Kishmura, H. Partitioning and recovery of proteinase from tuna spleen by aqueous two-phase systems. *Process Biochem.* **2005**, *40*, 3061–3067.
- Giraldo-Zuniga, A. D.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; Rojas, E. E. G. Dispersed phase hold-up in a Graesser raining bucket contactor using aqueous two-phase systems. *J. Food Eng.* **2006**, *72*, 302–309.
- Ananthapadmanabhan, K. P.; Goddard, E. D. Aqueous biphasic formation in poly(ethylene oxide) - inorganic salt systems. *Langmuir* **1987**, *3*, 25–31.
- Martins, J. P.; Carvalho, C. P.; da Silva, L. H. M.; Coimbra, J. S. R.; da Silva, M. D. H.; Rodrigues, G. D.; Minim, L. A. Liquid-Liquid Equilibria of Aqueous Two-Phase System Containing Poly(ethylene) Glycol 1500 and Sulfate Salts at Different Temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 238–241.
- Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S.; Francisco, K.; Minim, L. A.; da Silva, L. H.; Pereira, J. A. Liquid–liquid equilibrium of aqueous two-phase systems containing poly(ethylene) glycol 4000 and zinc sulfate at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 919–922.
- Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S.; Minim, L. A.; da Silva, L. H.; Fentes, M. P. F. Liquid–liquid equilibria of biphasic systems composed of sodium citrate + poly(ethylene glycol) 1500 or 4000 at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 895–899.
- Carvalho, C. P.; Coimbra, J. S. R.; Costa, I. A. F.; Minim, L. A.; Silva, L. H. M.; Maffia, M. C. Influence of the Temperature and Type of Salt on the Phase Equilibrium of PEG 1500 + Potassium Phosphate and PEG 1500 + Sodium Citrate Aqueous Two-Phase Systems. *Química Nova* **2008**, *31*, 209–213.
- da Silva, M. D. H.; da Silva, L. H. M.; Amim Junior, J.; Guimeraes, R. O.; Martins, J. P. Liquid Equilibrium of Aqueous Mixture of Triblock Copolymers L35 and F68 with Na₂SO₄ or Li₂SO₄ or MgSO₄. *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51*, 2260–2264.
- da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; de Aquino, R. A. N.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. Nitroprusside-PEO enthalpic interaction as driving force for partitioning of the [Fe(CN)₅NO]²⁻ anion in aqueous two-phase systems formed by poly(ethylene oxide) and sulfate salts. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 23540–23546.
- 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). *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10069–10073.

Received for review June 18, 2008. Accepted August 13, 2008. The authors acknowledge the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and the Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) for their financial support.

JE800443P

Liquid–Liquid Equilibria of an Aqueous Two-Phase System Formed by a Triblock Copolymer and Sodium Salts at Different Temperatures

Liquid–Liquid Equilibria of an Aqueous Two-Phase System Formed by a Triblock Copolymer and Sodium Salts at Different Temperatures

João Paulo Martins,[†] Aparecida Barbosa Mageste,[†] Maria do Carmo Hespagnol da Silva,[†]
Luis Henrique Mendes da Silva,^{*†} Pamela da Rocha Patrício,[†] Jane Sélia dos Reis Coimbra,[‡] and
Luis Antonio Minim[‡]

Grupo de Química Verde Coloidal e Macromolecular, Departamento de Química and Departamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa, Av. P. H. Rolfs, Viçosa/MG 36570-000, Brazil

Phase diagrams of aqueous two-phase systems composed of a triblock copolymer (L35) $1900 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, sodium tartarate, sodium citrate, or sodium nitrate were determined at (283.15, 298.15, and 313.15) K. The temperature effect on the position of the binodal curves was not relevant, indicating a small enthalpic contribution associating to the phase segregation. The ability of three salts to induce the formation of the biphasic system with L35 followed the order sodium citrate > sodium tartarate > sodium nitrate. The preference of a salt-inducing phase segregation follows the Hofmeister series.

Introduction

Aqueous two-phase systems (ATPSs) have been widely used in preconcentration and separation of chemical substances, such as, metal ions,^{1,2} proteins,^{3,4} and organic molecules.⁵ These systems can be formed by combining either two chemically different polymers or a polymer and a salt (organic or inorganic) in water above a certain critical concentration and temperature.^{6,7}

The most used ATPS are composed of poly(ethylene oxide) (PEO) + inorganic salt + water or PEO + dextran + water.⁸ However, these systems present some limitations, such as low extractant solubility and a lower complex partition coefficient, for the partitioning of hydrophobic solutes or use of water-insoluble extractant agents. This problem can be solved through the creation of micellar media using a triblock copolymer.⁹ A typical example of a triblock copolymer is formed by ethylene oxide (EO) and propylene oxide units (PO) according to the representation: $(\text{EO})_n-(\text{PO})_m-(\text{EO})_n$. The nomenclature of triblock copolymers is based on the physical state (liquid, paste, or flakes) and EO/PO rate of the macromolecule.¹⁰ This type of triblock copolymer self-associates upon increasing concentration (L35 cmc = 2.40 % w/w) or temperature into micellar-like aggregates consisting of a core occupied by PO units surrounded by a corona of EO chains.¹¹

The literature reported a small number of equilibrium data for different ATPSs formed by triblock copolymers of different EO/PO ratios (or different average molecular mass) and inorganic salts^{12–15} or dextran + triblock copolymer.¹⁶ Despite the existence of equilibrium data for the triblock copolymers + salt + water, studies involving these types of macromolecules are very rare, and that is a restriction for selecting the appropriate ATPS for the solute that one wants to separate or purify.

For the application of ATPS formed by triblock copolymers, it is necessary to obtain the phase diagram data. In this work, ATPSs composed of triblock copolymer L35 $((\text{PEO})_{11}-$

$(\text{PPO})_{16}-(\text{PEO})_{11})$ + sodium salt + water were determined, and phase composition was measured. Equilibrium data at (283.15, 298.15, and 313.15) K were determined for the systems consisting of L35 + sodium citrate + water, L35 + sodium tartarate + water, and L35 + sodium nitrate + water. The influences of the anion electrolyte nature and temperature on the phase diagram were also investigated.

Experimental Section

Materials. The following reagents were used: triblock copolymer L35 (50 % EO), $(\text{PEO})_{11}-(\text{PPO})_{16}-(\text{PEO})_{11}$, with average molar mass of $1900 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Sigma) and sodium citrate, sodium tartarate, and sodium nitrate (Vetec, Brazil), all of analytical grade. Millipore water was used in all experiments ($R \geq 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$).

Aqueous Two-Phase Systems. We prepared ternary phase diagrams by weighing appropriate quantities of L35, sodium salts (citrate, tartarate, or nitrate), and water on an analytical balance (Gehaka, AG200, Brazil) with a given uncertainty of $\pm 0.0001 \text{ g}$. Liquid–liquid glass tubes were used to carry out phase equilibrium determinations. Typically, 10 g of system was prepared. After the system was vigorously stirred until it became turbid, it was placed in a temperature-controlled bath (Microquímica, MQBTC 99-20, with an uncertainty of $\pm 0.1 \text{ K}$) for 72 h at (283.15, 298.15, or 313.15) K. The equilibrium state was characterized by the absence of turbidity in both top and bottom phases. Samples of the top and bottom phase were collected for analysis.

Quantitative Analysis. The salt concentration (sodium citrate, sodium tartarate, and sodium nitrate) was determined by conductivity (Schott CG853, Germany) of the electrolyte in the range of $(10^{-3}$ to $10^{-2})$ % w/w. The salt solutions showed the same conductivity in water or in the diluted polymer solution [(0.1 to 0.01) %]. The standard deviation of the salt mass percent from this method was ± 0.10 %. A refractometer (Analytic Jena AG Abbe refractometer 09-2001, Germany) was used to measure the L35 quantity at 293.15 K. Because the refractive index of the phase depends on the copolymer and salt concentrations, we obtained the L35

* To whom correspondence should be addressed. Tel: +5531-38993052. Fax: +5531-38993065. E-mail: luhen@ufv.br.

[†] Grupo de Química Verde Coloidal e Macromolecular, Departamento de Química.

[‡] Departamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Exatas.

Table 1. Equilibrium Data for L35 (w_{L35}) + Sodium Citrate (w_S) – Water (w_W) System from $T = (283.15$ to $313.15)$ K in Mass Fraction Percent

tie line	tie-line length	overall			top phase			bottom phase		
		w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W
283.15 K										
1	33.74	18.68	9.10	72.21	34.74	3.21	62.05	4.19	17.52	78.29
2	38.39	21.97	9.68	68.34	37.60	2.29	60.11	3.77	20.43	75.80
3	42.49	24.67	10.79	64.53	42.75	1.57	55.68	5.82	22.59	71.59
4	49.11	27.40	12.06	60.52	48.69	1.20	50.11	6.28	25.97	67.75
5	53.85	30.43	12.94	56.61	53.60	0.86	45.54	6.99	27.83	65.18
298.15 K										
1	34.78	27.32	5.11	67.67	34.94	2.92	62.14	2.43	15.28	82.29
2	42.16	31.06	5.62	63.32	41.68	2.11	56.21	2.33	17.24	80.43
3	48.18	34.82	6.11	59.07	46.93	1.55	51.52	2.43	20.02	77.55
4	54.84	38.57	6.62	54.81	52.51	1.10	46.39	2.25	23.03	74.72
5	59.48	42.31	7.12	50.57	57.56	0.75	41.69	3.32	25.16	71.52
313.15 K										
1	44.82	18.67	9.10	72.23	45.39	1.67	52.94	2.68	15.25	82.07
2	50.58	22.01	9.67	68.32	50.88	1.25	47.87	2.81	16.97	80.22
3	55.64	24.68	10.78	64.54	55.78	0.93	43.29	3.17	19.03	77.80
4	59.20	27.38	12.06	60.56	59.80	0.67	39.53	4.43	21.63	73.94
5	62.71	30.41	12.94	56.65	63.24	0.49	36.27	5.18	24.20	70.62

Table 2. Equilibrium Data for L35 (w_{L35}) + Sodium Tartarate (w_S) + Water (w_W) System from $T = (283.15$ to $313.15)$ K in Mass Fraction Percent

tie line	tie-line length	overall			top phase			bottom phase		
		w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W
283.15 K										
1	23.68	20.00	8.21	71.79	26.72	4.48	68.8	6.51	16.82	76.67
2	39.43	22.11	10.21	67.68	37.85	2.57	59.58	2.88	20.78	76.34
3	46.22	25.28	11.32	63.40	42.59	1.89	55.52	2.41	24.73	72.86
4	51.55	28.20	12.13	59.67	46.78	1.49	51.73	2.33	27.59	70.08
5	55.84	30.59	13.39	56.02	52.83	1.18	45.99	4.51	29.16	66.33
298.15 K										
1	40.85	35.99	4.55	59.46	41.06	2.54	56.40	3.02	17.44	79.54
2	48.20	39.92	5.34	54.74	47.57	1.77	50.66	3.13	20.44	76.25
3	52.77	45.04	5.63	49.33	52.67	1.24	46.09	4.55	22.89	72.56
4	58.43	49.66	6.33	44.01	57.39	1.12	41.49	4.24	25.39	70.37
5	69.28	54.62	6.59	38.79	68.25	0.56	31.19	5.82	30.59	63.59
313.15 K										
1	53.65	25.78	9.93	64.29	53.20	1.52	45.28	2.03	17.64	80.33
2	57.19	25.58	11.16	63.26	58.02	1.13	40.85	3.63	18.82	77.55
3	62.29	29.02	12.02	58.96	61.86	0.85	37.29	3.12	21.57	75.31
4	69.07	32.69	12.66	54.65	67.89	0.62	31.49	3.26	24.99	71.75
5	70.63	38.89	14.22	46.89	70.63	0.36	29.01	6.10	29.08	64.82

content by subtracting the salt concentration obtained by conductivity from the total solution composition (refractive index). The standard deviation of the L35 mass percent was on the order of 0.05 %. Analytical curves were obtained for the salt and copolymer measurements, and water content was determined by mass balance. All analytical measurements were performed in triplicate.

Results and Discussion

The phase compositions for the ATPS formed by L35 and sodium salts are shown in Tables 1, 2, and 3, where all concentrations are expressed in mass percent. The systems formed by PEO 2000 + salts (citrate and tartarate)^{17,18} showed the same biphasic area, suggesting that the dispersing molecular interaction associated with the polarizable organic anion determine the ATPS phase behavior more than macromolecular specific interactions. However, the system formed by PEO 2000 + sodium nitrate¹⁹ has a small biphasic area, as compared with the system formed by L35 + sodium nitrate, showing, in the case of the inorganic anion, a macromolecular hydrophobic effect (L35 is more hydrophobic than PEO 2000). An important parameter that expressed the

Table 3. Equilibrium Data for L35 (w_{L35}) + Sodium Nitrate (w_S) + Water (w_W) System from $T = (283.15$ to $313.15)$ K in Mass Fraction Percent

tie line	tie-line length	overall			top phase			bottom phase		
		w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W	w_{L35}	w_S	w_W
283.15 K										
1	40.51	21.11	25.13	53.76	38.56	15.79	45.65	2.08	33.41	64.51
2	46.99	23.04	25.61	51.35	43.14	15.20	41.66	0.79	35.55	63.66
3	52.72	25.05	26.22	48.73	48.22	14.30	37.39	1.08	37.99	60.93
4	56.30	26.84	26.78	46.38	51.17	14.00	34.83	0.82	39.18	60.00
5	60.51	28.67	27.34	43.99	53.36	13.80	32.84	0.01	42.35	57.64
298.15 K										
1	46.35	19.16	24.60	56.24	44.88	14.03	41.09	1.71	30.91	67.58
2	50.95	21.28	25.44	53.28	48.71	13.19	38.10	1.71	32.86	65.43
3	56.24	23.12	25.67	51.21	53.11	12.63	34.26	1.30	34.50	64.20
4	61.35	25.14	26.11	48.75	57.35	12.02	30.63	1.01	36.31	62.68
5	62.56	27.14	26.55	46.31	60.06	11.71	28.23	3.20	37.79	59.01
313.15 K										
1	35.95	19.19	24.83	55.98	33.94	17.28	49.60	1.00	31.67	67.33
2	40.26	21.25	25.12	53.63	39.13	16.64	44.23	2.22	32.72	65.06
3	46.04	22.97	25.29	51.74	43.06	15.28	41.66	1.07	34.17	64.76
4	53.71	25.10	26.21	48.69	48.26	14.35	37.39	0.04	38.00	61.96
5	57.77	27.10	26.69	46.21	53.46	13.68	32.86	1.74	39.41	58.85

difference in the intensive thermodynamic properties of each phase of the ATPS is the tie-line length (TLL), and it can be described by the equation

$$\text{TLL} = [(w_{L35}^T - w_{L35}^B)^2 + (w_S^T - w_S^B)^2]^{1/2} \quad (1)$$

where w_{L35} and w_S are the copolymer and salt concentrations, and the superscripts T and B designate the top and bottom phases, respectively.

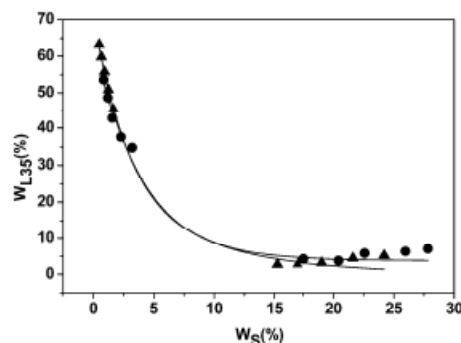
Tables 1, 2, and 3 show that at constant temperature, for systems containing sodium citrate and sodium tartrate, the copolymer mass fraction of the salt-rich phase increases when the salt fraction increases. This behavior is observed for the systems formed by PEO 2000 + salt (citrate, tartarate, and nitrate).^{17–19}

The temperature effect on the phase diagrams can be observed in Figures 1, 2, and 3. The influence of temperature was not significant for all systems. However, the temperature affects the volume and concentration of both phases.

Table 4 shows the values of the tie-line slope (STL) for the studied systems at all temperatures. The STL can be expressed by

$$\text{STL} = \frac{w_{L35}^T - w_{L35}^B}{w_S^T - w_S^B} \quad (2)$$

where w_{L35} and w_S are the polymer and salt concentrations and the superscripts T and B designate the top and bottom phases, respectively.

**Figure 1.** Temperature effect on the phase diagram for the L35 + sodium citrate system: ●, 283.15 K; ▲, 313.15 K.

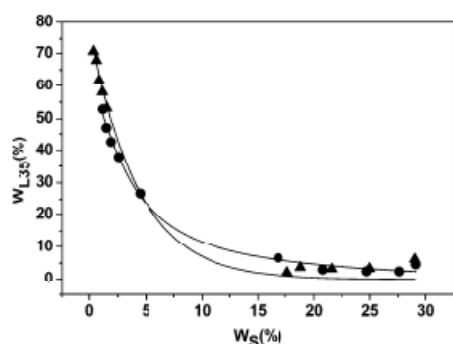


Figure 2. Temperature effect on the phase diagram: for the L35 + sodium tartarate system: ●, 283.15 K; ▲, 313.15 K.

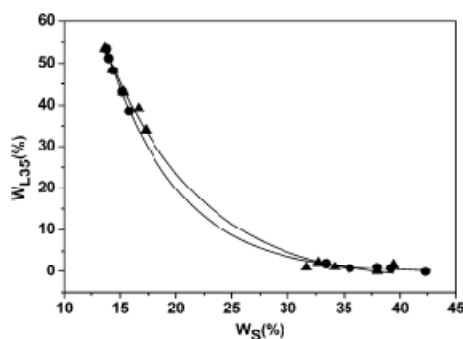


Figure 3. Temperature effect on the phase diagram: for the L35 + sodium citrate system: ●, 283.15 K; ▲, 313.15 K.

Table 4. STL Values For L35 + Salt + Water Systems

tie line	L35 + sodium citrate + water		
	T/K		
	283.15	298.15	313.15
1	-2.11	-2.57	-3.67
2	-1.85	-2.57	-3.28
3	-1.75	-2.27	-2.77
5	-1.72	-2.21	-2.65
4	-1.70	-2.21	-2.45
tie line	L35 + sodium tartarate + water		
	T/K		
	283.15	298.15	313.15
1	-1.62	-2.56	-3.18
2	-1.91	-2.40	-3.06
3	-1.76	-2.26	-2.84
4	-1.70	-2.24	-2.65
5	-1.72	-2.07	-2.25
tie line	L35 + sodium nitrate + water		
	T/K		
	283.15	298.15	313.15
1	-2.07	-2.28	-2.54
2	-2.08	-2.29	-2.37
3	2.00	2.22	2.36
4	-2.00	-2.04	-2.32
5	-1.87	-2.01	-2.18

The increase in the temperature promoted an STL increase. It is possible that the STL change for the L35 + sodium salt + water systems was due to the transfer of water from the top to the bottom phase. Therefore, the polymer concentration increases in the upper phase, and the salt content decreases in the lower

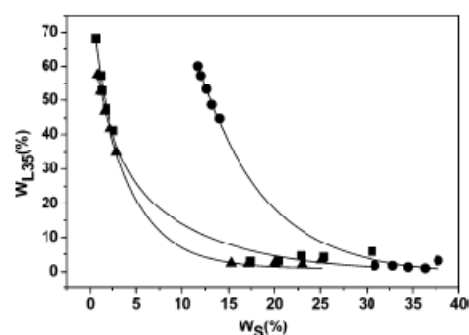


Figure 4. Anion effect on the phase diagram for the L35 + salt + water: ▲, sodium citrate; ■, sodium tartarate; ●, sodium nitrate.

phase. This behavior is observed for the systems formed by triblock copolymer L35 + sulfate salts + water or L35 + phosphate buffer + water.^{12,13} However, the effect of temperature on the binodal position and STL is more expressive in the systems formed by L35 + sulfate salt or phosphate buffer.

Figure 4 shows the influence of salt in inducing phase segregation. The formation of the ATPS clearly indicates the mutual exclusion of the salt and polymer and their high affinity for water. This tendency is observed in all systems constituted by triblock copolymers or polymers and inorganic salt.^{6,7,12-15}

The preference of three salts in inducing the phase segregation in ATPS follows the order: sodium citrate > sodium tartarate > sodium nitrate. This preference can be observed in the Hofmeister series (HS):²⁰ citrate³⁻ > SO₄²⁻ = tartarate²⁻ > HPO₄²⁻ > CrO₄²⁻ > acetate⁻ > HCO₃⁻ > Cl⁻ > NO₃⁻ > ClO₃⁻. The binodal area for the system formed by L35 + sodium sulfate¹² is the same for the system formed by L35 + sodium tartarate (present work). The HS originates from the ranking of various ions toward their ability to precipitate (salting-out) a mixture of hen egg white proteins, but the HS can be used to understand the phase segregation occurrence. The ions that decrease the solubility of macromolecules are denoted "kosmotropes" (with a high charge density, such as, citrate), and the ions that increase the solubility of macromolecules are denoted "chaotropes" (with a low charge density, such as, nitrate). The salting out effect results from interfacial effects of strongly hydrated anions, kosmotropic ions, near the macromolecule surface removing water molecules from the macromolecule solvation layer and dehydrating its surface, which promotes the phase separation. (In general, the $\Delta_{\text{hyd}}G$ is more negative for the anions with a high charge density²¹.)

Conclusions

Liquid-liquid equilibrium data for the systems L35 + sodium citrate + water, L35 + sodium tartarate + water, and L35 + sodium nitrate + water were determined at different temperatures (283.15 to 313.15) K. The temperature effect on the equilibrium data of L35 + sodium salt system was not relevant, but the anion nature has a major effect on the phase diagram of these ATPS. The efficacy of the salts in inducing phase segregation follows the order: sodium citrate > sodium tartarate > sodium nitrate. This order follows the Hofmeister series effect.

Literature Cited

- Zhang, T.; Li, W.; Zhou, W.; Gao, H.; Wu, J.; Xu, G.; Chen, J.; Liu, H.; Cren, J. Extraction and separation of gold(I) cyanide in polyethylene glycol-based aqueous biphasic systems. *Hydrometallurgy* **2001**, *62*, 41-46.

- (2) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; de Aquino, R. A. N.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. Nitroprusside-PEO enthalpic interaction as driving force for partitioning of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$ anion in aqueous two-phase systems formed by poly(ethylene oxide) and sulfate salts. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 23540–23546.
- (3) Rodrigues, L. R.; Vanáncio, A.; Teixeira, J. A. Partitioning and separation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin in polyethylene glycol/ammonium sulphate aqueous two-phase systems. *Biotechnol. Lett.* **2001**, *23*, 1893–1897.
- (4) da Silva, L. H. M.; Meirelles, A. J. A. Bovine serum albumin, α -lactalbumin and β -lactoglobulin partitioning in polyethylene glycol/maltodextrin aqueous-two-phase systems. *Carbohydr. Polym.* **2000**, *42*, 279–282.
- (5) Willauer, H. D.; Huddleston, J. G.; Rogers, R. D. Solute partitioning in aqueous biphasic systems composed of polyethylene glycol and salt: the partitioning of small neutral organic species. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2002**, *41*, 1852–1904.
- (6) Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S.; Francisco, K.; Minim, L. A.; da Silva, L. H.; Pereira, J. A. Liquid–liquid equilibrium of aqueous two-phase systems containing poly(ethylene) glycol 4000 and zinc sulfate at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 919–922.
- (7) Martins, J. P.; Carvalho, C. P.; da Silva, L. H. M.; Coimbra, J. S. R.; da Silva, M. D. H.; Rodrigues, G. D.; Minim, L. A. Liquid–liquid equilibria of aqueous two-phase system containing poly(ethylene) glycol 1500 and sulfate salts at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 238–241.
- (8) de Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; da Silva, L. H. M.; Ferreira Fontes, M. P. Liquid–liquid equilibria of biphasic systems composed of sodium citrate + polyethylene(glycol) 1500 or 4000 at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 895–899.
- (9) Rodrigues, G. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. Liquid–liquid extraction metal ions without use of organic solvent. *Sep. Purif. Technol.* **2008**, *62*, 687–693.
- (10) da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J. A novel micellar medium using triblock copolymer for cobalt determination. *Anal. Sci.* **2005**, *21*, 933–937.
- (11) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Amim-Junior, J.; Martins, J. P.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. Hydrophobic effect on the partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ anions in aqueous two-phase systems formed by triblock copolymers and phosphate salts. *Sep. Purif. Technol.* **2008**, *60*, 103–112.
- (12) da Silva, M. D. H.; da Silva, L. H. M.; Amim Junior, J.; Guimaraes, R. O.; Martins, J. P. Liquid–liquid equilibrium of aqueous mixture of triblock copolymers L35 and F58 with Na_2SO_4 or Li_2SO_4 or MgSO_4 . *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51*, 2260–2264.
- (13) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Mesquita, A. F.; do Nascimento, K. S.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. Equilibrium phase behavior of triblock copolymer + salt + water two-phase systems at different temperatures and pH. *J. Chem. Eng. Data* **2005**, *50*, 1457–1462.
- (14) Haraguchi, L. H.; Mohamed, R. S.; Loh, W.; Pêsoa Filho, P. A. Phase equilibrium and insulin partitioning in aqueous two-phase systems containing block copolymers and potassium phosphate. *Fluid Phase Equilib.* **2004**, *215*, 1–15.
- (15) de Oliveira, M. C.; de Abreu Filho, M. A. N.; Pêsoa Filho, P. A. Phase equilibrium and protein partitioning in aqueous two-phase systems containing ammonium carbamate and block copolymers PEO-PPO-PEO. *Biochem. Eng. J.* **2007**, *37*, 311–318.
- (16) Svensson, M.; Berggren, K.; Veide, A.; Tjerneld, F. Aqueous two-phase systems containing self-associating block copolymers: partitioning of hydrophilic and hydrophobic biomolecules. *J. Chromatogr., A* **1999**, *839*, 71–83.
- (17) Murugesan, T.; Perumalsamy, M. Liquid–liquid equilibria of poly(ethylene glycol) 2000 + sodium citrate + water at (25, 30, 35, 40, and 45) °C. *J. Chem. Eng. Data* **2005**, *50*, 1392–1395.
- (18) Malpiedi, L. C.; Fernández, C.; Picó, G.; Nerli, B. Liquid–liquid equilibrium phase diagrams of polyethyleneglycol + sodium tartarate + water two-phase systems. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 1175–1178.
- (19) Graber, T. A.; Taboada, M. E.; Asenjo, J. A.; Andrews, B. A. Influence of molecular weight of the polymer on the liquid–liquid equilibrium of the poly(ethylene glycol) + NaNO_3 + H_2O system at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data* **2001**, *46*, 765–768.
- (20) Kunz, W.; Henle, J.; Ninham, B. W. 'Zur Lehre von der Wirkung der Salze' (about the science of the effect of salts: Franz Hofmeister's historical papers. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2004**, *9*, 19–37.
- (21) Marcus, Y. Thermodynamics of solvation of ions. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1991**, *87*, 2995–2999.

Received for review December 23, 2008. Accepted May 22, 2009. We gratefully acknowledge Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support of this project. J.P.M. thanks Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), A.B.M. thanks CNPq and P.d.R.P. thanks FAPEMIG for research fellowships.

JE800992Z

Liquid–Liquid Equilibrium of Aqueous Two-Phase System Composed of
Poly(ethylene glycol) 400 and Sulfate Salts

Liquid–Liquid Equilibrium of Aqueous Two-Phase System Composed of Poly(ethylene glycol) 400 and Sulfate Salts

João Paulo Martins,[†] Jane S. dos Reis Coimbra,^{*‡} Fabíola Cristina de Oliveira,[‡] Guilherme Sanaíotti,[§] César A. S. da Silva,[§] Luis Henrique Mendes da Silva,[†] and Maria do Carmo H. da Silva[†]

Department of Chemistry, Federal University of Viçosa (UFV), P. H. Rolfs Avenue, s/n, 36570-000, Viçosa - MG, Brazil, Separation Process Laboratory (LPS), Department of Food Technology, Federal University of Viçosa (UFV), P. H. Rolfs Avenue, s/n, 36570-000, Viçosa - MG, Brazil, and ExTrAE, Laboratory of Extraction, Applied Thermodynamics and Equilibrium, Department of Food Engineering, Faculty of Food Engineering, University of Campinas - UNICAMP, P.O. Box 6121, 13083-862, Campinas - SP, Brazil

Phase diagrams of aqueous two-phase systems (ATPS) composed of 400 g·mol⁻¹ poly(ethylene glycol) (PEG) + sodium sulfate or magnesium sulfate were determined at (298.15, 308.15, and 318.15) K. The temperature effect on the biphasic area was not relevant, indicating a small enthalpic contribution associated with the phase separation. The ability of the salts in inducing the formation of the ATPS with PEG 400 followed the order sodium sulfate < magnesium sulfate. The liquid–liquid equilibrium experimental data were correlated using the NRTL (nonrandom two-liquid) activity coefficient model, and new interaction parameters were estimated. The mean deviations between calculated and experimental compositions were lower than 0.99 %, showing the good descriptive quality and applicability of the NRTL model.

Introduction

Aqueous two-phase systems (ATPS) are constituted of chemical species that separate into two different phases when mixed in certain ranges of composition and temperature. The formation of an ATPS can be achieved by using two different polymers in water or even an inorganic salt and a polymer in water.^{1,2} ATPS have typically been used in the separation and purification of proteins and other biomaterials.^{3,4} ATPS have also been used in the extraction of metallic ions,^{5,6} extractive crystallization of inorganic salts,^{7,8} extraction of sulfide minerals,⁸ separation of cell particles, and recovery of nanoparticles.⁹

ATPS of major practical interest are composed of poly(ethylene glycol) (PEG) and inorganic salts. These systems, when compared to those containing only polymers presents some advantages like lower cost, lower viscosity, lower interfacial tension, rapid phase disengagement, and easy scale-up. PEG is one of the most useful constituents in ATPS, given that this polymer is low in cost, nontoxic, noninflammable, and easy to handle.¹⁰ Among the biphasic-forming salts, sulfate salts are preferred over others because of their ability to promote hydrophobic interactions between the phases.^{11,12} This hydrophobic effect is important in protein partitioning in ATPS, where sulfate has a slight salting-in effect on the peptide group and a strong salting-out effect on the nonpolar groups, which leads to the fact that sulfate stabilizes the native structure of proteins and hence distinguishes itself from the usual protein denaturants.^{13,14}

The selective distribution of constituents of ATPS may be affected by different factors like the nature and size of the biocompound, molecular structure and size of the polymer chain, type of salt, pH, system overall composition, and temperature.^{1,2}

Liquid–liquid equilibrium (LLE) data at different temperatures and compositions are essential for the development, optimization, and scale-up of extraction process using ATPS. Moreover, useful information in phase diagrams can be attained by a thermodynamic model that can adequately describe these multiphase systems. An activity coefficient model, such as the NRTL (nonrandom two-liquid) model,¹⁵ has been successfully applied to correlate the LLE data for ATPS.^{16,17}

Equilibrium data for aqueous systems with PEG of different average molar masses and salts are reported in the literature.^{18–21} However, for systems containing PEG 400 + sulfate salts, equilibrium data are scarce. Thus, this work presents experimental data of ATPS composed of PEG 400 + sodium sulfate + water and PEG 400 + magnesium sulfate + water, at (298.15, 308.15, and 318.15) K. The effect of the salt nature and temperature on phase diagrams were investigated. The experimental data were correlated with the NRTL model, with the estimation of binary interaction parameters.

Experimental Section

Materials. The following reagents were used: triblock copolymer PEG with an average molar mass of 400 g·mol⁻¹ (Sigma-Aldrich, U.S.), sodium sulfate (Vetec, Brazil), and magnesium sulfate (Vetec, Brazil), all of analytical grade. Deionized water (Milli-Q, Millipore) was utilized in all experiments ($R \geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$). The polymer and salts were used as received.

ATPS. Ternary phase diagrams were prepared by weighing appropriate quantities of PEG 400, sulfate salts (sodium or magnesium), and water on an analytical balance (Gehaka, AG200, Brazil), with an accuracy of $\pm 0.0001 \text{ g}$. Liquid–liquid glass tubes were used to carry out phase equilibrium determinations. Typically, 12 g of system was prepared. After vigorously stirring of the system, until it became turbid, it was placed in a temperature-controlled bath (Microquímica, MQBTC 99-20,

* To whom correspondence should be addressed. Fax: +55-31-3899-2208. Phone +55-31-3899-2229. E-mail: jcoimbra@ufv.br.

[†] Department of Chemistry, Federal University of Viçosa.

[‡] Department of Food Technology, Federal University of Viçosa.

[§] University of Campinas - UNICAMP.

with an accuracy of ± 0.1 K) for 24 h at (298.15, 308.15, or 318.15) K. The equilibrium state was characterized by the absence of turbidity in both top and bottom phases. Samples of the top and bottom phases were collected for analysis.

Quantitative Analysis. The salt concentration (sodium or magnesium) was determined by conductivity (Schott CG853, Germany) of the electrolyte in the range of 10^{-4} to 10^{-3} M. The salt solutions showed the same conductivity in water or in the diluted polymer solution (0.6 to 0.01) %. The standard deviation of the salt mass fraction from this method was $+0.12$ %. A refractometer (analytic Jena AG Abbe refractometer 09-2001, Germany) was used to measure PEG 400 quantity at 298.15 K. Since the refractive index of the phase depends on the polymer and salt concentrations, PEG 400 content was obtained by subtracting the salt concentrations obtained by conductivity from the total solution composition (refractive index). The standard deviation of the PEG 400 mass fractions was on the order of 0.07 %. Analytical curves were obtained for the salt and PEG 400 measurements, and water content was determined by mass balance. All analytical measurements were performed in triplicate.

Thermodynamic Modeling. The experimental data were used to adjust the NRTL binary interaction parameters. Mole fractions have traditionally been used in this model, but mass fractions provide a more convenient composition unit because of the large difference in the molar masses of the components involved in polymeric systems. Stragevitch,²² Sé and Aznar,²³ Batista et al.,²⁴ and Lintomen et al.²⁵ used this approach with the NRTL model. When mass fractions are used, the model is expressed as:

$$\ln \gamma_i^w = \left(\frac{\sum_{j=1}^K \frac{\tau_{ij} G_{ij} w_j}{M_j}}{\sum_{j=1}^K \frac{G_{ij} w_j}{M_j}} + \sum_{j=1}^K \left[\frac{w_j G_{ij}}{M_j \sum_{k=1}^K G_{kj} w_k} \left(\tau_{ij} - \frac{\sum_{k=1}^K \frac{\tau_{ik} G_{ik} w_k}{M_k}}{\sum_{k=1}^K \frac{G_{kj} w_k}{M_k}} \right) \right] \right) \left(\frac{w_i}{\bar{M}_i \sum_{j=1}^K \left(\frac{w_j}{\bar{M}_j} \right)} \right) \quad (1)$$

where γ_i^w is the corresponding activity coefficient of component i expressed on the mass fraction, K is the total number of components in the data group, and \bar{M} and w are the average molar mass and mass fraction, respectively, of the components.

The quantities τ_{ij} and G_{ij} are given by

$$\tau_{ij} = \frac{\Delta g_{ij}}{RT} = \frac{A_{ij}}{T} \quad (2)$$

$$G_{ij} = \exp(-\alpha_{ij} \tau_{ij}) \quad (3)$$

$$\alpha_{ij} = \alpha_{ji} \quad (4)$$

This model has three adjustable parameters for each binary pair (Δg_{ij} , Δg_{ji} , and α_{ij}). The parameters Δg_{ij} and Δg_{ji} are related to the characteristic energy of interaction between the molecules of type i and j ; α_{ij} is related to the nonrandomness of the mixture. A_{ij} and A_{ji} are characteristic energy parameters of the i and j interactions; T is the absolute temperature. The NRTL interaction parameters can also be adjusted as functions of the absolute temperature and characteristic energy interaction parameters (with subscripts 0 and 1), as defined by the expression:

$$A_{ij} = A_{0ij} + A_{1ij} T \quad (5)$$

Estimation of interaction parameters was based on the minimization of the objective function of composition, presented in eq 6, according to the procedure developed by Stragevitch and d'Avila.²⁶

$$\text{OF}(w) = \sum_{m=1}^D \sum_{n=1}^N \sum_{i=1}^{K-1} \left[\left(\frac{w_{i,n,m}^{\text{TP,exptl}} - w_{i,n,m}^{\text{TP,calcd}}}{\sigma_{w_{i,n,m}^{\text{TP}}}} \right)^2 + \left(\frac{w_{i,n,m}^{\text{BP,exptl}} - w_{i,n,m}^{\text{BP,calcd}}}{\sigma_{w_{i,n,m}^{\text{BP}}}} \right)^2 \right] \quad (6)$$

where D is the total number of data groups; N is the total number of tie lines in the data group; K is the total number of components in the data group; w is the mass fraction; the subscripts i , n , and m are component, tie line, and group numbers, respectively; the superscripts TP and BP stand for the top and bottom phases, respectively; and exptl and calcd refer to experimental and calculated compositions. $\sigma_{w_{i,n,m}^{\text{TP}}}$ and $\sigma_{w_{i,n,m}^{\text{BP}}}$ represent the standard deviations observed in the compositions of the two liquid phases. The average deviations between experimental and calculated compositions were quoted according to eq 7.

$$\Delta w = \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^N \sum_{i=1}^K [(w_{i,n}^{\text{TP,exptl}} - w_{i,n}^{\text{TP,calcd}})^2 + (w_{i,n}^{\text{BP,exptl}} - w_{i,n}^{\text{BP,calcd}})^2]}{2NK}} \quad (7)$$

Results and Discussion

LLE data for systems composed of PEG 400 + sulfate salts + water are shown in Tables 1 and 2. Phase analysis revealed that the top phase was rich in PEG 400 and poor in electrolyte, while the bottom phase contained most of the electrolyte and

Table 1. LLE Data for Systems Composed of PEG 400 (w_{PEG}) | Na_2SO_4 (w_{S}) | H_2O (w_{W}), from (298.15 to 318.15) K

tie line	TLL	overall composition			top phase			bottom phase		
		100 w_{PEG}	100 w_{S}	100 w_{W}	100 w_{PEG}	100 w_{S}	100 w_{W}	100 w_{PEG}	100 w_{S}	100 w_{W}
$T = 298.15$ K										
1	0.3757	19.78	13.28	66.94	35.88	3.50	60.62	3.87	23.16	72.97
2	0.4103	20.09	14.09	65.82	37.28	2.93	59.79	2.96	25.41	71.63
3	0.4569	22.49	14.50	63.01	41.97	2.45	55.58	3.12	26.50	70.38
4	0.5031	23.52	15.45	61.03	44.90	2.02	53.08	2.28	28.76	68.58
$T = 308.15$ K										
1	0.3718	20.17	13.21	66.62	36.19	3.75	60.06	4.24	22.77	72.99
2	0.4053	21.42	13.34	65.24	38.93	3.04	58.03	4.05	23.68	72.27
3	0.4642	22.79	14.35	62.86	42.64	2.43	54.93	2.98	26.55	70.47
4	0.5131	24.45	15.41	60.14	46.28	2.05	51.67	2.52	28.85	68.63
$T = 318.15$ K										
1	0.3569	19.41	12.65	67.94	34.73	3.61	61.66	4.01	21.78	74.21
2	0.4264	21.43	13.75	64.82	39.63	2.78	57.59	3.14	24.84	72.02
3	0.4637	22.46	14.74	62.80	42.13	2.49	55.38	2.70	26.89	70.41
4	0.5044	23.36	15.48	61.16	44.66	2.06	53.28	1.93	28.86	69.21

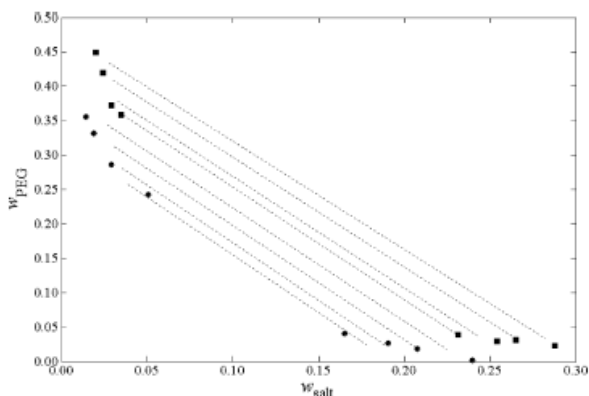


Figure 2. LLE for systems composed of PEG 400 + sulfate salts + water at 298.15 K: ■, Na₂SO₄; ●, Mg₂SO₄; dashed line, NRTL.

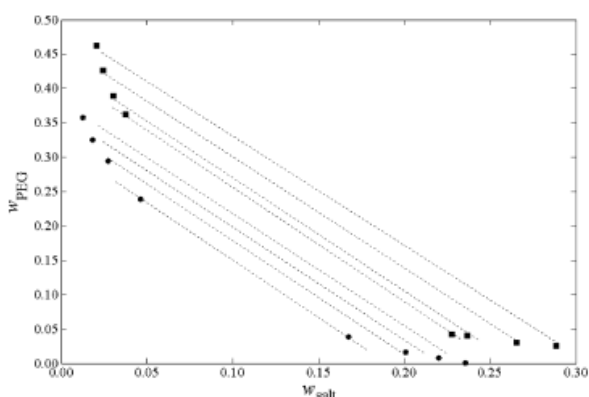


Figure 3. LLE for systems composed of PEG 400 + sulfate salts + water at 308.15 K: ■, Na₂SO₄; ●, Mg₂SO₄; dashed line, NRTL.

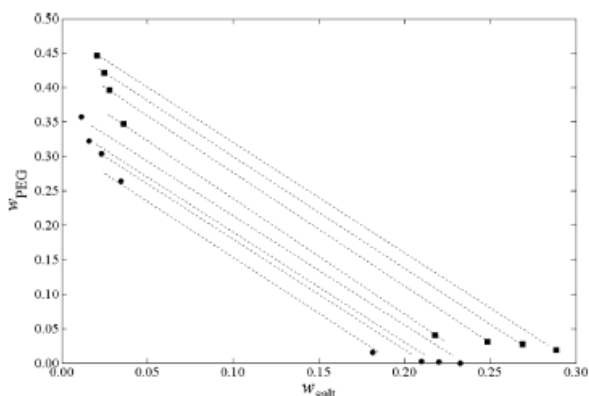


Figure 4. LLE for systems composed of PEG 400 + sulfate salts + water at 318.15 K: ■, Na₂SO₄; ●, Mg₂SO₄; dashed line, NRTL.

with mean deviations between calculated and experimental results smaller than 0.99 %. Figures 2, 3, and 4 present the experimental and calculated compositions using the NRTL model for the studied systems.

From these results, it was verified that the effect of temperature was not significant. All phase diagrams obtained show a very small dependence on the temperature. An increase in temperature causes a short expansion of the two-phase region, indicating only a small change in ΔC_p and ΔH associated with the phase segregation process. The same behavior is observed for all ATPS formed by PEG + sulfate salts.^{18–20,28}

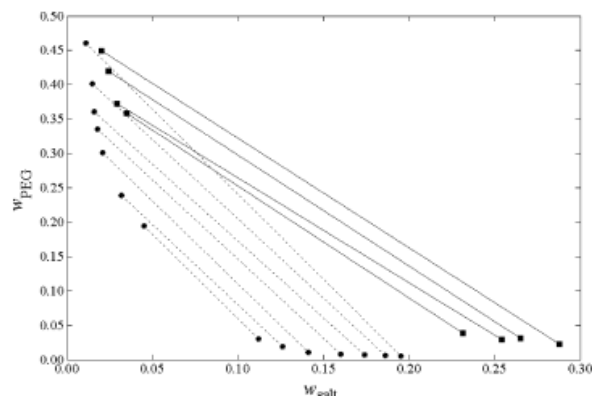


Figure 5. LLE for systems composed of PEG + sodium sulfate + water at 298.15 K: ■, PEG 400; ●, PEG 6000;³⁰ continuous line, PEG 400 tie lines; dashed line, PEG 6000 tie lines.³⁰

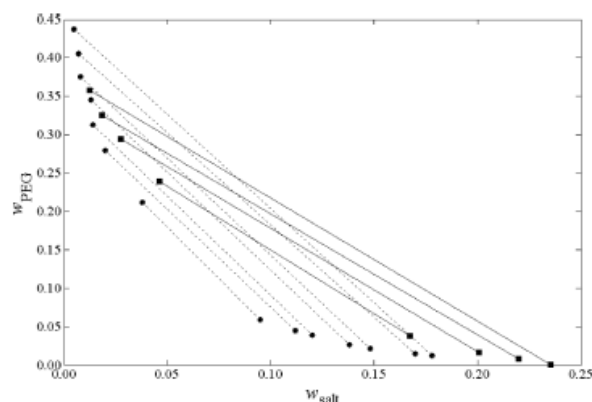


Figure 6. LLE for systems composed of PEG + magnesium sulfate + water at 298.15 K: ■, PEG 400; ●, PEG 6000;³⁰ continuous line, PEG 400 tie lines; dashed line, PEG 6000 tie lines.³⁰

From the results shown in Figures 2 to 4 it is also possible to appreciate the influence of an electrolyte in inducing phase segregation. The preference of the two investigated salts in inducing phase segregation in ATPS follows the order Na₂SO₄ < MgSO₄. A model proposed by da Silva and Loh,²⁹ based on calorimetric measurements, attributed the trend in the efficacy of sodium sulfates for inducing ATPS formation to the cation–polymer interactions. Their proposed model is that, when the PEG and sulfate salts are mixed, the cations interact with ethylene oxide polymer groups, decreasing interactions between PEG and solvating water molecules, in a process that is driven by entropy increase. This cation binding continues as more electrolyte is added, until a saturation point, after which no more entropy gain may be attained and phase splitting becomes more favorable. In general, interactions of ethylene oxide groups with different cations promote different biphasic areas. The same behavior was observed for systems composed of PEG 6000 or PEG 1500 + sulfate salts.^{20,28}

To have a better insight on the effect of PEG molar mass in phase diagrams, LLE data for systems composed of PEG 6000 + sulfate salts + at 298.15 K, reported by Salabat,³⁰ are presented in Figures 5 and 6. Although the overall compositions of this work and those utilized by Salabat³⁰ are different, it is possible to conclude that phase segregation was favored because of the higher PEG molar mass, being also evident through increases in the STL values.

Table 2. LLE Data for Systems Composed of PEG 400 (w_{PEG}) + Mg_2SO_4 (w_{S}) + H_2O (w_{W}), from (298.15 to 318.15) K

tie line	TLL	overall composition			top phase			bottom phase		
		100 w_{PEG}	100 w_{S}	100 w_{W}	100 w_{PEG}	100 w_{S}	100 w_{W}	100 w_{PEG}	100 w_{S}	100 w_{W}
$T = 298.15 \text{ K}$										
1	0.2317	14.11	10.77	75.12	24.22	5.07	70.71	4.08	16.53	79.39
2	0.3060	15.55	10.95	73.50	28.59	2.91	68.50	2.61	19.07	78.32
3	0.3654	17.45	11.29	71.26	33.15	1.92	64.93	1.85	20.78	77.37
4	0.4205	17.79	12.69	69.52	35.61	1.46	62.93	0.10	23.99	76.01
$T = 308.15 \text{ K}$										
1	0.2345	13.84	10.65	75.51	23.89	4.61	71.50	3.82	16.74	79.44
2	0.3278	15.54	11.43	73.03	29.47	2.74	67.79	1.65	20.08	78.27
3	0.3758	16.64	11.88	71.48	32.52	1.84	65.64	0.80	21.99	77.21
4	0.4211	17.77	12.39	69.84	35.75	1.25	63.00	0.03	23.55	76.42
$T = 318.15 \text{ K}$										
1	0.2886	13.92	10.81	75.27	26.39	3.47	70.14	1.55	18.17	80.28
2	0.3546	15.33	11.65	73.02	30.37	2.34	67.29	0.20	20.98	79.02
3	0.3803	16.18	11.77	72.05	32.20	1.59	66.21	0.10	21.99	78.01
4	0.4208	17.94	12.20	69.86	35.79	1.14	63.07	0.00	23.27	76.73

small PEG 400 quantities. This is a traditional behavior for ATPS, and all works in literature report a mutual exclusion between the polymer and the electrolyte.^{2-12,16-21,27}

An important parameter in ATPS is the tie line length (TLL), calculated according to eq 8. This parameter indirectly represents the differences of intensive thermodynamic properties between both phases.

$$\text{TLL} = [(w_{\text{PEG}}^{\text{TP}} - w_{\text{PEG}}^{\text{BP}})^2 + (w_{\text{S}}^{\text{TP}} - w_{\text{S}}^{\text{BP}})^2]^{1/2} \quad (8)$$

where w_{PEG} and w_{S} are the PEG and salt mass fractions and the superscripts TP and BP designate the top and bottom phases, respectively. As can be seen in Tables 1 and 2, greater polymer and salt mass fraction differences between the two phases led to higher values of TLL. Figure 1 presents the effect of PEG and sulfate salt overall mass fractions on the TLL at different temperatures. Enhancements in temperature and overall mass fractions of PEG and sulfate salts caused a slight increase in TLL. However, this relationship was not linear, which is typical of behavior observed in ATPS containing PEG + sulfate salts.^{18-21,28}

Table 3 presents the values of the slope of the tie line (STL), calculated according to eq 9.

$$\text{STL} = \frac{w_{\text{PEG}}^{\text{TP}} - w_{\text{PEG}}^{\text{BP}}}{w_{\text{S}}^{\text{TP}} - w_{\text{S}}^{\text{BP}}} \quad (9)$$

Despite the small temperature dependence of the STL values determined, results reported in literature show that, by increasing

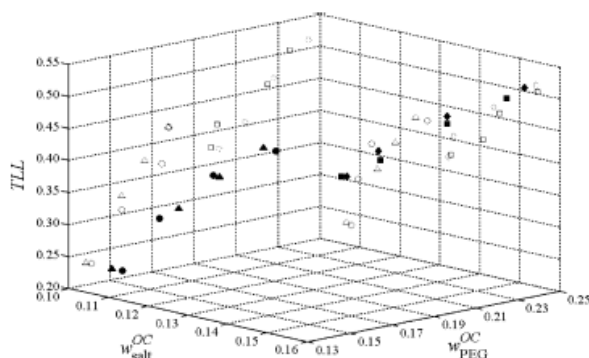


Figure 1. Effect of PEG and salt overall mass fractions on the TLL at different temperatures: ■, Na_2SO_4 at 298.15 K; ♦, Na_2SO_4 at 308.15 K; ●, Mg_2SO_4 at 298.15 K; ▲, Mg_2SO_4 at 308.15 K.

Table 3. STL Values for Systems Composed of PEG 400 + Salt + H_2O , from (298.15 to 318.15) K

tie line	T/K		
	298.15	308.15	318.15
PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O			
1	-1.63	-1.68	-1.69
2	-1.53	-1.69	-1.65
3	-1.62	-1.64	-1.62
4	-1.59	-1.63	-1.59
PEG 400 + Mg_2SO_4 + H_2O			
1	-1.76	-1.65	-1.69
2	-1.61	-1.60	-1.62
3	-1.66	-1.57	-1.57
4	-1.58	-1.60	-1.62

Table 4. Adjusted NRTL Parameters in Function of Absolute Temperature, from (298.15 to 318.15) K

$i-j$	A_{0ij}/K	A_{0ji}/K	A_{1ij}	A_{1ji}	α_{ij}
PEG 400- Na_2SO_4	-3197.5	597.94	19.475	0.1356	0.2983
PEG 400- Mg_2SO_4	-3273.8	412.05	18.669	0.5030	0.6994
PEG 400- H_2O	2606.8	-12249.00	-11.428	94.6330	0.5965
Na_2SO_4 - H_2O	4938.3	-196.43	-21.794	6.7471	0.2216
Mg_2SO_4 - H_2O	3453.8	-271.42	-18.200	10.2830	0.1623

Table 5. Mean Deviations in Phase Compositions for Systems Composed of PEG 400 + Sulfate Salts + H_2O , from (298.15 to 318.15) K

system	100 Δw
PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O at 298.15 K	0.66
PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O at 308.15 K	0.54
PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O at 318.15 K	0.51
PEG 400 + Mg_2SO_4 + H_2O at 298.15 K	0.99
PEG 400 + Mg_2SO_4 + H_2O at 308.15 K	0.97
PEG 400 + Mg_2SO_4 + H_2O at 318.15 K	0.66
average overall deviation	0.75

the temperature, STL values tend to increase, reducing the amount of salt needed to form a biphasic system with a given amount of PEG.¹⁹ However, for lower molar mass PEG, this effect seems to be indistinguishable at different temperatures.²¹ The average STL for a system composed of PEG 400 + sodium sulfate at different temperatures was equal to (-1.63 ± 0.05) . The same value was found for systems containing PEG 400 + magnesium sulfate.

The adjusted NRTL parameters as functions of absolute temperature are presented in Table 4. Deviations between experimental and calculated compositions in both phases were quoted according to eq 7 and are shown in Table 5. From these results, it was observed that the NRTL model accurately described the phase compositions of the investigated systems,

Conclusions

Equilibrium data for systems composed of PEG 400 + sodium sulfate + water and PEG 400 + magnesium sulfate + water were determined at different temperatures of (298.15 to 318.15) K. The data were correlated using the NRTL model, with the estimation of new interaction parameters. The model was able to correlate the data with excellent precision, yielding an average global mean deviation of 0.75 % between experimental and calculated equilibrium compositions. Moreover, the temperature effect on the biphasic area was not relevant. The cation nature had an effect on the phase diagram of these ATPS. The efficacy of the salts in inducing phase segregation follows the order sodium sulfate < magnesium sulfate.

Literature Cited

- Albertsson, P. A. *Partition of Cell Particles and Macromolecules*, 3rd ed.; John Wiley & Sons: New York, 1986.
- Zaslavsky, B. Y. *Aqueous Two Phase Partitioning, Physical Chemistry and Bioanalytical Applications*; Marcel Dekker: New York, 1995.
- Silva, C. A. S.; Coimbra, J. S. R.; Rojas, E. E. G.; Minim, L. A.; Silva, L. H. M. Partitioning of Caseinomacropetide in Aqueous Two-Phase Systems. *J. Chromatogr., B* **2007**, *858*, 205–210.
- Rosa, P. A. J.; Azevedo, A. M.; Aires-Barros, M. R. Application of Central Composite Design to the Optimisation of Aqueous Two-Phase Extraction of Human Antibodies. *J. Chromatogr., A* **2007**, *1141*, 50–60.
- Silva, L. H. M.; Silva, M. C. H.; Amim Júnior, J.; Martins, J. P.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. Hydrophobic Effect on the Partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ Anions in Aqueous Two-Phase Systems Formed by Triblock Copolymers and Phosphate Salts. *Sep. Purif. Technol.* **2008**, *60*, 103–112.
- Silva, L. H. M.; Silva, M. C. H.; Aquino, R. A. N.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. Nitroprusside-PEO Enthalpic Interaction as Driving Force for Partitioning of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ Anion in Aqueous Two-Phase Systems Formed by Poly (Ethylene Oxide) and Sulfate Salts. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 23540–23546.
- Taboada, M. E.; Palma, P. A.; Graber, T. A. Crystallization of Potassium Sulfate by Cooling and Salting-Out Using 1-Propanol in a Calorimetric Reactor. *Cryst. Res. Technol.* **2004**, *38*, 12–19.
- Osseo-Azare, K.; Zeng, X. Partition of Pyrite in Aqueous Biphasic Systems. *Int. J. Miner. Process* **2000**, *58*, 319–330.
- Braas, G.; Walker, S.; Lyddiatt, A. Recovery in Aqueous Two-Phase Systems of Nanoparticulates Applied as Surrogate Mimics for Viral Gene Therapy Vectors. *J. Chromatogr., B* **2000**, *743*, 409–419.
- Graber, T. A.; Galvez, M. E.; Galleguillos, H. R.; Alvarez-Benedi, J. Liquid-Liquid Equilibrium of the Aqueous Two-Phase System Water + PEG 4000 + Lithium Sulfate at Different Temperatures. Experimental Determination and Correlation. *J. Chem. Eng. Data* **2004**, *49*, 1661–1664.
- Su, C. K.; Chiang, B. H. Partitioning and Purification of Lysozyme from Chicken Egg White Using Aqueous Two-Phase System. *Process Biochem. (Oxford, U.K.)* **2006**, *41*, 257–263.
- Eiteman, M. A.; Gainer, J. L. Partition of Isomeric Dipeptides in Poly (Ethylene Glycol)/Magnesium Sulfate Aqueous Two-Phase Systems. *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1073*, 451–455.
- Kumar, D. Apparent Molar Volume of Some Amino Acids in Aqueous Electrolytes Systems. *Can. J. Chem.* **1999**, *77*, 1288–1294.
- Liu, C.; Ren, C. Transfer Properties of Amino Acids from Water to Aqueous Sodium Sulfate Solutions at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, DOI: 10.1021/jc900218z.
- Renon, H.; Prausnitz, J. M. Local Compositions in Thermodynamic Excess Functions for Liquid Mixtures. *AIChE J.* **1968**, *14*, 135–144.
- Sé, R. A. G.; Aznar, M. Liquid-Liquid Equilibrium of the Aqueous Two-Phase System Water + PEG 4000 + Potassium Phosphate at Four Temperatures: Experimental Determination and Thermodynamic Modeling. *J. Chem. Eng. Data* **2002**, *47*, 1401–1405.
- Rasa, H.; Mohsen-Nia, M.; Modarress, H. Phase Separation in Aqueous Two-Phase Systems Containing Poly (Ethylene Glycol) and Magnesium Sulphate at Different Temperatures. *J. Chem. Thermodyn.* **2008**, *40*, 573–579.
- Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S. R.; Francisco, K. R.; Minim, L. A.; Silva, L. H. M.; Pereira, J. A. M. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Two-Phase Systems Containing Poly(ethylene) Glycol 4000 and Zinc Sulfate at Different Temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 919–922.
- Carvalho, C. P.; Coimbra, J. S. R.; Costa, I. A. F.; Minim, L. A.; Silva, L. H. M.; Maffia, M. C. Equilibrium Data for PEG 4000 + Salt + Water Systems from (278.15 to 318.15) K. *J. Chem. Eng. Data* **2007**, *52*, 351–356.
- Martins, J. P.; Carvalho, C. P.; Silva, L. H. M.; Coimbra, J. S. R.; Silva, M. D. H.; Rodrigues, G. D.; Minim, L. A. Liquid-liquid Equilibria of Aqueous Two-Phase System Containing Poly(ethylene) Glycol 1500 and Sulfate Salts at Different Temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 238–241.
- Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; Silva, L. H. M.; Fontes, M. P. F. Liquid-Liquid Equilibria of Biphasic Systems Composed of Sodium Citrate + Polyethylene 1500 or 4000 at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 895–899.
- Stragevitch, L. *Liquid-Liquid Equilibrium in Non Electrolyte Mixtures (in Portuguese)*. D.Sc. Thesis, School of Chemical Engineering, University of Campinas, Campinas, 1997.
- Sé, R. A. G.; Aznar, M. Thermodynamic Modeling of Phase Equilibrium of Aqueous Two-Phase Systems Water + Poly(Ethylene Glycol) + Salt. *Braz. J. Chem. Eng.* **2002**, *19*, 255–266.
- Batista, E.; Monnerat, S.; Kato, K.; Stragevitch, L.; Meirelles, A. J. A. Liquid-Liquid Equilibrium for Systems of Canola Oil, Oleic Acid and Short-Chain Alcohols. *J. Chem. Eng. Data* **1999**, *44*, 1360–1364.
- Lintomen, L.; Pinto, R. T. P.; Batista, E.; Meirelles, A. J. A.; Wolf-Maciel, M. R. Liquid-Liquid Equilibrium of the Water + Acid Citric + 2-Butanol + Sodium Chloride System at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data* **2000**, *45*, 1211–1214.
- Stragevitch, L.; d'Ávila, S. G. Application of a Generalized Maximum Likelihood Method in the Reduction of Multicomponent Liquid-Liquid Equilibrium Data. *Braz. J. Chem. Eng.* **1997**, *14*, 41–52.
- Huddleston, J. G.; Willauer, H. D.; Rogers, R. D. Phase Diagram Data for Several PEG + Salt Aqueous Biphasic Systems at 25 °C. *J. Chem. Eng. Data* **2003**, *48*, 1230–1236.
- Martins, J. P.; Oliveira, F. C.; Coimbra, J. S. R.; Silva, L. H. M.; Silva, M. C. H. Equilibrium Phase Behavior for Ternary Mixtures of Poly (Ethylene) Glycol 6000 + Water + Sulfate Salts at Different Temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *53*, 2441–2443.
- 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). *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10069–10073.
- Salabat, A. The Influence of Salts on the Phase Composition in Aqueous Two-Phase Systems: Experiments and Predictions. *Fluid Phase Equilib.* **2001**, *188*, 489–498.

Received for review July 20, 2009. Accepted October 7, 2009. The authors acknowledge the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and the Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) for the financial support.

JE9006162

Liquid–Liquid Phase Equilibrium of Triblock Copolymer F68,
Poly(ethylene oxide)-*b*-poly(propylene oxide)-*b*-poly(ethylene oxide),
with Sulfate Salts

Liquid–Liquid Phase Equilibrium of Triblock Copolymer F68, Poly(ethylene oxide)-*b*-poly(propylene oxide)-*b*-poly(ethylene oxide), with Sulfate Salts

João Paulo Martins,[†] Maria do Carmo Hespanhol da Silva,[†] Luis Henrique Mendes da Silva,^{*,‡} Tonimar Domiciano Arrighi Senra,[†] Guilherme Max Dias Ferreira,[†] Jane Sélia dos Reis Coimbra,[‡] and Luis Antonio Minim[‡]

Grupo de Química Verde Coloidal e Macromolecular, Departamento de Química, and Departamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal de Viçosa, Av. P. H. Rolfs s/n, 36570-000, Viçosa - MG, Brazil

Phase diagrams of aqueous two-phase systems (ATPS) composed of triblock copolymer (F68) 8460 g·mol⁻¹, sodium sulfate, lithium sulfate, zinc sulfate, or ammonium sulfate were determined at (278.2, 288.2, and 298.2) K. The temperature effect on the biphasic area is very small, indicating a strong entropic contribution associating to the phase separation. The ability of these four salts in inducing the formation of the ATPS with F68 followed the order: sodium sulfate > zinc sulfate > ammonium sulfate > lithium sulfate.

Introduction

An aqueous two-phase system (ATPS) consists of a mixture of two structurally different polymers (or polymer + salt) that separate into two phases above a critical concentration and temperature. The ATPS offers advantages of high capacity,¹ lower excess interfacial properties,² and facile scale-up.³ These systems can be used for determination, purification, or separation of chemical compounds such as phenol,⁴ natural dye,⁵ metal ions,^{6,7} amino acids,⁸ or biological structures^{9,10} such as viruses, antibodies, or cells. The partitioning behavior of a chemical compound depends on properties such as net charge, size, and hydrophobicity. It can also be affected by including various salts in the system and changing the pH,¹¹ temperature,¹² type of polymer,¹³ or polymer molecular mass.¹⁴

Many ATPS have been found utilizing hydrophilic or hydrophobic polymers in aqueous solution. The most commonly used system is formed by the macromolecule poly(ethylene glycol) (PEG, HO-(CH₂-CH₂-O)_n-H) and an inorganic salt. However, the low hydrophobicity of ATPS formed by PEG + salt mixtures hinders separation of insoluble water molecules.

An alternative, to use ATPS to purify or separate hydrophobic compounds, is to exchange the PEG for a triblock copolymer. This type of macromolecule builds self-organized structures (micelles), which allow the application of ATPS to separate solutes with a small affinity to a water microenvironment.¹⁵ Another advantage is the possibility of obtaining a triblock copolymer with different EO (ethylene oxide unit)/PO (polypropylene oxide unit) rates that may change hydrophobicity of the ATPS. The equilibrium data for ATPS formed by triblock copolymers of different EO/PO ratios (and/or different average molar mass) and inorganic salts^{16–20} or Dextran + triblock copolymer²¹ are very limited. This lack of data limits the application of ATPS formed by auto-organized structures for purifying hydrophobic compounds.

* To whom correspondence should be addressed. Tel.: + 5531-38993052. Fax: + 5531-38993065. E-mail: luhen@ufv.br.

[†] Grupo de Química Verde Coloidal e Macromolecular, Departamento de Química.

[‡] Departamento de Tecnologia de Alimentos.

Table 1. Equilibrium Data for the F68 (w_{F68}) + Sodium Sulfate (w_S) + Water (w_W) System from (278.15 to 298.15) K

system	tie line length	overall			top phase			bottom phase		
		w _{F68}	w _S	w _W	w _{F68}	w _S	w _W	w _{F68}	w _S	w _W
T = 278.2 K										
1	20.13	10.91	7.06	82.03	20.43	3.77	75.80	1.40	10.34	88.26
2	27.82	12.94	7.68	79.38	25.88	2.57	71.55	0.01	12.79	87.20
3	33.80	15.83	7.94	76.23	31.66	2.01	66.33	0.01	13.86	86.13
4	35.98	17.41	7.96	74.63	34.24	1.61	64.15	0.58	14.31	85.11
5	41.11	18.82	9.69	71.49	37.62	1.40	60.98	0.01	17.99	82.00
T = 288.2 K										
1	23.65	12.52	6.62	80.86	23.81	3.10	73.09	1.23	10.14	88.63
2	29.09	15.19	6.88	77.93	29.04	2.43	68.53	1.34	11.33	87.33
3	34.54	17.58	7.51	74.91	33.94	1.97	64.09	1.23	13.05	85.72
4	38.81	18.93	8.45	72.62	37.12	1.70	61.18	0.73	15.20	84.07
5	42.33	21.13	8.93	69.94	40.93	1.45	57.61	1.33	16.42	82.25
T = 298.2 K										
1	24.67	12.30	5.81	81.80	24.28	2.52	73.20	0.51	9.11	90.38
2	26.53	12.90	6.34	80.76	25.65	2.68	72.67	0.15	10.00	89.85
3	31.94	15.35	6.97	77.68	30.69	2.54	66.77	0.01	11.41	88.58
4	37.42	17.85	7.70	74.45	35.56	1.65	62.79	0.15	13.75	86.10
5	39.89	18.70	8.69	72.61	37.40	1.74	60.86	0.01	15.63	84.36

In this work, aqueous two-phase systems composed of triblock copolymer F68 ((PEO)₈₀-(PPO)₃₀-(PEO)₈₀) + sodium salt + water were constructed, and their phase compositions were observed. Equilibrium data at (278.2, 288.2, and 298.2) K were determined for the systems consisting of F68 + sodium sulfate + water, F68 + zinc sulfate + water, F68 + lithium sulfate + water, and F68 + ammonium sulfate + water. The influences of the cation electrolyte and temperature on the biphasic area were also investigated.

Experimental Section

Materials. The following reagents were used: triblock copolymer F68 (80 % EO), (PEO)₈₀-(PPO)₃₀-(PEO)₈₀ (Sigma, USA), sodium sulfate, zinc sulfate, ammonium sulfate, and lithium sulfate (Vetec, Brazil), all of analytical grade. Millipore (USA) water was used in all experiments ($R \geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$). The triblock copolymer and salts were used as received. The copolymer was analyzed by gel permeation chromatography

Table 2. Equilibrium Data for the F68 (w_{F68}) + Zinc Sulfate (w_S) + Water (w_W) System from (278.2 to 298.2) K

system	tie line length	overall			top phase			bottom phase		
		w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W
$T = 278.2$ K										
1	23.12	11.09	8.51	80.40	21.77	4.10	74.13	0.40	12.93	86.67
2	27.67	12.96	8.86	78.18	25.46	2.93	71.61	0.46	14.79	84.75
3	30.44	13.74	9.51	76.75	27.35	2.70	69.95	0.13	16.32	83.55
4	33.14	16.16	9.39	74.45	31.02	2.06	66.92	1.30	16.72	81.98
5	37.99	16.62	10.82	72.56	33.23	1.60	65.17	0.01	20.04	79.95
$T = 288.2$ K										
1	16.50	8.52	8.14	83.34	16.18	5.09	78.73	0.85	11.20	87.95
2	25.55	11.63	8.74	79.63	23.21	3.36	73.43	0.04	14.13	86.32
3	28.85	13.91	8.60	77.49	27.04	2.64	70.33	0.77	14.56	84.66
4	33.67	15.24	9.43	75.33	30.43	2.18	67.38	0.04	16.68	83.39
5	38.13	17.01	10.37	72.62	33.98	1.67	64.35	0.04	19.05	81.78
$T = 298.2$ K										
1	16.69	9.31	7.12	83.57	17.03	3.96	79.01	1.58	10.28	88.14
2	22.66	10.61	7.88	81.51	21.15	3.72	75.13	0.07	12.04	87.89
3	28.74	13.43	8.04	78.53	26.84	2.89	70.27	0.01	13.19	86.80
4	33.32	15.46	8.49	76.05	30.92	2.27	66.81	0.01	14.70	85.29
5	36.92	17.06	8.98	73.96	34.10	1.89	64.01	0.01	16.07	83.92

(GPC) (AKTA, purifier, 10 \times , Pharmacia) using the following conditions: toluene as mobile phase at a rate of 0.8 mL \cdot min $^{-1}$, injection temperature of 318.2 K, refractive index detector, sample injection of 100 μ L. The standard polymer was polystyrene. This methodology was used to obtain the average molar mass (M_w) and polydispersity index (M_w/M_n) of 8460 g \cdot mol $^{-1}$ and 1.42, respectively, for the copolymers. GPC traces of homopolymers or diblock copolymer were not observed.

Aqueous Two-Phase Systems. Feed samples were prepared by mixing appropriate amounts of stock solutions of F68, sulfate salts (sodium, zinc, ammonium, or lithium), and water on an analytical balance (Gehaka, AG200, Brazil), with a given uncertainty \pm 0.0001 g. Glass tubes were used to carry out phase equilibrium determinations. Typically, 10 g of each system was prepared. After sufficient mixing, the turbid solution was placed in a temperature-controlled bath (Microquímica, MQBTC 99-20, with an uncertainty of \pm 0.1 K) for 72 h at (278.2, 288.2, or 298.2) K. The equilibrium state was characterized by the absence of turbidity in both top and bottom phases. Aliquots of solutions in both phases were carefully removed for analysis.

Quantitative Analysis. The salt concentration (sodium sulfate, zinc sulfate, ammonium sulfate, lithium sulfate) was determined by conductivity (Schott CG853, Germany) of the electrolyte in the range of (10^{-3} to 10^{-2}) % (w/w). The salt solutions showed the same conductivity in water or in the diluted polymer solution [(0.5 to 0.001) %]. The standard deviation of the salt mass percent from this method was \pm 0.10 %. A refractometer (Analytic Jena AG Abbe refractometer 09–2001, Germany) was used to measure F68 quantity at 298.2 K. Since the refractive index of the phase depends on the polymer and salt concentrations, F68 content was obtained by subtracting the salt concentration obtained by conductivity from the total solution composition (refractive index). The standard deviation of the F68 mass percent was on the order of 0.05 %. Analytical curves were obtained for the salt and F68 measurements. The water content was determined by difference of mass (mass, wt) of each component ($w_{H_2O} = w_{total} - w_S - w_{F68}$), where $w_{total} = 100$ % (w/w). All analytical measurements were performed in triplicate.

Table 3. Equilibrium Data for the F68 (w_{F68}) + Ammonium Sulfate (w_S) + Water (w_W) System from (278.2 to 298.2) K

system	tie line length	overall			top phase			bottom phase		
		w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W
$T = 278.2$ K										
1	18.70	10.29	9.36	80.35	18.97	5.89	75.14	1.61	12.83	85.56
2	23.96	11.85	9.63	78.52	22.96	5.13	71.91	0.75	14.12	85.13
3	28.26	13.65	9.79	76.56	26.72	4.42	68.86	0.58	15.15	84.27
4	33.29	16.58	10.17	73.25	31.91	3.68	64.41	1.25	16.66	82.09
5	38.02	17.77	11.38	70.85	35.01	3.37	61.62	0.53	19.38	80.09
$T = 288.2$ K										
1	19.51	9.25	9.65	81.10	18.20	5.77	76.03	0.30	13.53	86.17
2	26.03	12.34	9.19	78.47	24.54	4.66	70.80	0.14	13.72	86.14
3	29.58	13.88	9.70	76.42	27.65	4.31	68.04	0.10	15.09	84.81
4	32.32	14.52	11.3	74.18	29.04	4.21	66.75	0.00	18.39	81.61
5	41.60	19.16	11.12	69.72	38.32	3.02	58.66	0.00	19.21	80.79
$T = 298.2$ K										
1	17.05	9.51	8.02	82.47	17.73	5.75	76.52	1.30	10.30	88.40
2	23.66	13.06	7.95	78.99	24.49	4.90	70.61	1.63	11.01	87.36
3	32.93	15.78	8.72	75.50	31.46	3.71	64.83	0.09	13.73	86.18
4	36.25	16.91	10.19	72.90	33.79	3.58	62.63	0.04	16.80	83.16
5	40.04	18.64	11.07	70.29	37.23	3.65	59.12	0.04	18.50	81.46

Table 4. Equilibrium Data for the F68 (w_{F68}) + Lithium Sulfate (w_S) + Water (w_W) System from (278.2 to 298.2) K

system	tie line length	overall			top phase			bottom phase		
		w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W	w_{F68}	w_S	w_W
$T = 278.2$ K										
1	31.46	17.51	8.22	74.27	32.58	3.72	63.70	2.43	12.72	84.85
2	35.95	18.75	8.56	72.69	35.80	3.50	60.70	1.70	13.61	84.69
3	40.87	20.70	8.45	70.85	39.95	2.84	57.21	1.44	14.07	84.49
4	42.34	21.05	9.12	69.83	41.01	3.05	55.94	0.99	15.20	83.81
5	42.12	21.59	9.53	68.88	42.44	2.90	54.66	0.75	16.16	83.09
$T = 288.2$ K										
1	21.82	11.77	7.91	80.32	22.31	5.09	72.61	1.23	10.72	88.04
2	27.13	14.03	7.93	78.04	27.11	4.35	68.53	0.94	11.51	87.55
3	30.64	15.41	8.33	76.26	30.12	4.04	65.84	0.71	12.63	86.67
4	35.01	17.35	8.37	74.28	34.19	3.59	62.23	0.51	13.16	86.33
5	37.36	18.33	8.69	72.98	36.27	3.48	60.25	0.40	13.91	85.69
$T = 298.2$ K										
1	30.71	15.27	8.84	75.89	30.03	4.60	65.37	0.51	13.08	86.41
2	38.15	18.41	10.68	70.91	36.45	4.49	59.06	0.37	16.88	82.75
3	41.65	19.76	11.47	68.77	39.33	4.33	56.34	0.20	18.60	97.94
4	45.74	21.83	12.29	65.88	43.20	4.14	52.66	0.47	20.45	79.08
5	48.80	22.63	13.29	64.08	45.23	4.08	50.69	0.04	22.50	77.49

Results and Discussion

The experimental equilibrium compositions for the systems formed by F68 + salt (Li_2SO_4 , Na_2SO_4 , $(NH_4)_2SO_4$, or $ZnSO_4$) + water were obtained as listed in Tables 1 to 4. The compositions are given in mass percent [% (w/w)]. As expected, the top phase is rich in copolymer and poor in salt, while the bottom phase contained most of the salt and little copolymer. All ATPS formed by various types of polymers and salts present this behavior.²² However, the systems formed by PEG or L35 + sodium nitrate^{23,24} present a high concentration of a salt, (25 to 30) % (w/w), in the top phase.

The coexisting phases are close in composition. A mass balance check was made between the initial mass composition (global composition) of each component and the amounts of each component in the bottom and top phases on the basis of equilibrium composition.

The tie line length (TLL) is a thermodynamic parameter that expressed the difference of intensive properties of each phase. The tie line is determined by connecting each corresponding set of total, top, and bottom phase compositions. The TLL can be calculated by the equation

$$\text{TLL} = [(w_{\text{F68}}^{\text{T}} - w_{\text{F68}}^{\text{B}})^2 + (w_{\text{S}}^{\text{T}} - w_{\text{S}}^{\text{B}})^2]^{1/2} \quad (1)$$

where w_{F68} and w_{S} are the copolymer and salt compositions, and the superscripts T and B designate the top and bottom phases, respectively.

The TLL was calculated for all studied compositions (Tables 1 to 4). We observe that an increase of overall composition causes an increase of TLL. The ATPS formed by PEG6000²³ or PEG1500²⁴ + sulfate salts and L35 + sulfate salts¹⁷ present the same behavior as compared with the systems studied in the present work.

The effects of temperature on the splitting phase ability were investigated (Figures 1 to 4). All phase diagrams obtained show a small dependence on the temperature change. An increase in temperature causes a small expansion of the biphasic area, indicating a strong entropic contribution associated with the phase segregation event. The small contribution of temperature on the biphasic area is observed for the systems formed by PEG6000,²⁵ PEG1500,²⁶ L35, or F68¹⁷ + salt.

The slope of the tie line (STL) is a relevant parameter in ATPS. This parameter can indicate a relationship between overall composition and volume of phases. The STL can be calculated by the equation

$$\text{STL} = \frac{w_{\text{F68}}^{\text{T}} - w_{\text{F68}}^{\text{B}}}{w_{\text{S}}^{\text{T}} - w_{\text{S}}^{\text{B}}} \quad (2)$$

where w_{F68} and w_{S} are the triblock copolymer and salt compositions, and the superscripts T and B designate the top and bottom phases, respectively.

The STL was calculated for each system (Table 5). We observe that an increase in temperature causes an increase in

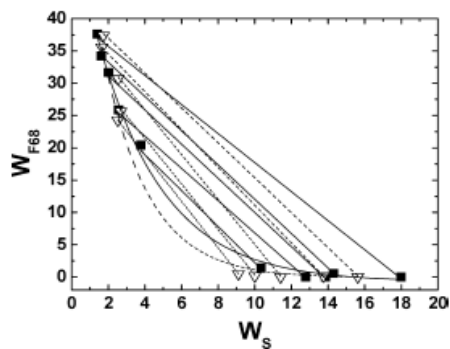


Figure 1. Temperature effects on the phase diagram for the F68 + sodium sulfate system: ∇ , 278.2 K; \blacksquare , 298.2 K.

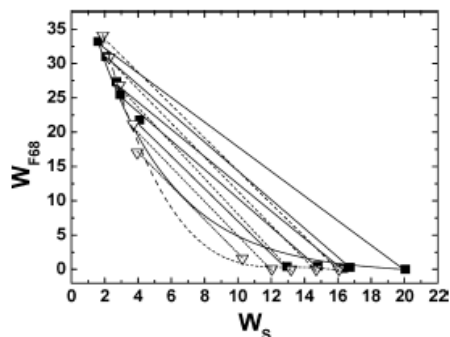


Figure 2. Temperature effects on the phase diagram for the F68 + zinc sulfate system: ∇ , 278.2 K; \blacksquare , 298.2 K.

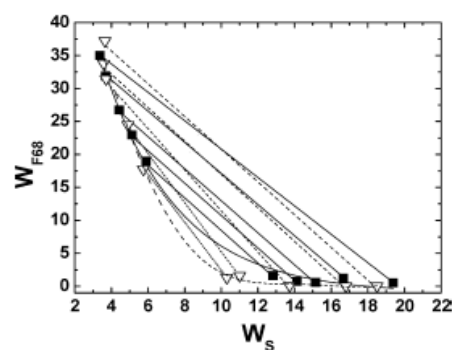


Figure 3. Temperature effects on the phase diagram for the F68 + ammonium sulfate system: ∇ , 278.2 K; \blacksquare , 298.2 K.

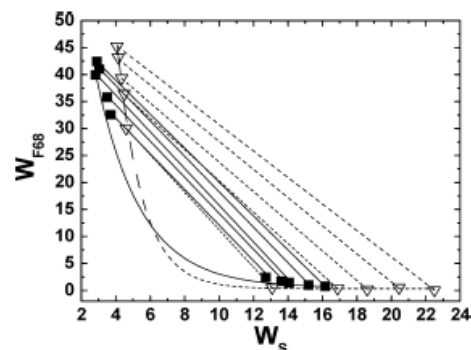


Figure 4. Temperature effects on the phase diagram for the F68 + lithium sulfate system: ∇ , 278.2 K; \blacksquare , 298.2 K.

Table 5. STL Values for F68 + Salt + Water Systems

system	T/K		
	278.2	288.2	298.2
F68 + sodium sulfate + water			
1	-2.90	-3.21	-3.61
2	-2.53	-3.11	-3.48
3	-2.67	-2.95	-3.46
4	-2.65	-2.70	-2.93
5	-2.27	-2.64	-2.69
F68 + zinc sulfate + water			
1	-2.42	-2.51	-2.44
2	-2.11	-2.15	-2.53
3	-2.00	-2.20	-2.60
4	-2.03	-2.10	-2.49
5	-1.80	-1.95	-2.41
F68 + ammonium sulfate + water			
1	-2.47	-2.30	-3.61
2	-2.46	-2.68	-3.74
3	-2.43	-2.54	-3.13
4	-2.36	-2.04	-2.55
5	-2.15	-2.37	-2.50
F68 + lithium sulfate + water			
1	-3.35	-3.74	-3.48
2	-3.25	-3.66	-2.91
3	-3.15	-3.42	-2.74
4	-3.07	-3.52	-2.62
5	-3.80	-3.44	-2.45

STL. This dependence ($T \times \text{STL}$) is observed in ATPS formed by polymer and salt, for example, the systems formed by PEG6000 or PEG1500 + sulfate salts.^{25,26} However, the dependence ($T \times \text{STL}$) is more pronounced for the systems formed by triblock copolymer + salt, especially for the systems formed by L35 (50 % of PPO units) + sulfate salts.¹⁷ This fact

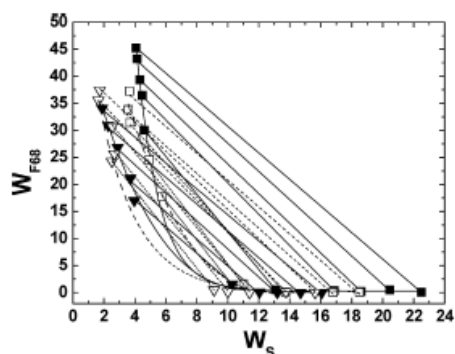


Figure 5. Cation effects on the phase diagram for the F68 + salt + water system at 298.2 K: ■, lithium sulfate; □, ammonium sulfate; ▼, zinc sulfate; ▽, sodium sulfate.

can be understood because the PPO (the triblock copolymer, F68, has 20 % of PPO units in the structure) becomes more hydrophobic with an increase in temperature.^{27,28} By increasing temperature, water molecules are driven from the top phase to the bottom phase. Thus, the F68 concentration at the F68-rich phase increases, while the salt-rich phase will become somewhat more diluted.

The effects of electrolyte nature were also studied (Figure 5). The preference (a major biphasic area) of four salts in inducing the phase separation in ATPS follows the order: $\text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{ZnSO}_4 > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{Li}_2\text{SO}_4$. This order is the same at all temperatures. The phase separation process was studied by da Silva and Loh.²⁹ They utilized calorimetric measurements to identify the driving forces responsible by the phase separation in ATPS. The enthalpic ($\Delta_{\text{Sep}}H > 0$) contribution for phase separation in ATPS is not relevant, and the driving force responsible for phase separation has an entropic origin. A model, based on calorimetric results, attributed the different behavior of lithium and sodium sulfates in inducing ATPS formation to the cation–polymer interactions. In this model, when the macromolecule [poly(ethylene glycol)] and salts (sulfate) are mixed, the cations interact with the EO groups of polymer, releasing some water molecules, which were solvating the polymer in a process that is driven by an increase in entropy. This cation binding continues as more electrolyte is added, until a saturation point, after which no more entropy gain may be attained and phase splitting becomes more favorable. This model can be expanded to understand the phase separation in triblock copolymers and salts. The same order was observed for the system formed by PEG6000,²⁵ PEG1500,²⁶ or PEG 2000³⁰ + sulfate salts. However, the systems formed by L35 + sulfate salts present the same biphasic region and are independent of the electrolyte cation type. The difference in behavior among PEG, F68 (80 % EO unit), and L35 (50 % EO unit) can be understood based on different hydrophobicity because a decrease of EO groups in the triblock copolymer promotes an increase of hydrophobicity of the entire polymer. Consequently, phase separation with a lower salt concentration is more favored.

Conclusions

Equilibrium data for the systems formed by F68 + sodium sulfate + water, F68 + zinc sulfate + water, F68 + lithium sulfate + water, and F68 + ammonium sulfate + water were determined at different temperatures from (278.2 to 298.2) K. The temperature effect on the biphasic area was observed, but the cation type has a major effect on the phase diagram of these ATPS. The efficacy of the salts in inducing phase segregation

follows the order sodium sulfate > zinc sulfate > ammonium sulfate > lithium sulfate. In general, the different interactions of the EO or PO groups with cations promote a different biphasic area.

Literature Cited

- (1) de Oliveira, R. M.; Coimbra, J. S. R.; Francisco, K. R.; Minim, L. A.; da Silva, L. H. M.; Pereira, J. A. M. Liquid-liquid equilibrium of aqueous two-phase systems containing poly(ethylene glycol) 4000 and zinc sulfate at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 919–922.
- (2) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. D. H.; de Sousa, R. C. S.; Martins, J. P.; Rodrigues, G. D.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. Surface excess enthalpy of PEO + salt + water and L35 + salt + water aqueous two phase systems. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *54*, 531–535.
- (3) Zafarani-Moattar, M. T.; Sadeghi, R. Phase behavior of aqueous two-phase PEG + NaOH system at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2004**, *49*, 297–300.
- (4) Rodrigues, G. D.; de Lemos, L. R.; da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. A green and sensitive method to determine phenols in water and wastewater samples using an aqueous two phase system. *Talanta* **2009**, 10.1016/j.talanta.2009.08.039.
- (5) Mageste, A. B.; de Lemos, L. R.; Ferreira, G. M. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Bonomo, R. C. F.; Minim, L. A. Aqueous two-phase systems: an efficient, environmentally safe and economically viable method for purification of natural dye carmine. *J. Chromatogr. A* **2009**, 10.1016/j.chroma.2009.09.048.
- (6) Lacerda, V. G.; Mageste, A. B.; Santos, I. J. B.; da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H. Separation of Cd and Ni from Ni-Cd batteries by an environmentally safe methodology employing aqueous two-phase systems. *J. Power Sources* **2009**, *193*, 908–913.
- (7) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; de Aquino, R. A. N.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. Nitroprusside-PEO enthalpic interaction as driving force for partitioning of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ anion in aqueous two-phase systems formed by poly(ethylene oxide) and sulfate salts. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 23540–23546.
- (8) Shang, Q. K.; Li, W.; Jia, Q.; Li, D. Q. Partitioning behavior of aminoacids in aqueous two phase systems containing polyethylene glycol and phosphate buffer. *Fluid Phase Equilib.* **2004**, *219*, 195–203.
- (9) Platis, D.; Nikolacs, E. L. Development of an aqueous two-phase partitioning system for fractionating therapeutic proteins from tobacco extract. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1128*, 114–124.
- (10) Benavides, J.; Mena, J. A.; Cisneros-Ruiz, M.; Ramirez, O. T.; Palomares, L. A.; Rito-Palomares, M. Rotavirus-like particles primary recovery from insect cells in aqueous two-phase systems. *J. Chromatogr. B* **2006**, *842*, 48–57.
- (11) Saravanan, S.; Raghava, R. J.; Murugesan, T.; Nair, B. U.; Ramasami, T. Partition of tannery wastewater proteins in aqueous two-phase poly(ethylene glycol)-magnesium sulfate systems: Effects of molecular weights and pH. *Chem. Eng. Sci.* **2007**, *62*, 969–978.
- (12) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Amim-Junior, J.; Martins, J. P.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. Hydrophobic effect on the partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ anions in aqueous two-phase systems formed by triblock copolymers and phosphate salts. *Sep. Purif. Technol.* **2008**, *60*, 103–112.
- (13) de Oliveira, M. C.; de Abreu Filho, M. A. N.; Pessôa Filho, P. A. Phase equilibrium and protein partitioning in aqueous two-phase systems containing ammonium carbamate and block copolymers PEO-PPO-PEO. *Biochem. Eng. J.* **2007**, *37*, 311–318.
- (14) Rodrigues, L. R.; Venâncio, A.; Teixeira, J. A. Partitioning and separation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin in polyethylene glycol/ammonium sulphate aqueous two-phase systems. *Biotechnol. Lett.* **2001**, *23*, 1893–1897.
- (15) Rodrigues, G. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R. Liquid-liquid extraction of metal ions without use of organic solvent. *Sep. Purif. Technol.* **2008**, *62*, 687–693.
- (16) da Silva, M. D. H.; da Silva, L. H. M.; Amim Junior, J.; Guimaraes, R. O.; Martins, J. P. Liquid-Liquid Equilibrium of Aqueous Mixture of Triblock Copolymers L35 and F68 with Na_2SO_4 or Li_2SO_4 or MgSO_4 . *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51*, 2260–2264.
- (17) da Silva, L. H. M.; da Silva, M. D. H.; Mesquita, A. F.; do Nascimento, K. S.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. J. Equilibrium Phase Behavior of Triblock Copolymer + Salt + Water Two-Phase Systems at Different Temperatures and pH. *J. Chem. Eng. Data* **2005**, *50*, 1457–1462.
- (18) Haraguchi, L. H.; Mohamed, R. S.; Loh, W.; Pessôa Filho, P. A. Phase equilibrium and insulin partitioning in aqueous two-phase systems

- containing block copolymers and potassium phosphate. *Fluid Phase Equilib.* **2004**, *215*, 1–15.
- (19) de Oliveira, M. C.; de Abreu Filho, M. A. N.; Pêsoa Filho, P. A. Phase equilibrium and protein partitioning in aqueous two-phase systems containing ammonium carbamate and block copolymers PEO-PPO-PEO. *Biochem. Eng.* **2007**, *37*, 311–318.
- (20) Rodrigues, G. D.; da Silva, M. D. H.; da Silva, L. H. M.; Teixeira, L. S.; de Andrade, V. M. 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. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *54*, 1894–1898.
- (21) Svensson, M.; Berggren, K.; Veide, A.; Tjerneld, F. Aqueous two-phase systems containing self-associating block copolymers Partitioning of hydrophilic and hydrophobic biomolecules. *J. Chromatogr. A* **1999**, *839*, 71–83.
- (22) Rogers, R. D.; Bond, A. H.; Bauer, C. B.; Zhang, J.; Jezl, M. L.; Roden, D. M.; Rein, S. D.; Chomko, R. R. *Aqueous Biphasic Separations: Biomolecules to Metal Ion*; Rogers, R. D., Eiteman, M. A., Eds.; Plenum Press: London, 1995.
- (23) Graber, T. A.; Taboada, M. E.; Asenjo, J. A.; Andrews, B. A. Influence of molecular weight of the polymer on the liquid-liquid equilibrium of the poly(ethylene glycol) + NaNO₃ + H₂O system at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data* **2001**, *46*, 765–768.
- (24) Martins, J. P.; Mageste, A. B.; da Silva, M. D. H.; da Silva, L. H. M.; Patricio, P. R.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A. Liquid-liquid equilibria of an aqueous two-phase system formed by a triblock copolymer and sodium salts at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *10.1021/je800992z*.
- (25) Martins, J. P.; de Oliveira, F. C.; Coimbra, J. S. R.; da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H. Equilibrium Phase Behavior for ternary mixtures of poly(ethylene) glycol 6000 + water + sulfate salts at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *53*, 2441–2443.
- (26) Martins, J. P.; Carvalho, C. P.; da Silva, L. H. M.; Coimbra, J. S. R.; da Silva, M. D. H.; Rodrigues, G. D.; Minim, L. A. Liquid-liquid equilibria of aqueous two-phase system containing poly(ethylene) glycol 1500 and sulfate salts at different temperatures. *J. Chem. Eng. Data* **2008**, *53*, 238–241.
- (27) Zafarani-Moattar, M. T.; Samadi, F.; Sadeghi, R. Volumetric and ultrasonic studies of the system (water + polypropylene glycol 400) at temperatures from (283.15 to 313.15) K. *J. Chem. Thermodyn.* **2004**, *36*, 871–875.
- (28) Sadeghi, R.; Ziamajidi, F. Thermodynamic properties of aqueous polypropylene oxide 400 solutions from isopiestic measurements over a range of temperatures. *Fluid Phase Equilib.* **2006**, *249*, 165–172.
- (29) 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). *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10069–10073.
- (30) Huddleston, J. G.; Willauer, H. D.; Rogers, R. D. Phase diagram data for several PEG + salt aqueous biphasic systems at 25 °C. *J. Chem. Eng. Data* **2003**, *48*, 1230–1236.

Received for review August 24, 2009. Accepted September 23, 2009. We gratefully acknowledge Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the financial support of this project. T. DAS and G. MDF thank CNPq and J.P.M. thanks Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for research fellowships.

JE9006986

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)