



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CAMPUS JUVINO OLIVEIRA**

**PARTIÇÃO DE BETALAÍNA DO FRUTO DE MANDACARU EM SISTEMAS  
AQUOSOS BIFÁSICOS FORMADOS POR PEG, SULFATO DE SÓDIO E ÁGUA.**

**RUI GOMES NASCIMENTO**

**ITAPETINGA – BA**

**FEVEREIRO 2017**

**RUI GOMES NASCIMENTO**

**PARTIÇÃO DE BETALAÍNA DO FRUTO DE MANDACARU EM SISTEMAS  
AQUOSOS BIFÁSICOS FORMADOS POR PEG, SULFATO DE SÓDIO E ÁGUA.**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de concentração em Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

**ORIENTADOR:**

Profª. DSc. Leandro Soares Santos

**CO-ORIENTADORES:**

Prof. DSc. Rafael da Costa Ilhéu Fontan

Prof. DSc. Renata Cristina Ferreira Bonômo

**ITAPETINGA-BA  
FEVEREIRO 2017**

664.8 NASCIMENTO, Rui Gomes.  
N198c Partição de Betalaína do Fruto de Mandacaru em Sistemas Aquosos Bifásicos Formados por Peg, Sulfato de Sódio e Água. / Rui Gomes Nascimento. – Itapetinga-Ba: UESB/Mestrado em Engenharia de Alimentos, 2017.  
106p. Il.

Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) - *campus* de Itapetinga. Sob a orientação do Prof<sup>o</sup>. D.Sc. Leandro Soares Santos e coorientação do Prof<sup>o</sup>. D.Sc. Rafael da Costa Ilhéu Fontan e Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Renata Cristina Ferreira Bonômo.

1. Engenharia de Alimentos – Corante natural. 2. Betalaína - Sistema aquoso bifásico - Coeficiente de partição. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, UESB, *Campus* de Itapetinga. II. SANTOS, Leandro Soares (Orient.) III. FONTAN, Rafael da Costa Ilheu (Coorient.). IV. BONÔMO, Renata Cristina Ferreira. V. Título.

**CDD: 664.07**

**Catálogo na Fonte:**

Rogério Pinto de Paula – CRB 1654 - 5ª Região  
Diretor da Biblioteca – UESB – Campus de Itapetinga-Ba  
Presidente do Conselho de Bibliotecas da UESB

**Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:**

1. Engenharia de Alimentos - Corante natural
2. Betalaína - Sistema aquoso bifásico - Coeficiente de partição



**Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia**  
Programa de Pós-Graduação  
**Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos**



Áreas de Concentração: Engenharia de Alimentos  
Ciência de Alimentos

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título:** PARTIÇÃO DE BETALAÍNA DO FRUTO DE MANDACARU EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS FORMADOS POR PEG, SULFATO DE SÓDIO E ÁGUA.

**Autor (a):** RUI GOMES NASCIMENTO

**Orientador (a):** Prof.º Dr. Leandro Soares Santos

**Coorientadores:** Prof.ª Dr.ª Renata Cristina Ferreira Bonomo  
Prof.º Dr. Rafael da Costa Ilhéu Fontan

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.

*Leandro Soares Santos*  
Prof.º Dr. Leandro Soares Santos (UESB)

*Cristiane Martins Veloso*  
Prof.ª Dr.ª Cristiane Martins Veloso (UESB)

*Sergio de Souza Castro*  
Prof.º Dr. Sergio de Souza Castro (UESB)

**Itapetinga-BA, 20 de fevereiro de 2017.**

*“Não se pode ter tudo na vida, mas não existe lei alguma que proíba as pessoas de lutar por seus objetivos.  
Dom, talento, inteligência... nada disso adianta se não existir gana e determinação”.*

*Kelly Slater*

**A Deus  
Aos meus pais  
A Nicolle**

**Dedico!**

## **Agradecimentos**

*Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por guiar meus passos e permitir superar todos os obstáculos para o alcance dessa vitória e a minha rainha Maria que sempre me amparou em maus momentos.*

*Aos meus pais Ney e Áurea, razões do meu viver, pelo carinho e amor inigualável, por cada gota de suor derramado, pelo esforço durante toda a vida e por se fazerem sempre presentes, amo vocês mais que tudo!*

*À minha irmã Nicolle que sei que posso contar com o apoio, carinho e amor, é a melhor irmã do mundo, te amo!*

*À Cida e Teté por se fazerem da família e pelo carinho e apoio de sempre.*

*À minha namorada Ilca, pelo amor e companheirismo, sempre me anima, incentiva e nunca deixou duvidar da minha capacidade.*

*Ao professor Leandro Soares, pela excelente orientação, pelas sugestões valiosas ao longo do trabalho, pelos esclarecimentos nos momentos de dúvidas, pela amizade e boa convivência.*

*Ao professor Sérgio Castro, por me acompanhar em grande parte do trabalho com exelentes contribuições e pela amizade adquirida, meu muito obrigado!*

*Ao professore Rafael Fontan, pelas valiosas contribuições e pela amizade adquirida, Meu muito obrigado!*

*À professora Cristiane Veloso, pelas sugestões e por fazer parte da banca examinadora.*

*Um agradecimento em especial ao casal de amigos Gabriel e Olga, que além da grande amizade e companheirismo de sempre, tiveram imensa importância para a realização dessa vitória e de outras vitórias. Obrigado por tudo mesmo.*

*Aos grandes amigos, em especial a Dexter, Jequié, Guigo, Paca, Daniel, Pitágoras, Manu, Michelle, Ben, Grazi e Fabíola. Sem vocês a caminhada seria mais complicada*

*Aos alunos e professores do LEP, que me ajudaram e tornaram os dias de trabalho menos cansativos.*

*À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).*

*À CAPES pela concessão da bolsa.*

Muito Obrigado!

## RESUMO

Nascimento, R. G. Partição de betalaína do fruto de mandacaru e obtenção de dados de equilíbrio e modelagem termodinâmica para sistemas aquosos formados por peg, sulfato de sódio e água e aplicação. Itapetinga – BA: UESB, 2017. 104 p. (dissertação – mestrado em engenharia de alimentos). \*

As Betalaínas são pigmentos que apresentam alto poder tintorial, tornando-as de grande importância para substituição de corantes artificiais. No entanto, este corante natural vem acompanhado de moléculas de açúcar em seu extrato bruto, tornando necessário promover sua purificação. Dentre os processos de purificação existentes, a utilização dos Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB's) tem sido recentemente aplicada à extração e purificação de corantes, pois é um método que separa o composto de interesse em condições que mantêm suas características físico-químicas. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo obter dados de equilíbrio de sistemas aquosos bifásicos compostos por polietilenoglicol, sal e água, fazer a modelagem termodinâmica desses dados e aplicá-los para a partição da Betalaína. Portanto, foram determinados 24 diagramas de fases, com três linhas de amarração em cada diagrama. Os dados de equilíbrio dos sistemas aquosos bifásicos contendo PEG 400 + sulfato de sódio + água e PEG 1500 + sulfato de sódio + água nos valores de pH 3,0, 4,0 e 5,0 nas temperaturas de 20°C, 25°C 30°C e 35°C foram obtidas mediante a técnica turbidimétrica e as linhas de amarração foram determinadas através regra da alavanca. Os resultados mostraram que, para a maioria dos sistemas, o efeito da temperatura não apresentou grandes variações na região bifásica. Foi verificado também que quanto maior o valor do pH e a massa molar do polímero, maior a região bifásica. Além disso, os dados de equilíbrio foram modelados termodinamicamente através do modelo UNIFAC e calculado o volume de exclusão. O modelo UNIFAC, que é basicamente preditivo, foi capaz de representar satisfatoriamente os sistemas estudados a partir dos dados experimentais obtidos pela regra da alavanca e forneceu valores relativamente baixos de desvio. Pode-se observar também que com o aumento dos valores de pH o volume de exclusão teve uma tendência a aumentar, esses valores foram comprovados através dos resultados da energia de interação. Posteriormente foi realizada a partição da betalaína a 25 °C, nos pH's 3, 4 e 5. Os coeficientes de partição da betalaína foram determinados pela relação da concentração do pigmento na fase superior e inferior e posteriormente investigados em função da massa molar do polímero e o comprimento da linha de amarração. Nos sistemas, pôde-se verificar que o aumento da massa molar do polímero promoveu o aumento do coeficiente de partição, assim como o aumento do valor do pH promoveu o aumento do coeficiente de partição da betalaína. Assim sendo conclui-se que os SAB's em estudo pode ser uma alternativa para a separação da betalaína, uma vez que estes proporcionam a separação da mesma.

**Palavras chave:** Betalaína, sistema aquoso bifásico e coeficiente de partição.

---

\* Orientador: DSc. UESB. Leandro Soares Santos; Co-orientadores: DSc. UESB. Rafael da Costa Ilhéu Fontan; DSc. UESB, Renata Cristina Ferreira Bonômo.

## SUMMARY

**Nascimento, R. G. Partition of betalain of the mandacaru fruit and obtaining equilibrium data and thermodynamic modeling for aqueous systems formed by peg, sodium sulfate and water and application. Itapetinga - BA: UESB, 2017. 104 p. (Dissertation - master's degree in food engineering). \***

The Betalainas are pigments that have high tintorial power, making them of great importance for the replacement of artificial dyes. However this natural dye comes accompanied by sugar molecules in its crude extract, making it necessary to promote its purification. Among the existing purification processes, the use of Biphasic Aqueous Systems (SAB's) has recently been applied to the extraction and purification of dyes, since it is a method that separates the compound of interest under conditions that maintain their sensorial characteristics. Thus, the objective of this work was to obtain equilibrium data of biphasic aqueous systems composed of polyethylene glycol, salt and water, to thermodynamic model these data and to apply them to the Betalaina partition. Therefore, 24 phase diagrams were determined with three mooring lines in each diagram. The equilibrium data of the biphasic aqueous systems containing PEG 400 + sodium sulphate + water and PEG 1500 + sodium sulphate + water at pH values 3.0, 4.0 and 5.0 at temperatures of 20 ° C, 25 ° C 30 ° C And 35 ° C were obtained by the turbidimetric technique and the mooring lines were determined through the lever rule. The results showed that, for most systems, the temperature effect did not show large variations in the biphasic region. It was also verified that the higher the pH value and the molar mass of the polymer, the greater the biphasic region. In addition, the equilibrium data were modeled thermodynamically through the UNIFAC model and calculated the exclusion volume. The UNIFAC model, which is basically predictive, was able to satisfactorily represent the studied systems with some functional groups and parameters of interaction existing in the literature and others estimated from the experimental data obtained in this work providing relatively low values of deviation, it can be observed Also that with the increase of the pH values the exclusion volume had a tendency to increase, these values were proved through the results of the interaction energy. Subsequently, Betalaine was partitioned at 25 ° C at pH 3, 4 and 5. The partition coefficients of betalain were determined by the ratio of the pigment concentration in the upper and lower phases and subsequently investigated as a function of the molar mass of the polymer and Length of the mooring line. In the systems, it was verified that the increase of the molar mass of the polymer promoted the increase of the partition coefficient, just as the increase of the pH value promoted the increase of the partition coefficient of betalain. Thus, it is concluded that the SAB's under study may be an alternative for the separation of betalaine, since these provide the separation of the same.

**Keywords:** Betalain, biphasic aqueous system and phase diagram.

---

\* Advisor: DSc. UESB. Leandro Soares Santos; Co-orientadores: DSc. UESB. Rafael da Costa Ilhéu Fontan; DSc. UESB, Renata Cristina Ferreira Bonômo.

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
2.1. Betalaínas .....	19
2.1.1. Aspectos Gerais.....	19
2.1.2. Fontes de Betalaínas .....	21
2.2. Fruto de Mandacaru .....	21
2.3. Métodos de purificação da Betalaína .....	23
2.4. Sistemas aquosos bifásicos .....	24
2.4.1. Tipos de sistemas aquosos bifásicos.....	25
2.4.2. Diagrama de fases .....	27
2.4.3. Variáveis que influenciam no diagrama de fases .....	29
2.4.4. Coeficiente de partição .....	31
2.5. Propriedades termofísicas .....	31
2.6. Modelagem termodinâmica .....	32
2.6.1. Métodos de contribuições de grupos .....	32
2.6.2. UNIFAC (Universal Functional Activity Coefficient model).....	33
2.7. Aplicação dos SAB's na separação de pigmentos.....	37
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>39</b>
3.1. Objetivo geral .....	39
3.2. Objetivos específicos.....	39
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>40</b>
4.1. Material.....	40
4.2. Preparo dos sistemas aquosos bifásicos .....	40
4.2.1. Determinação das curvas binodais.....	40
4.2.2. Determinação das linhas de amarração. ....	41
4.2.3. Quantificação dos componentes do sistema.....	43
4.3. Determinação da Densidade .....	44
4.4. Obtenção dos dados modelados .....	44
4.4.1. Cálculo dos Coeficientes de Atividade .....	44
4.4.2. Calculo das energias de interação .....	45
4.4.3. Cálculo do volume de exclusão.....	45
4.5. Obtenção do extrato de betalaína da casca do fruto de Mandacaru .....	46

4.6. Determinação dos parâmetros de partição.....	46
4.8. Determinação da quantidade de açúcar redutor. ....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	49
5.1. Diagrama de fases de equilíbrio.....	49
5.1.1. Efeito da massa molar no diagrama de fases de equilíbrio. ....	50
5.1.2. Efeito da temperatura no diagrama de fases de equilíbrio. ....	53
5.1.3. Efeito do pH no diagrama de fases de equilíbrio. ....	56
5.2. Estudo do Comportamento das Linhas de Amarração.....	58
5.3. Propriedades termofísicas. ....	66
5.3.1. Densidade.....	66
5.4. Estimativa dos parâmetros e energia de interação.....	69
5.4.1. Desvio dos sistemas e gráficos comparativos dos dados experimentais e calculados através do modelo UNIFAC. ....	73
5.5. Volume de exclusão dos sistemas .....	79
5.6. Partição da Betaláina e dos açúcares redutores em Sistemas Aquosos Bifásicos .....	80
6. CONCLUSÃO .....	84
7. REFERÊNCIAS .....	85
ANEXOS .....	98

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> ESTRUTURA GERAL DA BETALAÍNA: (A) MOLÉCULA DE ÁCIDO BETALÂMICO, PRESENTE EM TODAS AS MOLÉCULAS DE BETALAÍNA; (B) ESTRUTURA QUE REPRESENTARÁ UMA BETACIANINA OU BETAXANTINA DEPENDENDO DOS RADICAIS R1 E R2.....	19
<b>FIGURA 2:</b> ESTRUTURA BÁSICA DE BETACIANINAS VERMELHAS E BETAXANTINAS AMARELAS.....	20
<b>FIGURA 3:</b> DIAGRAMA DE FASE PARA SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS, EXPRESSOS EM COORDENADAS RETANGULARES. ....	27
<b>FIGURA 4:</b> DIAGRAMA DE FASES DO SISTEMA PEG + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, A TEMPERATURA 20°C (A), 25°C (B), 30°C (C) E 35°C, NO PH 3 EM DIFERENTES MASSAS MOLARES DO POLÍMERO. ....	51
<b>FIGURA 5:</b> DIAGRAMA DE FASES DO SISTEMA PEG + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, A TEMPERATURA 20°C (A), 25°C (B), 30°C (C) E 35°C, NO PH 4 EM DIFERENTES MASSAS MOLARES DO POLÍMERO. ....	52
<b>FIGURA 6:</b> DIAGRAMA DE FASES DO SISTEMA PEG + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, A TEMPERATURA 20°C (A), 25°C (B), 30°C (C) E 35°C, NO PH 5 EM DIFERENTES MASSAS MOLARES DO POLÍMERO. ....	52
<b>FIGURA 7:</b> DIAGRAMA DE FASES DO SISTEMA PEG 400 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, A PH 3,0 (A), PH 4,0 (B), E PH 5,0 (C), EM DIFERENTES TEMPERATURAS. ....	55
<b>FIGURA 8:</b> DIAGRAMA DE FASES DO SISTEMA PEG 1500 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, A PH 3,0 (A), PH 4,0 (B), E PH 5,0 (C), EM DIFERENTES TEMPERATURAS. ....	56
<b>FIGURA 9:</b> DIAGRAMA DE FASES PARA SISTEMAS FORMADOS POR PEG + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, PARA O PEG 400 (A) E PEG 1500 (B), NA TEMPERATURA DE 20 °C. ....	57
<b>FIGURA 10:</b> DIAGRAMA DE FASES PARA SISTEMAS FORMADOS POR PEG + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, PARA O PEG 400 (A) E PEG 1500 (B), NA TEMPERATURA DE 25 °C.....	57
<b>FIGURA 11:</b> DIAGRAMA DE FASES PARA SISTEMAS FORMADOS POR PEG + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, PARA O PEG 400 (A) E PEG 1500 (B), NA TEMPERATURA DE 30 °C. ....	58
<b>FIGURA 12:</b> DIAGRAMA DE FASES PARA SISTEMAS FORMADOS POR PEG + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, PARA O PEG 400 (A) E PEG 1500 (B), NA TEMPERATURA DE 35 °C. ....	58
<b>FIGURA 13:</b> EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A REGIÃO BIFÁSICA NA LINHA DE AMARRAÇÃO FORMADO POR PEG 1500 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA A PH 3,0 (A), PH 4,0 (B), E PH 5,0 (C). ....	62
<b>FIGURA 14:</b> EFEITO DO PH NO CLA E ILA NOS SISTEMAS DE PEG 1500 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA, NAS TEMPERATURAS DE 20°C (A), 25°C (B), 30°C (C) E 35°C (D). .	63
<b>FIGURA 15:</b> EFEITO DA MASSA MOLAR NO CLA E ILA DOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG 1500 E PEG 4000 A 20°C (A), 25°C (B), 30°C (C) E 35°C (D) NO PH 3. ....	65
<b>FIGURA 16:</b> EFEITO DA MASSA MOLAR NO CLA E ILA DOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG 1500 E PEG 4000 A 20°C (A), 25°C (B), 30°C (C) E 35°C (D) NO PH 4. ....	65
<b>FIGURA 17:</b> EFEITO DA MASSA MOLAR NO CLA E ILA DOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG 1500 E PEG 4000 A 20°C (A), 25°C (B), 30°C (C) E 35°C (D) NO PH 4. ....	66

<b>FIGURA 18:</b> DADOS EXPERIMENTAIS E CALCULADOS DO EQUILÍBRIO LIQUIDO-LIQUIDO PARA O SISTEMA PEG 1500 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA PELO MODELO UNIFAC A PH 3.....	75
<b>FIGURA 19:</b> DADOS EXPERIMENTAIS E CALCULADOS DO EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO PARA O SISTEMA PEG 1500 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA PELO MODELO UNIFAC A PH 4.....	75
<b>FIGURA 20:</b> DADOS EXPERIMENTAIS E CALCULADOS DO EQUILÍBRIO LIQUIDO-LIQUIDO PARA O SISTEMA PEG 1500 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA PELO MODELO UNIFAC A PH 5.....	76
<b>FIGURA 21:</b> FIGURA 21: DADOS EXPERIMENTAIS E CALCULADOS DO EQUILÍBRIO LIQUIDO-LIQUIDO PARA O SISTEMA PEG 400 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA PELO MODELO UNIFAC A PH 3. ....	77
<b>FIGURA 22:</b> DADOS EXPERIMENTAIS E CALCULADOS DO EQUILÍBRIO LIQUIDO-LIQUIDO PARA O SISTEMA PEG 400 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA PELO MODELO UNIFAC A PH 4.....	77
<b>FIGURA 23:</b> DADOS EXPERIMENTAIS E CALCULADOS DO EQUILÍBRIO LIQUIDO-LIQUIDO PARA O SISTEMA PEG 400 + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA PELO MODELO UNIFAC A PH 5.....	78

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1:</b> COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO MANDACARU .....	22
<b>TABELA 2:</b> VALORES MÉDIOS OBTIDOS DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CASCA DO FRUTO DE MANDACARU.....	23
<b>TABELA 3:</b> COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO EXTRATO DE BETERRABA.....	24
<b>TABELA 4:</b> SAB'S UTILIZADOS NA SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS.....	37
<b>TABELA 5:</b> COMPOSIÇÕES GLOBAIS PARA OS SISTEMAS EM PH = 3 FORMADOS POR SULFATO DE SÓDIO + PEG + ÁGUA, EXPRESSAS EM PORCENTAGEM MÁSSICA (%W/W).....	41
<b>TABELA 6:</b> COMPOSIÇÕES GLOBAIS PARA OS SISTEMAS EM PH = 4 FORMADOS POR SULFATO DE SÓDIO + PEG + ÁGUA, EXPRESSAS EM PORCENTAGEM MÁSSICA (%W/W).....	42
<b>TABELA 7:</b> COMPOSIÇÕES GLOBAIS PARA OS SISTEMAS EM PH = 5 FORMADOS POR SULFATO DE SÓDIO + PEG + ÁGUA, EXPRESSAS EM PORCENTAGEM MÁSSICA (%W/W).....	42
<b>TABELA 8:</b> PARÂMETROS RK E QK DOS GRUPOS PARA OS MODELOS UNIFAC. ....	45
<b>TABELA 9:</b> PREPARO DAS SOLUÇÕES DILUÍDAS DE GLICOSE, USADAS NA ELABORAÇÃO DA CURVA-PADRÃO, A PARTIR DA SOLUÇÃO-MÃE DE GLICOSE 1,0 G/ L .....	48
<b>TABELA 10:</b> PARÂMETROS A, B, C, E D E O COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R <sup>2</sup> ) OBTIDOS PARA O SISTEMAS PEG- SULFATO DE SÓDIO PELA EQUAÇÃO DE HU ET AL. (2003). ....	49
<b>TABELA 11:</b> DADOS DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO EM PORCENTAGEM MÁSSICA (%M/M) DOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG 400 (W1) + SULFATO DE SÓDIO (W2) + ÁGUA, EM DIFERENTES VALORES DE PH A DIFERENTES TEMPERATURAS. ....	59
<b>TABELA 12:</b> DADOS DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO EM PORCENTAGEM MÁSSICA (%M/M) DOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG 1500 (W1) + SULFATO DE SÓDIO (W2) + ÁGUA, EM DIFERENTES VALORES DE PH A DIFERENTES TEMPERATURAS. ....	60
<b>TABELA 13:</b> DENSIDADE, DAS FASES DOS SISTEMAS COMPOSTOS POR PEG (400/1500) + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA EM DIFERENTES VALORES DE PH E TEMPERATURA. ....	67
<b>TABELA 14:</b> VALORES DOS PARÂMETROS DE INTERAÇÃO, ENCONTRADOS NA LITERATURA, ESTIMADOS E ENERGIAS DE INTERAÇÃO REFERENTES AO SISTEMA PEG 400, PH 3 E T=25°C. ....	69
<b>TABELA 15:</b> VALORES DOS PARÂMETROS DE INTERAÇÃO, ENCONTRADOS NA LITERATURA, ESTIMADOS E ENERGIAS DE INTERAÇÃO REFERENTES AO SISTEMA PEG 400, PH 4 E T=25°C. ....	70
<b>TABELA 16:</b> VALORES DOS PARÂMETROS DE INTERAÇÃO, ENCONTRADOS NA LITERATURA, ESTIMADOS E ENERGIAS DE INTERAÇÃO REFERENTES AO SISTEMA PEG 400, PH 5 E T=25°C. ....	70
<b>TABELA 17:</b> VALORES DOS PARÂMETROS DE INTERAÇÃO (AIJ E AJI), ENCONTRADOS NA LITERATURA E ESTIMADOS E ENERGIAS DE INTERAÇÃO (TIJ ETJI) REFERENTES AO SISTEMA PEG 1500, PH 3 E T=25°C. ....	71
<b>TABELA 18:</b> VALORES DOS PARÂMETROS DE INTERAÇÃO (AIJ E AJI), ENCONTRADOS NA LITERATURA E ESTIMADOS E ENERGIAS DE INTERAÇÃO (TIJ ETJI) REFERENTES AO SISTEMA PEG 1500, PH 4 E T=25°C. ....	71

<b>TABELA 19:</b> VALORES DOS PARÂMETROS DE INTERAÇÃO (AIJ E AJI), ENCONTRADOS NA LITERATURA E ESTIMADOS E ENERGIAS DE INTERAÇÃO (TIJ ETJI) REFERENTES AO SISTEMA PEG 1500, PH 5 E T=25°C. ....	72
<b>TABELA 20:</b> DESVIOS NAS COMPOSIÇÕES DOS SISTEMAS POR MODELAGEM TERMODINÂMICA (UNIFAC). ....	73
<b>TABELA 21:</b> VALORES CALCULADOS DO VOLUME DE EXCLUSÃO DOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG (400/1500) + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA A 25°C.....	80
<b>TABELA 22:</b> COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DA BETALAÍNA (KP), NOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG (1500 OU 400) + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA A 25°C. ....	81
<b>TABELA 23:</b> COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (KP) DO AÇÚCAR REDUTOR, NOS SISTEMAS FORMADOS POR PEG (1500 OU 400) + SULFATO DE SÓDIO + ÁGUA A 25°C. ....	81

## 1. INTRODUÇÃO

Betalainas são pigmentos naturais de ocorrência restrita a algumas famílias de plantas. Por sua manifestação na natureza não ser tão abrangente, como as antocianinas, esta classe de pigmentos foi subestimada e não foi devidamente pesquisada ao longo dos anos (HERBACH et al., 2012). São corantes naturais hidrossolúveis, divididos em duas classes: as betacianinas e as betaxantinas. Esses pigmentos são ausentes de toxicidade e destacam-se pelo seu poder tintorial, estabilidade em uma ampla faixa de pH (3-7), prevalecendo a faixa de pH (3-5), e principalmente, pelos efeitos protetores a saúde devido ao potencial antioxidante (VOLP et al., 2009).

Existem poucas fontes disponíveis conhecidas de betalainas, sendo a principal, a beterraba vermelha, que contém alto teor de betacianina (CHANDRASEKHAR et al., 2015). Entretanto, a beterraba apresenta em sua composição elevados teores de nitrato (6,43g / 100g) e geosmina, esse último confere a beterraba sabor residual similar ao de terra. Essas características acabam por limitar a aplicação da beterraba e seus derivados em formulações alimentícias. É importante ressaltar que as betalainas extraídas de diferentes fontes apresentam alterações em sua estrutura, resultando em pigmentos com diferentes tonalidades e estabilidade (KOUL et al., 2012).

Em razão do que foi exposto fica evidente a necessidade e importância de estudar diferentes fontes botânicas na extração e caracterização das betalainas, de modo a viabilizar a sua aplicação comercial. Dentre as fontes alternativas de extração de betalainas os frutos da família *Cactaceae* têm se destacado em razão de: apresentarem teores elevados de betacianina; apresentarem facilidade de extração das betalainas; ausência de compostos que geram depreciação e níveis reduzidos de nitrato. Dentre os frutos da família *Cactaceae*, a Pitaya é o fruto mais utilizados para extração e purificação da betalaina (DOS SANTOS et al., 2015). Entretanto há outros frutos dessa mesma família, como o Mandacaru, que não é explorado comercialmente e nem estudado quanto à viabilidade da extração de betalaina, mesmo apresentando as mesmas vantagens da pitaya.

A betalaina é, geralmente, comercializada na forma de extrato líquido (KOUL et al., 2012), extrato concentrado (SEDIYAMA et al., 2010), e extrato em pó (AGRAWAL et al., 2013). Entretanto, as técnicas aplicadas para a concentração e produção do extrato da betalaina não são capazes de levar a um produto com betalaina pura, ao

invés disso, o produto final apresenta carboidratos, lipídeos, fibras, proteínas e outros compostos, o que pode inviabilizar o estudo da estabilidade das betalaínas. Além do mais, betalaína, como corante alimentar natural está sempre acompanhada de açúcares livres, e estes aceleram a degradação da biomolécula, dessa forma, é importante que as moléculas de betalaína sejam separadas das moléculas de açúcar (CHETHANA et al., 2007). A fim de superar essas limitações as betalaínas foram extraídas e purificadas por outros métodos, como cromatografia e microfiltração (GONÇALVES et al., 2013; SCHERER et al., 2015). Esses processos que garantiram pureza do produto final, contudo, apresentaram a necessidade de um aparato de alto valor aquisitivo, tornando necessário o uso de uma técnica que purifique a betalaína de modo mais econômico.

Entre os processos de purificação existentes, a utilização dos sistemas aquosos bifásicos (SAB's) apresenta-se como uma excelente alternativa, na extração e purificação da betalaína. Tendo em vista que os SABs são constituídos por duas fases imiscíveis que promovem a separação do composto de interesse em condições amenas, de forma que sejam preservadas as suas características. Além disso, apresenta alto teor de água em cada fase (entre 70% a 90%), o que favorece a estabilidade dos compostos. Os componentes utilizados na formação dos sistemas apresentam ainda as vantagens de serem atóxicos, não inflamáveis e possuem baixo custo de aquisição quando comparados a outros métodos de extração e purificação (OLIVEIRA, 2006).

Entretanto, ao se fazer um estudo de extração e purificação de corantes é necessário conhecer os dados de equilíbrio dos sistemas que serão utilizados. Para cada sistema seja polímero/polímero ou polímero/sal existe um diagrama de fases que define as proporções entre os componentes formadores das fases. Alguns já estão disponíveis na literatura (ANATHAPADMANABHAN e GODDARD, 1987; SNYDER et al., 1992; SALABAT, 2001; FERREIRA e TEIXEIRA; 2011; LEMOS et al., 2011). As informações sobre o diagrama de fases, bem como o desenvolvimento da modelagem termodinâmica do equilíbrio de fases, são pontos importantes para o desenvolvimento, projeto, simulação e operação dos processos de separação. No entanto, os sistemas compostos por polímero e sal a determinadas faixas de temperaturas e valores de pH ainda são pouco estudados, tendo como consequência a escassez de dados na literatura.

Dessa forma, neste trabalho são determinados dados do equilíbrio líquido-líquido para os sistemas de duas fases aquosas constituídos por água + polietilenoglicol (PEG) (1500, 400) + sulfato de sódio nas temperaturas (20, 25, 30, 35)°C, nos pHs (3, 4, 5) e obtidos parâmetros de interação via modelo termodinâmico UNIFAC, com o objetivo de auxiliar as melhores condições para a separação e purificação da betalaína presente na casca do fruto de mandacaru.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

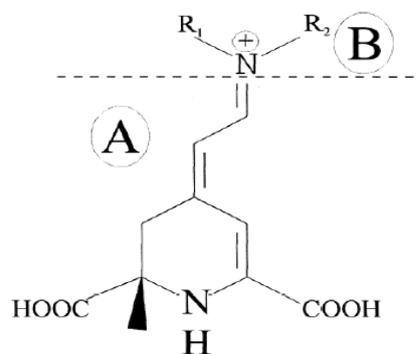
### 2.1. Betalaínas

#### 2.1.1. Aspectos Gerais

As informações sobre os possíveis ou comprovados efeitos nocivos dos corantes alimentares artificiais tem aumentado a busca por fonte de corantes naturais. As betalaínas foram um dos primeiros corantes naturais desenvolvidos para uso em indústrias de alimentos, sendo utilizados com sucesso para colorir produtos como balas, iogurtes, molhos de salada, mistura para bolos, substitutos da carne, bebidas em pó, refrigerantes, entre outros (CAI et al., 2003; CONSTANT et al., 2002; GANDÍA-HERRERO et al., 2005; KAPADIA et al., 2003; STINTZING e CARLE, 2007).

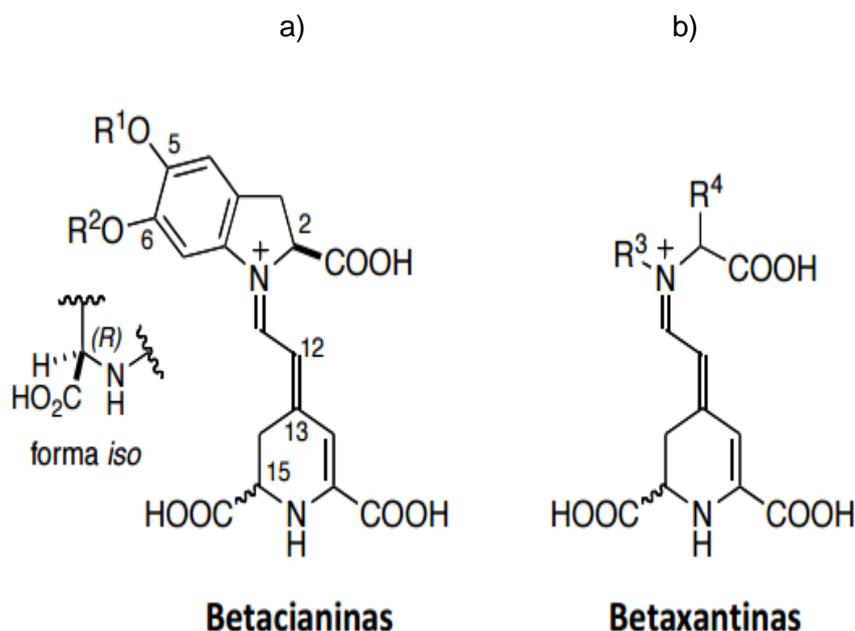
Quimicamente, as betalaínas agrupam os compostos cuja estrutura é baseada na fórmula geral apresentada na Figura 1. Sua estrutura contém o ácido betalâmico (A) acompanhado de um radical (B). Esses radicais podem ser de um simples hidrogênio a um substituinte complexo, a variação desses radicais é função das diferentes fontes de onde podem ser obtidos esses pigmentos e determinam a sua tonalidade e estabilidade. Dessa forma, esse pigmento é subdividido em duas classes: as betacianinas (Figura 2a), responsável pela coloração vermelho-violeta e as betaxantinas (Figura 2b), de coloração amarelo-laranja. (VOLP et al., 2009).

**Figura 1:** Estrutura geral da betalaína: (A) molécula de ácido betalâmico, presente em todas as moléculas de betalaína; (B) estrutura que representará uma betacianina ou betaxantina dependendo dos radicais R1 e R2.



Fonte: Volp et al., 2009.

**Figura 2:** Estrutura básica de betacianinas vermelhas e betaxantinas amarelas.



Fonte: GONÇALVES et al., 2015

Assim como as antocianinas, clorofila e carotenoides, as betalaínas são ausentes de toxicidade, apresentam propriedades farmacológicas relevantes e, ainda assim, são pouco estudadas. Além de se destacarem por suas propriedades colorantes, exercem efeitos protetores à saúde humana, como: atividade anti-radical, principalmente devido a sua capacidade de sequestrar radicais livres; proteção contra doenças relacionadas ao estresse oxidativo e a quimioprevenção a alguns tipos de câncer (KANNER et al., 2001; CAI et al., 2003; STINTZING, 2007).

Quando usadas como corantes em alimentos, as betalaínas oferecem maior interesse quanto à cor e estabilidade. Diversos fatores afetam a estabilidade destes pigmentos durante as etapas de preparação dos alimentos como luz, pH, temperatura entre outros. Segundo Trichterborn (2006), as betalaínas são mais solúveis em água e possuem uma força tintorial três vezes maior que as antocianinas. Segundo Almeida et al., (2005) sua estabilidade depende do pH, sendo os valores de pH ótimo entre 3 a 5, e razoável entre 5 a 7. É instável em presença de luz e oxigênio, e degradada quando exposta a temperaturas elevadas.

A estabilidade física e química da betalaína é um parâmetro fundamental para sua aplicação como substituto de corantes sintéticos em alimentos. Essa estabilidade é influenciada, principalmente, pela natureza ou estrutura química da molécula, como o ácido betalâmico é a estrutura presente nas duas classes em que a betalaína se

subdivide, é de se imaginar que a diferença de estabilidade esteja associada à presença de diferentes radicais, os quais são determinados dentre outros fatores pela fonte da qual as betalaínas são extraídas. Em razão disto, a fonte passa a ser um parâmetro fundamental na busca por betalaínas com maior estabilidade a aplicação na indústria de alimentos.

### **2.1.2. Fontes de Betalaínas**

A principal fonte de obtenção comercial das betalaínas são as beterrabas vermelhas (*Beta vulgaris L.*), que contêm consideráveis concentrações de betacianina. Os principais problemas das beterrabas vermelhas são o seu alto nível de nitrato e seu cheiro desagradável de terra, causado pela presença de derivados pirazínicos e geosmina (KANNER et al., 2005).

No intuito de ampliar a gama de fontes de betalaína para viabilizar a sua aplicação comercial, Gonçalves et al., (2015) estudou algumas espécies de flores e plantas da família *cactaceae*, as quais, têm se destacado por conter em seus frutos, a presença de betalaína, em especial as frutas *Opuntia (Opuntia spp)* e *Pitaya (Hylocereus spp)*. Estas plantas podem ser cultivadas em regiões áridas e semiáridas, o que é uma grande vantagem em termos de economia agrícola, e a ausência de geosmina e os níveis reduzidos de nitrato aumentam sua aplicabilidade em alimentos no lugar de extrato de beterraba (GONÇALVES et al., 2015). No Brasil a espécie do fruto de mandacaru é uma representante desta família que ainda não foi devidamente estudada.

### **2.2. Fruto de Mandacaru**

O mandacaru (*Cereus jamacaru D.C.*) é um cacto de porte arbóreo que possui tronco multi-ramificado e pode atingir até dez metros de altura, com artículos fortemente costados e espinhos amarelos medindo cerca de 20cm de comprimento, flores grandes, brancas, numerosas, que se abrem à noite (LIMA, 1996). Cresce em solos pedregosos e, junto a outras espécies de cactáceas, forma a paisagem típica da região semiárida do Nordeste (LIMA, 1996, ROCHA e AGRA, 2002). Sua aparição ocorre principalmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Bahia. O mandacaru, entre outras cactáceas nativas da caatinga é bastante utilizada como alternativa de consumo alimentar de animais, e ainda, possui frutos atrativos em cor e sabor, sendo consumidos in natura pela população (SILVA et al., 2005).

O fruto possui forma de baga, com formato oval, seu comprimento chega a aproximadamente 12 centímetros, coloração vermelha, carnosos, de polpa branca, com inúmeras sementes pretas e bem pequenas, porém comestíveis (BRAGA, 1960).

Ao realizar estudo químico e farmacológico nos frutos do mandacaru, Valente (2001) observou a presença de esteróides ergosterol e colesterol e Almeida (2005) verificou que essa fruta oferece grande potencial de aproveitamento industrial por exibir teores relativamente altos de sólidos solúveis totais (SST) e açúcares redutores (AR), constituintes importantes em processos biotecnológicos, como a fermentação alcoólica. Ainda assim, não são explorados comercialmente, ocorrendo seu desperdício ou, então, sendo utilizados, na elaboração de doces e geleias caseiros (SILVA, 2009; AWAD, 1993). Na Tabela 1 é apresentada a composição centesimal do fruto do mandacaru.

**Tabela 1:** Composição do fruto Mandacaru

ANÁLISES	Média	DP	CV%
SST (°Brix)	14,12	-	-
Umidade (%)	83,29	± 0,413	0,49%
Cinzas Totais (%)	0,48	± 0,023	4,88%
pH	4,65	± 0,010	0,20%
Fibra (%)	0,88	± 0,140	0,0012%
Pectina (%)	4,36	± 3,252	7,46%
Gordura (%)	12,43	± 1,044	8,40%
Açúc. Redutores (%)	10,42	± 0,000	0,00%
Açúc. Não-Redutores (%)	2,93	± 0,000	0,00%
Ferro (mg/100g)	0,6	± 0,100	16,66%

**Fonte:** BAHIA et al.,2010.

Poucas informações são encontradas na literatura a respeito das propriedades dos frutos do mandacaru, que apesar de serem encontrados em grande quantidade de fevereiro a setembro, não são explorados comercialmente com consequente desperdício dos mesmos (SILVA e ALVES, 2009).

A qualidade desses frutos é atribuída às características físicas que respondem pela aparência externa, entre os quais se destacam o tamanho, a forma do fruto e o alto grau de coloração da casca, a qual possui um pigmento natural de capacidade antioxidativa. A importância de usufruir ao máximo a diversidade da fruticultura brasileira faz com que um maior número possível de frutas silvestres e nativas sejam fontes de comercialização. A casca do fruto de mandacaru, por sua vez apresenta além de betalaína, quantidades de açúcar, proteína e outros componentes (Tabela 2), por isso a intenção de separar e purificar a betalaína presente na casca do fruto de mandacaru é promissora.

**Tabela 2:** Valores médios obtidos da composição química da casca do fruto de Mandacaru.

<b>Determinações</b>	<b>Valores médios</b>
Sólidos solúveis (°BRIX)	5,6400
Acidez (%Ácido cítrico)	0,3300
pH	5,2300
Teor de água (%bu)	94,300
Açúcar total (g/L)	2,0100
Açúcar redutor (g/L)	1,6400
Proteína (g/100g)	0,0014
Betalaína (g/100g)	1,4900

### **2.3. Métodos de purificação da Betalaína**

Como a beterraba é a fonte de betalaína mais utilizada em processos industriais, a mesma também se tornou a principal representante comercial da betalaína, sendo na maioria das vezes, comercializada na forma de extrato líquido (KOUL et al., 2012), extrato concentrado (SEDIYAMA et al ., 2010), e extrato em pó (AGRAWAL et al ., 2013). Entretanto, estas técnicas aplicadas para a concentração e produção do extrato da betalaína, não são capazes de obter um produto com betalaína pura, ao invés disso, o produto final oferece altos teores de carboidratos, lipídeos, fibras, proteínas e nitrato, como retrata a Tabela 3:

**Tabela 3:** Composição centesimal do extrato da beterraba vermelha.

<b>Nutrientes</b>	<b>Extrato de Beterraba (g/100g)</b>
Umidade	76,14 ± 0,48
Proteína	3,02 ± 0,09
Carboidratos	13,62 ± 0,31
Lipídeos	0,56 ± 0,01
Fibra alimentar total	4,65 ± 0,28
Cinzas	2,01 ± 0,13
Nitrato	6,43 ± 0,41

**Fonte: DA SILVA et al., 2015**

As betalaínas também já foram extraídas e purificadas por outros métodos. Gonçalves, (2015) purificou betalaína utilizando diversos métodos de cromatografia (Cromatografia de fase reversa (RPC), Cromatografia de troca iônica (IEX), Cromatografia líquida de alta eficiência com fase reversa (RP-HPLC)). E por fim, Scherer et al ., (2015), estudara, a extração da betalaína por esmagamento dos talos e posteriormente purificou o extrato utilizando a microfiltração feita por membranas. Entretanto tais técnicas utilizadas além de necessitarem de alto custo financeiro, podem reduzir os efeitos benéficos da betalaína, devido à sensibilidade desses componentes à degradação promovida pelos solventes orgânicos e altas temperaturas.

Diante disso, torna-se necessária a busca por técnicas que promovam a separação desta biomolécula sem que afete suas características e não apresente alto custo financeiro. Entre as várias tecnologias existentes, a utilização dos sistemas aquosos bifásicos (SAB's) vem se tornando uma alternativa promissora para a separação e purificação de pigmentos.

#### **2.4. Sistemas aquosos bifásicos**

A extração líquido-líquido (ELL) é uma operação muito utilizada na indústria química como técnica de separação. A extração de biocompostos em sistemas de duas fases líquidas imiscíveis constituídas de uma fase aquosa e um solvente orgânico é utilizada há cerca de 60 anos na purificação de antibióticos e ácidos orgânicos. Para pigmentos e biomoléculas, no entanto, tais sistemas não são completamente adequados, devido à sensibilidade desses componentes à degradação promovida pelos solventes orgânicos, além do que, os solventes utilizados são normalmente tóxicos, cancerígenos e inflamáveis (REIS et al., 2014)

Assim, uma variante da extração líquido-líquido tradicional, compatível com os processos de biosseparações, é a purificação utilizando sistemas aquosos bifásicos, os quais vem sendo usados com sucesso no isolamento de pigmentos e de outras biomoléculas (COIMBRA e TEIXEIRA, 2009). Sistemas de duas fases aquosas são formados pela combinação de soluções aquosas imiscíveis (em concentrações específicas) de polímero-polímero, sal-sal e polímero-sal, que são denominados de sistemas aquosos bifásicos (SAB's) (GARZA-MADRID et al., 2011). A técnica de separação em SAB tem sido utilizada na partição e/ou concentração de compostos como células animais ou vegetais, microrganismos, fungos e seus esporos, cloroplastos, mitocôndria, membrana vesicular, enzimas, proteínas, ácidos nucleicos, vírus, metais, entre outros (REIS, 2014). Grande parte do interesse de aplicação dos Sab's está associado a possibilidade de separação seletiva, boa biocompatibilidade e boa relação custo-benefício.

#### 2.4.1. Tipos de sistemas aquosos bifásicos

Os SAB's podem ser obtidos pela mistura de diversos componentes, entre eles: dois polímeros hidrossolúveis, que apresentam estruturas quimicamente diferentes; pela mistura de um polímero e um sal (orgânico ou inorgânico); e mais recentemente, pela mistura de líquidos iônicos e sais inorgânicos, como mostrado na Tabela 4:

**Tabela 4:** Exemplos de componentes e tipos de Sistemas Aquosos Bifásicos

Tipos de sistema	Constituintes	Referências
	PEG + Sulfato de Sódio	BARBOSA et al., 2016

Polímero + Sal	PEO + Sulfato de Lítio PEG + Sais de fosfato	PATRÍCIO et al., 2012 SOUZA JR. et al., 2014
Polímero + Polímero	PEG + Dextrana PEG + PVA	ANTOV, 2006 GUNDUZ, 2004
Líquido iônico + PEG	PEG + [C4mim]Cl	FREIRE et al., 2012
Líquido iônico+Sal inorgânico	[C4min]Cl+Fosfato Potássio	LOUROS et al., 2010
Solvente orgânico + Sal inorgânico	Álcool Isopropílico+ Sulfatos	PIMENTEL et al.,2015

---

Atualmente existe uma grande variedade de polímeros hidrofílicos, naturais ou sintéticos, apropriados para formar fases, quando misturados com um segundo polímero ou com um sal. Dentre estes se destaca o polietilenoglicol (PEG), um dos principais polímeros sintéticos utilizados industrialmente (MURRAY; JENKINS, 1994). Por excluir outros polímeros de sua vizinhança, não se solubilizando com eles, a utilização do PEG é de grande interesse em aplicações biotecnológicas. Outro fator importante é a sua contribuição ao meio ambiente, por ser um elemento altamente biodegradável e atóxico (SILVA, 2007). Estes fatores podem explicar a utilização do PEG na purificação de biomoléculas quando se emprega sistemas aquosos bifásicos.

Os SAB's mais utilizados são os compostos por PEG-Dextrana (DEX) ou PEG-sais, pois são formados por constituintes disponíveis em grandes quantidades no mercado e não são tóxicos (REIS et al., 2014). Os sistemas PEG-sais apresentam maior atratividade em relação aos sistemas compostos por polímeros-polímeros, pois apresentam: menor tempo de separação de fases; custo reduzido, e propriedades físicas favoráveis à operação em larga escala. Os sistemas PEG-sal têm sido utilizado para a extração, concentração ou purificação, sendo a fase superior composta em sua maioria por PEG, e a fase inferior, por sal. Um dos fatores que torna a separação das fases mais rápida que em outros sistemas é porque a fase salina possui maior densidade em relação à fase polimérica, o que facilita o uso de sistemas polímeros-sal

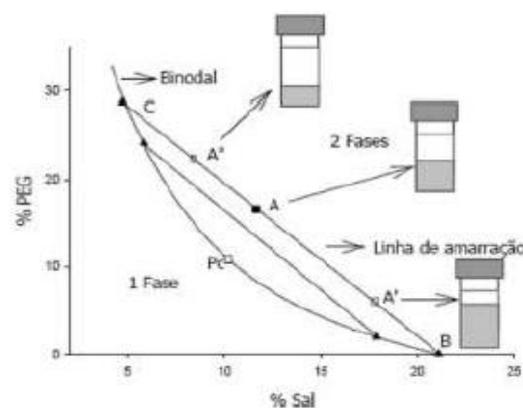
em aplicações industriais (HUSTED et al., 1985; SALABAT, 2001; GARZA-MADRID et al., 2011).

Para a utilização dos SAB's é imprescindível o conhecimento do comportamento das fases nos sistemas. Tal comportamento é detalhado na obtenção dos diagramas de equilíbrio, os quais representam graficamente a composição na qual se formam duas fases líquidas em equilíbrio termodinâmico.

#### 2.4.2. Diagrama de fases

O diagrama de equilíbrio de fases é uma representação gráfica das composições de cada uma das fases dos SAB's, podendo ter a forma triangular ou retangular, sob temperatura e pressão constantes. Estes diagramas são muito importantes para os estudos de separação de biomoléculas, pois são usados como ferramenta básica para o início e desenvolvimento de um processo de extração. A Figura 3 representa um diagrama de fases, mostrando a composição das fases em equilíbrio em coordenadas retangulares.

**Figura 3:** Diagrama de fase para sistemas aquosos bifásicos, expressos em coordenadas retangulares.



**Fonte:** ALCANTARA, 2009.

A curva que divide a região em duas fases é chamada curva binodal ou curva de equilíbrio, acima dela o sistema terá duas fases e abaixo dela o sistema terá uma fase. Os componentes presentes em maior quantidade nas fases salinas e poliméricas, exceto a água, são representados no eixo das abscissas e das ordenadas, respectivamente. A quantidade de água é calculada por diferença. A posição da binodal varia de acordo com o tipo e a massa molar do polímero, a natureza química do sal, a

temperatura e o pH do meio. As linhas são chamadas “tie-lines” ou linhas de amarração (LA), ligam pontos no diagrama e representam a composição das duas fases em equilíbrio. Qualquer ponto que pertença à mesma região bifásica e que esteja em uma mesma linha de amarração fornecerão fases que possuirão propriedades termodinâmicas intensivas iguais (densidade, volume molar, entalpia molar, etc.) e as propriedades extensivas diferentes (massa, volume, etc.).

Para se estudar a separação de fases em SAB's, faz-se uso de uma medida numérica de referência para a composição das fases. O comprimento da linha de amarração (CLA), utilizado como variável determinante dos processos de partição dos solutos em SAB's formados por diferentes componentes. CLA é a raiz quadrada da soma do quadrado da diferença das concentrações dos componentes formadores do sistema, exceto água, nas fases superior e inferior (NANDINI e RASTOGI, 2011). Sendo assim, o CLA é uma linha que liga os pontos de diagrama que representa a composição das duas fases em equilíbrio termodinâmico (ALVARENGA et al., 2015). O CLA de sistema de duas fases aquosa é calculado a partir do seu diagrama de fase, como mostrado na Equação 1.

$$CLA = \sqrt{[\Delta C_1]^2 + [\Delta C_2]^2} \quad (1)$$

Onde  $[\Delta C_1]$  e  $[\Delta C_2]$  correspondem a diferença de concentração de componente 1 (C1) e componente 2 (C2) nas fases superior e inferior expressa em %m/m, respectivamente.

À medida que o valor da CLA aumenta, torna-se maior a diferença de composição entre as fases, pois gera um aumento das contribuições entalpias e entrópicas na transferência do composto para uma das fases, elevando a eficiência na extração e/ou partição do soluto de interesse (PEI et al., 2012). À medida que a CLA diminui, torna-se menor a diferença das propriedades termodinâmicas intensivas das fases, fazendo com que a composição das fases vá de encontro ao ponto crítico do sistema ( $P_c$ ). Neste ponto, a diferença entre as propriedades termodinâmicas intensivas das fases diminuem até que, teoricamente, tornam-se iguais. (PEI et al., 2012; RODRIGUES et al., 2013).

Outra característica importante dos diagramas de fases é a inclinação da linha de amarração (ILA). Ela é uma medida de como a composição das fases pode variar com a alteração de uma propriedade termofísica, como a temperatura e a massa molar

dos constituintes, por exemplo (CARVALHO, 2004). O valor da inclinação pode ser calculado pela Equação 2:

$$ILA = (C_{C2S} - C_{C2I}) / (C_{C1S} - C_{C1I}) \quad (2)$$

*Onde, C1S e C1I são as concentrações do componente 1 na fase superior e inferior, respectivamente, enquanto, C2S e C2I são as concentrações do componente 2 na fase superior e inferior, respectivamente.*

### **2.4.3. Variáveis que influenciam no diagrama de fases**

No processo de separação de fases em sistemas aquosos bifásicos, a região bifásica é fortemente afetada por diversas variáveis que influenciam a partição de biomoléculas entre as duas fases dos SABs. Essas variáveis podem ser classificadas como variáveis essenciais ao próprio sistema, como por exemplo, componentes dos sistemas, massa molar do polímero, pH e temperatura (MARTINS, 2012).

#### **2.4.3.1. Efeito da temperatura**

Estudos apontam que o aumento da temperatura pode provocar o aumento da região bifásica em diagramas do tipo PEG + sal (JAYAPAL et al., 2007; AMARESH et al., 2008; REGUPATHI et al., 2009). Contudo, em alguns estudos como o de Martins et al., (2008) mostram que a temperatura pode ter um resultado tão pequeno que não há diferença entre as curvas binodais.

O aumento da temperatura favorece o aumento da concentração de PEG na fase superior do sistema e conseqüentemente ocorre uma redução da concentração de polímero na fase inferior.

Isso ocorre, pois o aumento da temperatura faz com que a transferência de água da fase superior para a fase inferior seja maior e, dessa forma, o volume das fases se altera. O aumento da temperatura causa o aumento da hidrofobicidade da fase superior e, assim, há exclusão de moléculas de água de solvatação do polímero, de modo a transportá-las para fase mais hidrofílica, a salina.

A pesquisa feita por Graber et al. (2004), estudando o efeito das temperaturas de 5 °C, 25 °C e 45 °C em sistemas PEG 4000 + sulfato de Sódio + água, mostraram que o aumento da temperatura provoca o deslocamento da curva binodal, aumentando

a região bifásica, o que implica numa menor concentração do sal e do polímero necessários para a formação do sistema aquoso bifásico. Resultado semelhante obtido por Regupathi et al. (2011).

#### **2.4.3.2. Efeito da massa molar do polímero**

A influência do comprimento da cadeia polimérica nos diagramas de fase é evidente, sendo observada inicialmente por Albertsson (1960). Quanto maior a massa molar do polímero formador do SAB menor será a concentração de sal (ou do outro componente constituinte do sistema) requerida para que ocorra a separação de fases. Este comportamento é observado tanto para sistemas polímero-polímero-água quanto para sistemas polímero-sal-água e outros (SAMPAIO, 2011).

BARBOSA et al., (2015) analisaram o efeito da massa molar do PEG nas curvas binodais para o sistema PEG + Sulfato de sódio + água, a 20, 30, 40 e 50 °C, constatando que o aumento da massa molar do PEG provocou o deslocamento das curvas binodais para menores concentrações de PEG e sal a qualquer temperatura, ou seja, quanto maior a massa molar do polímero, menor será a quantidade de constituintes necessários para a formação das fases, facilitando assim o processo. Resultados semelhantes também foram obtidos por Tubío et al. (2006); Graber et al. (2004), para sistemas aquosos contendo polietilenoglicol e sais. Esse efeito ocorre pela redução da solubilidade do PEG em água, com o aumento da massa molar do PEG.

#### **2.4.3.3. Efeito do potencial hidrogeniônico**

A influência do pH na separação das fases foi inicialmente estudada por diversos autores, dentre eles Huddleston et al. (1998), Ferreira et al. (2007) e Padilha et al. (2015). Em todos os estudos, observou-se que a redução do pH, provoca um deslocamento da curva binodal, no sentido de maiores concentrações de polímero e sal, ou seja, dificulta a formação de fases no sistema e conseqüentemente irá ocorrer uma redução na região bifásica.

A redução do pH implica em uma maior concentração de íons  $H^+$  na solução. Uma maior concentração desses íons no meio causa uma redução no estado de oxidação de algumas moléculas. Moléculas com menores estados de oxidação possuem menor capacidade de hidratação resultando em maior quantidade de água disponível para hidratação do PEG e conseqüentemente dificultando a formação de fases do sistema.

#### 2.4.4. Coeficiente de partição

No momento em que materiais biológicos são adicionados em um sistema aquoso bifásico, eles se distribuem entre a fase superior e a fase inferior. A relação entre as concentrações de certa biomolécula nessas fases define o coeficiente de partição. Assim, o coeficiente de partição ( $K_p$ ) é a razão entre a concentração de uma biomolécula nas fases de topo e de fundo, conforme apresentado na Equação 3.

$$K_p = \frac{[C]_{sup}}{[C]_{inf}} \quad (3)$$

Onde:  $[C]_{sup}$  e  $[C]_{inf}$  são as concentrações do soluto na fase superior e inferior, respectivamente.

Tal distribuição irá depender de inúmeros fatores, sejam eles referentes às características da biomolécula que se distribui ou da natureza do próprio SAB utilizado.

Os mecanismos que interferem na partição das biomoléculas ainda não são entendidos por completo. Segundo Johansson et al., (2008) e Dreyer et al., (2009), quando um soluto é adicionado ao SAB sua distribuição entre as duas fases em equilíbrio termodinâmico é determinada por duas contribuições termodinâmicas: entropia e entalpia. A contribuição entrópica está associada com a variação das possibilidades de distribuição do soluto entre as duas fases do sistema, e a contribuição entálpica está relacionada com as interações intermoleculares rompidas e formadas ao longo do processo de partição do soluto.

As propriedades das fases também podem contribuir na partição das biomoléculas, como a natureza química, composição do SAB, presença de ligantes ao longo da cadeia polimérica, pH, temperatura e densidade (CHAIWUT et al., 2010).

#### 2.5. Propriedades termofísicas

O Processo de extração e o modo de preparo dos SAB's envolvem basicamente as operações unitárias de mistura, dispersão e separação. Portanto, propriedades físicas, tais como densidade, índice de refração e condutividade são importantes na formação e no tipo de aplicação de um SAB. Soluções aquosas de PEG e de Sais têm

sido utilizados na engenharia química e bioquímica para separar e purificar produtos biológicos, biomateriais e corantes (Roberts; Bently; Harris, 2002; Nascimento et al., 2015).

Diversos autores (HENRI et al., 2004; SEKI et al., 2009; PINKERT et al., 2011) afirmam que o conhecimento das propriedades volumétricas de soluções aquosas contendo macromoléculas e eletrólitos são importantes em processos de purificação. Dentre as propriedades volumétricas, a densidade é uma das mais importantes.

Costa et al., (2014) determinaram a densidade de soluções aquosas de PEG 1500, nas temperaturas (15, 25, 35, 45) °C e concluíram que conforme aumentaram a temperatura diminuía a densidade, fato observado por diversos autores (ZHOU et al., 2010 ; MORÁVKOVÁ et al., 2011; SIONGCO; LERON; LI, 2013). Zafarani-Moattar e Mehrdad (2000) determinaram a densidade de soluções aquosas de sistemas PEG + Sal nas temperaturas de 25 °C, 35 °C, 45 °C. Nos estudos, utilizaram PEG de massa molar 2000 e 4000 e sais. Com os resultados obtidos, concluíram que, conforme aumentava a massa molar do PEG, aumentava a densidade e, conforme aumentava a temperatura, diminuía a densidade.

## **2.6. Modelagem termodinâmica**

A modelagem é uma ferramenta para a análise de dados, classificação, previsão e controle do processo. A modelagem é um “conjunto de hipóteses sobre a estrutura e o comportamento de um sistema físico pelo qual se procura explicar ou prever, dentro de uma teoria científica, as propriedades do sistema (ALVES, 2008)”. No caso do equilíbrio de fases, a teoria científica em questão é a termodinâmica. A modelagem termodinâmica pode ser entendida como a criação ou modificação de um modelo utilizando o raio e volume de cada grupo funcional presente no sistema, cujo principal objetivo é estabelecer uma relação quantitativa para caracterizar qual a influência da contribuição de um grupo funcional com os demais (PERUMALSAMY e MURUGESAN, 2009).

### **2.6.1. Métodos de contribuições de grupos**

A análise dos dados experimentais permite avaliar relações qualitativas não casuais, porém não expressa como uma variável afeta a outra. Para estudos relacionados à engenharia, é necessário fazer estimativas da contribuição que cada

molécula fornece ao sistema. No entanto, estes modelos não admitem que uma mistura consista de moléculas, mas sim de grupos de contribuição (CUNHA, 2008). Por exemplo, a molécula de PEG não deve ser estudada apenas como uma molécula de PEG e sim pelos grupos de contribuição que formam essa molécula, os quais são CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>O e OH. Outra referência deve ser feita à quantidade desses grupos funcionais presentes dentro de uma molécula. No caso do PEG, por exemplo, o PEG de massa molar 1500 possui 32 grupos de CH<sub>2</sub>, 30 de CH<sub>2</sub>O e 1 de OH. Então a análise da contribuição de grupos, será feita em cada grupo de contribuição deste supracitado.

O cálculo da contribuição de grupos foi proposto por Langmuir (1925) e trata uma mistura como um conjunto de grupos de contribuição, podendo-se determinar o coeficiente de atividade da mistura somando-se as contribuições individuais de cada um dos grupos que a constituem. Neste trabalho, o modelo UNIFAC foi utilizado para estimar coeficientes de atividade. A vantagem deste modelo é que ele permite representar uma quantidade muito grande de misturas partindo de uma pequena quantidade de grupos.

### **2.6.2. UNIFAC (Universal Functional Activity Coefficient model)**

O modelo UNIFAC desenvolvido por Prausnitz e colaboradores (1975) utiliza o conceito de contribuição de grupos para o cálculo dos coeficientes de atividade. Nessa abordagem o coeficiente de atividade de cada componente é a soma de todas as interações binárias entre os grupos funcionais desse componente com todos os outros grupos dos componentes que compreendem a mistura (TESTER e MODELL, 1996).

O modelo UNIFAC determina o coeficiente de atividade da mistura em duas partes: residual e combinatória. A parte residual considera as interações energéticas formadas pelos grupos funcionais quando rompem e fazem interações até o sistema entrar em equilíbrio, sendo identificada como uma contribuição entálpica. Já a parte combinatorial leva em consideração diferenças na forma e tamanho entre as moléculas na mistura e pode ser identificada como uma contribuição entrópica. (OLIVEIRA, 2010).

A metodologia de cálculo por contribuição de grupos comparativamente a outros métodos é mais precisa na análise dos coeficientes de atividade. Entretanto, a eficiência desse modelo depende da divisão das moléculas em grupos que interagem entre si (Perumalsamy e Murugesan, 2009).

Portanto, as hipóteses para o desenvolvimento dos métodos de contribuição de grupo para o cálculo de coeficientes de atividade foram estabelecidas por Wilson e Deal (1962) com base nas seguintes suposições:

- "Uma solução líquida é considerada como uma mistura dos grupos que constituem os componentes da solução"
- "A energia livre de Gibbs excedente é a soma de duas contribuições: uma combinatorial, devido essencialmente às diferenças de tamanho e forma das moléculas, e outra residual, que considera as interações energéticas entre as moléculas", que pode ser expressa em termos do coeficiente de atividade de uma molécula em uma solução líquida como:

$$\ln \gamma_i = \ln \gamma_i^{com} + \ln \gamma_i^{res} \quad (4)$$

A parte combinatorial do método UNIFAC é dada pela equação 5 (REID; PRAUSNITZ; POLING, 1988).

$$\ln \gamma_i^c = \left( \ln \frac{\phi_i}{x_i} + 1 - \frac{\phi_i}{x_i} \right) - \frac{z}{2} q \left( \ln \frac{\phi_i}{\theta_i} + 1 - \frac{\phi_i}{\theta_i} \right) \quad (5)$$

Onde:

$$\Phi_i^* = \frac{r_i x_i}{\sum_j r_j x_j} \quad (5.1)$$

$$\theta_i = \frac{q_i x_i}{\sum_j q_j x_j} \quad (5.2)$$

$$r_i = \sum_k V_k^{(i)} R_k \quad (5.3)$$

$$q_i = \sum_k V_k^{(i)} Q_k \quad (5.4)$$

Onde:

$r_i$  é o parâmetro de volume para o componente  $i$ ;  $Z$  é o número de coordenação;  $q_i$  é o parâmetro de área superficial para o componente  $i$ ;  $\Phi_i^*$  é a fração volumétrica do componente em termos de  $r_i$ ;  $\theta_i$  é a fração de área superficial e  $V_k^{(i)}$  é o número de grupos do tipo  $k$  na molécula  $i$ .

Os valores dos parâmetros de Grupos,  $R_k$  e  $Q_k$  estão tabelados na literatura (REID; PRAUSNITZ; POLING, 1988).

Os Parâmetros dos componentes puros,  $r_i$  e  $q_i$  (ou  $r_j$  e  $q_j$ ), são, respectivamente, medidas moleculares de volumes de Van der Waals e áreas superficiais.

A parte residual é composta pelas contribuições individuais de cada grupo presente na solução, menos a soma das contribuições individuais dos mesmos grupos no componente puro. Por exemplo, em um sistema formado por PEG + Sulfato de sódio + água, teremos os seguintes grupos de contribuição,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{Na}$ ,  $\text{SO}_4$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . A parte residual será referente a contribuição individual que cada grupo funcional faz com o sistema, menos a soma que cada grupo funcional deste faz com seu componente puro. O  $\text{CH}_2$ , por exemplo, faz parte da estrutura do PEG, então a parte residual deste componente será a contribuição que ele tem com todas as moléculas menos a contribuição que ele tem com as moléculas do PEG ( $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}$ ).

Este termo constitui a chamada "solução por grupos", onde as contribuições individuais de cada grupo são funções da concentração e da temperatura (WILSON e DEAL, 1962).

$$\ln y_i^r = \sum_K^{\text{grupos}} v_k^{(i)} (\ln \Gamma_k - \ln \Gamma_k^{(i)}) \quad (6)$$

Os coeficientes de atividade residual dos grupos são dados pela Equação 7.

$$\ln \Gamma_k = Q_k [1 - \ln(\sum_m \theta_m \Psi_{mk}) - \sum_m \frac{\theta_m \Psi_{km}}{\sum_n \theta_n \Psi_{nm}}] \quad (7)$$

$$\theta_m = \frac{Q_m X_m}{\sum_n Q_n X_n} \quad (7.1)$$

$$X_m = \frac{\sum_i^M V_m^{(i)} X_i}{\sum_i^M \sum_j^N V_j^{(i)} X_i} \quad (7.2)$$

Sendo que  $\theta_m$  e  $X_m$  são a fração de área do grupo  $m$  e a fração molar do grupo  $m$ , respectivamente. O coeficiente de atividade residual é definido como função da fração de grupo  $X_m$ .

Na contribuição residual, as interações entre os grupos são expressas em termos de parâmetros, dados pela equação 7.3.

$$\Psi_{mn} = \exp \left[ -\frac{U_{mn}-U_{nm}}{RT} \right] = \exp \left( -\frac{u_{mn}}{T} \right) \quad (7.3)$$

No qual  $U_{mn}$  é a medida da energia de interação entre os grupos  $m$  e  $n$ .

Parâmetros de interação de grupos,  $U_{mn}$ , podem ser avaliados a partir de dados experimentais de equilíbrio de fases. Parâmetros de interação de grupo  $a_{mn}$  para uma grande quantidade de grupos têm sido sistematicamente reportados por vários autores, como Zarkarian et al. (1979), Herskowitz e Gottlieb (1981), Gmehling et al. (1982), Macedo et al. (1983), Tiegs et al. (1987) Hansen et al. (1991).

A aplicação de UNIFAC a sistemas aquosos bifásicos contendo sais tem sido feita feita por alguns autores que utilizam as abordagens propostas por Kikic et al. (1991) e Dahl e Macedo (1992). A diferença entre as duas abordagens é que Kikic e colaboradores consideraram um sal como composto de dois grupos, cátion e ânion, enquanto Dahl e Macedo consideraram um sal como sendo um grupo funcional diferenciado. Aznar (1996) utilizou a abordagem de Dahl e Macedo para representar o equilíbrio líquido-vapor de sistemas binários e ternários contendo sais e encontrou baixos valores de desvio. Entretanto neste trabalho, com o intuito de detalhar mais o experimento e ter noção de qual componente do sal tem maior interação com os outros componentes da amostra, foi utilizado a abordagem de Kikic e colaboradores, pois a mesma considera o sal como um grupo de cátion e ânion e não como um único grupo diferenciado

A modelagem termodinâmica de sistemas aquosos bifásicos constituídos por polímeros apresenta inúmeras dificuldades relacionadas ao comportamento das soluções poliméricas que diferem muito de outros tipos de soluções principalmente no que se refere à caracterização das fases e diferença do tamanho e interação entre as

moléculas do polímero e do solvente (HUANG et al.,2001). Para contornar tal problema, a caracterização das fases neste trabalho foi feita por regra da alavanca, a qual estimou a concentração do PEG nas fases. Já o tamanho do polímero era especificado ao computar quantos grupos de contribuição existiam na molécula a ser modelada termodinamicamente.

No entanto, a modelagem termodinâmica em sistemas aquosos bifásicos pode confirmar muitas teorias acerca desse processo de separação, pois tem como objetivo demonstrar como ocorre e quais fatores influenciam a separação de fases por meio de correlações entre os parâmetros ajustáveis do modelo e as variáveis pertinentes do sistema, como o tamanho da cadeia do polímero e pH.

## 2.7. Aplicação dos SAB's na separação de pigmentos

Devido à manutenção da atividade biológica das biomoléculas e por apresentarem constituintes ambientalmente seguros, os SAB's vêm sendo empregados com muito sucesso na separação de diversas biomoléculas. Encontram-se na literatura diversos trabalhos que evidenciam o seu potencial de aplicação e que auxiliam na identificação dos sistemas mais adequados para a separação de certas biomoléculas.

As primeiras observações sobre a partição de pigmentos em sistemas aquosos bifásicos começaram em 1954, quando Albertsson notificou a partição de cloroplastos em sistemas constituídos por polietileno glicol e sal. Recentemente, NASCIMENTO et al., (2015), como pode ser visto na Tabela 4, estudou a partição do corante betalaína em SABs constituídos por polímero e sal. Os estudos sobre a partição de pigmentos em sistemas aquosos bifásicos têm sido pouco retratados na literatura, embora existam relatos de que a utilização do SAB para a extração e purificação de corantes é uma excelente alternativa por ser de baixo custo e por ter princípios da química verde, pela não utilização de solventes tóxicos (LENARDÃO et al., 2003).

**Tabela 4:** SAB's utilizados na separação de pigmentos.

<b>Pigmentos</b>	<b>SAB's</b>	<b>Referência</b>
Antocianina	PEG + Sulfato de sódio	BARBOSA et al., 2016
Betalaína	PEG + Sulfato de sódio	NASCIMENTO et al., 2015

---

Betalaína	PEG + Sulfato de Amônia	Chandrasekhar et al., 2015
Carmim de cochonilha	PEG + Tartarato de sódio	MAGESTE et al., 2009
Antocianina	PEG + Sulfato de Amônia	XIANGYANG et al., 2011
Antocianina	PEG + Sulfato de Lítio	PATRICIO et al., 2012
Norbixina	PEG + Tartarato de Sódio	MAGESTE et al., 2012

---

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Extrair betalaína presente na casca do fruto de mandacaru e determinar dados de equilíbrio e parâmetros de interação para a formação de sistemas aquosos bifásicos compostos por Sal, PEG e água.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Determinação de dados experimentais do equilíbrio líquido-líquido para os sistemas PEG 1500/sulfato de sódio/água e PEG 400/sulfato de sódio/água às temperaturas de 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35°C e valores de pH 3, 4, 5.
- Utilização dos dados experimentais para estimar novos parâmetros de interação de grupo utilizando modelo UNIFAC.
- Avaliar a partição da Betalaína nos sistemas aquosos bifásicos formados a temperatura de 25°C em diferentes pH's e concentração de sal.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Material**

Os reagentes utilizados na condução deste trabalho foram: Sulfato de Sódio, polietilenoglicol 1500 g.mol<sup>-1</sup> e 400 g.mol<sup>-1</sup> da Synth, Brasil. Foi utilizada água destilada em todo o experimento.

### **4.2. Preparo dos sistemas aquosos bifásicos**

Para preparar os SAB's, compostos de PEG, sulfato de sódio e água, foram preparadas soluções estoque com cada PEG (1500 e 400) em água e de sal em água, utilizando uma balança analítica. A concentração da solução de PEG 1500 foi de 50 % m/m, PEG 400 foi de 70% e da solução de sulfato de sódio foi de 22 % m/m. O pH da solução salina de sulfato de sódio foi ajustada com ácido sulfúrico e conferida em pHmetro a fim de obter-se valores de pH desejados.

#### **4.2.1. Determinação das curvas binodais.**

As curvas binodais dos sistemas aquosos foram obtidas utilizando soluções aquosas de PEG 1500 + Sulfato de Sódio + água, PEG 400 + Sulfato de Sódio + água, nas temperaturas de (20 °C, 25 °C, 30 °C, 35°C e valores de pH 3, 4 e 5. Para esta determinação foi aplicado o método turbimétrico (ALBERTSSON, 1986), que indica o início da região bifásica.

O procedimento consistiu em pesar 1 g da solução estoque de PEG em tubos de ensaio, M254A (Bel Engineering, Piracicaba, Brasil). O tubo contendo a solução de PEG foi levado ao banho termostático (Tecnal, Te- 184, Piracicaba, Brasil) com precisão  $\pm 0,1^\circ\text{C}$ , onde foi incubado até atingir o equilíbrio térmico, na temperatura experimental desejada. Em seguida, foram adicionadas alíquotas da solução estoque de Sulfato de Sódio (20 $\mu\text{L}$ ) com uma micropipeta, até ocorrer à turvação do sistema (solução bifásica). A quantidade de Sulfato de Sódio que provocou a turvação foi registrada e em seguida, o sistema foi titulado com água destilada até o desaparecimento da turvação, registrando o seu valor. Esse procedimento foi repetido diversas vezes até a saturação do sistema. Após saturado, o sistema pesou-se 1g da solução estoque de sulfato de sódio e foram adicionadas alíquotas da solução estoque de PEG (20 $\mu\text{L}$ ) com uma micropipeta, repetindo o mesmo procedimento, até obtenção

dos pontos necessários para fazer a curva. As curvas binodais experimentais foram ajustadas a equação empírica sugerida por Hu et al., (2003):

$$X_{\text{Sulf}} = \exp(a + b (X_{\text{PEG}})^{0,5} + cX_{\text{PEG}} + d(X_{\text{PEG}})^2) \quad (8)$$

Em que  $X_{\text{Sulf}}$  e  $X_{\text{PEG}}$  são as composições em fração mássica do Sulfato de sódio e PEG, respectivamente, e a, b, c e d são parâmetros de ajuste da equação.

#### 4.2.2. Determinação das linhas de amarração.

As linhas de amarração que foram usadas para a construção dos diagramas foram obtidas com base no método gravimétrico descrito por Merchuk et al. (1998), que consiste em selecionar um ponto acima da região bifásica, através do qual a linha de amarração vai passar. Foram utilizados três pontos globais para cada sistema PEG/ Sulfato de sódio/ água, os quais estão apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7. Os pontos que deram origem às linhas de amarração foram obtidos em cada temperatura e pH, com composições conhecidas em tubos de centrífuga graduados de fundo cônico, a partir da massa das soluções estoques de Sulfato de sódio, PEG 400/1500 e água para uma massa total do sistema de 40 g.

**Tabela 5:** Composições globais para os sistemas em pH = 3 formados por Sulfato de Sódio + PEG + Água, expressas em porcentagem mássica (%w/w).

Ponto	20°C		25°C		30°C		35°C	
	Sal	PEG	Sal	PEG	Sal	PEG	Sal	PEG
Global								
PEG 1500								
1	7,5	18,0	7,5	18,0	8,0	17,0	9,0	13,0
2	8,5	19,5	8,5	19,5	9,0	18,0	10,0	14,5
3	9,5	21,0	9,5	21,0	10,0	19,0	11,0	16,0
PEG 400								
1	7,0	32,0	8,0	30,0	8,0	28,0	8,0	28,0
2	8,0	34,0	9,0	31,5	9,0	30,0	9,0	30,0
3	9,0	36,0	10,0	33,0	10,0	32,0	10,0	32,0

**Fonte:** Dados da Pesquisa

**Tabela 6:** Composições globais para os sistemas em pH = 4 formados por Sulfato de Sódio + PEG + Água, expressas em porcentagem mássica (%w/w).

Ponto	20°C		25°C		30°C		35°C	
	Sal	PEG	Sal	PEG	Sal	PEG	Sal	PEG
Global								
PEG 1500								
1	8,0	18,0	8,0	17,5	8,0	14,0	9,0	12,5
2	9,0	19,5	9,0	19,0	9,0	15,0	10,0	14,0
3	10,0	21,0	10,0	20,5	10,0	16,0	11,0	15,5
PEG 400								
1	8,0	28,0	7,5	29,0	8,0	26,0	9,0	25,0
2	9,0	30,0	8,5	30,5	9,0	28,0	10,0	27,0
3	10,0	32,0	9,5	32,0	10,0	30,0	11,0	29,0

Fonte: Dados da Pesquisa

**Tabela 7:** Composições globais para os sistemas em pH = 5 formados por Sulfato de Sódio + PEG + Água, expressas em porcentagem mássica (%w/w).

Ponto	20°C		25°C		30°C		35°C	
	Sal	PEG	Sal	PEG	Sal	PEG	Sal	PEG
Global								
PEG 1500								
1	8,5	16,0	8,5	15,0	8,5	14,0	9,0	12,0
2	9,5	17,5	9,5	16,5	9,5	15,0	10,0	13,5
3	10,5	19,0	10,5	18,0	10,5	16,0	11,0	15,0
PEG 400								
1	7,5	29,5	7,5	29,5	8,0	27,0	9,0	24,0
2	8,5	31,0	8,5	31,0	9,0	29,0	10,0	26,0
3	9,5	32,5	9,5	32,5	10,0	31,0	11,0	28,0

Fonte: Dados da Pesquisa

A mistura foi agitada vigorosamente e então centrifugada a uma força centrífuga de 2000 g por 10 minutos, para acelerar a separação de fases. Os tubos foram mantidos em repouso, durante 24 horas em estufa B.O.D, nas temperaturas de trabalho estudadas, para se alcançar o equilíbrio das fases. Todas as soluções e diluições foram preparadas, usando uma balança analítica na pesagem dos reagentes.

Alcançado o equilíbrio, uma alíquota de cada uma das fases resultante foram separadas utilizando seringa de 5 mL com agulhas longas. Primeiramente, coletou-se a fase superior até que restasse uma pequena camada desta fase acima da interface. Este procedimento visou garantir que a interface não fosse perturbada. Em seguida, após a coleta da fase superior, uma seringa foi introduzida cuidadosamente na célula de equilíbrio para a retirada da fase inferior, evitando que a interface fosse perturbada. As fases foram coletadas, pesadas e armazenadas em recipientes com tampa sob refrigeração até que todas as análises fossem realizadas.

#### 4.2.3. Quantificação dos componentes do sistema.

Depois das fases terem sido separadas, elas foram pesadas. A concentração de cada componente nas fases coletadas foi estimada pela aplicação da regra da alavanca, na relação entre a composição em massa da fase superior e a composição total do sistema. Para determinação dos componentes da linha de amarração o seguinte sistema de quatro equações (Equações 9-12) e quatro valores desconhecidos ( $X_{\text{Sulf } s}$ ,  $X_{\text{Sulf } i}$ ,  $X_{\text{PEG } s}$ ,  $X_{\text{PEG } i}$ ) foi resolvido (HU et al., 2003):

$$X_{\text{Sulf } s} = \exp(a + b (X_{\text{PEG } s})^{0.5} + cX_{\text{PEG } s} + d(X_{\text{PEG } s})^2) \quad (9)$$

$$X_{\text{Sulf } i} = \exp(a + b (X_{\text{PEG } i})^{0.5} + cX_{\text{PEG } i} + d(X_{\text{PEG } i})^2) \quad (10)$$

$$X_{\text{Sulf } s} - X_{\text{Sulf } M} / X_{\text{Sulf } M} - X_{\text{Sulf } i} = m_i / m_s \quad (11)$$

$$X_{\text{PEG } M} - X_{\text{PEG } s} / X_{\text{PEG } i} - X_{\text{PEG } M} = m_i / m_s \quad (12)$$

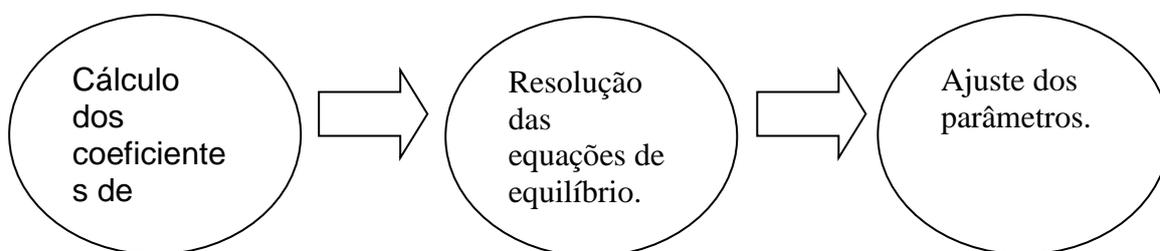
Onde  $X_{\text{Sulf } s}$ ,  $X_{\text{PEG } s}$ ,  $X_{\text{Sulf } i}$ ,  $X_{\text{PEG } i}$ ,  $X_{\text{Sulf } M}$ ,  $X_{\text{PEG } M}$  são as composições em fração mássica do Sal e do PEG na fase superior, inferior e na mistura, respectivamente. E  $m_i$  e  $m_s$  é a massa da fase inferior e superior, respectivamente.

### 4.3. Determinação da Densidade

A densidade foi determinada nas temperaturas de 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. Para determinação desta propriedade, foi utilizado um Densímetro Digital de Bancada DMA 5000M (ANTON PAAR, Graz, Áustria).

### 4.4. Obtenção dos dados modelados

Para a obtenção dos dados modelados pelo modelo UNIFAC, foi escrito uma série de linhas de código computacional FORTRAN. Foram gerados arquivos específicos para o cálculo do equilíbrio líquido-líquido para o ajuste de parâmetros em sistemas aquosos bifásicos. Tais arquivos podem ser separados em três partes, como visto a seguir.



A primeira parte diz respeito ao cálculo dos coeficientes de atividade a partir do modelo termodinâmico apresentado no item 2.6.2 da revisão bibliográfica. A segunda parte diz respeito à conversão dos coeficientes de atividade em valores físicos de fração mássica dos componentes das duas fases do sistema em equilíbrio. Tal cálculo é realizado a partir das condições de equilíbrio e conservação de massa e energia do sistema. A última etapa corresponde ao ajuste dos parâmetros de cada modelo termodinâmico. Nessa fase utiliza-se um algoritmo computacional de minimização de uma função objetivo definida para realizar o acerto dos parâmetros.

#### 4.4.1. Cálculo dos Coeficientes de Atividade

O cálculo dos coeficientes de atividade foi realizado conforme o modelo UNIFAC, descrito na revisão bibliográfica seção nº 2.6.2 da revisão de literatura. Para o modelo de contribuição de grupos, descritos na Tabela 8 foram utilizados nos cálculos de cada grupo:

**Tabela 8:** Parâmetros R<sub>k</sub> e Q<sub>k</sub> dos grupos para os modelos UNIFAC.

Grupo de contribuição	R <sub>k</sub>	Q <sub>k</sub>	Referências
CH <sub>2</sub>	0,6744	0,5400	Magnussen, 1981
ETIL	1,5927	1,3200	Ninni, 1999
OH	1,0	1,2	Magnussen, 1981
SO <sub>4</sub>	2,8560	2,0150	Weast, 1973
NA	3,0	3,0	Bondi, 1968
H <sub>2</sub> O	0,92	1,4	Magnussen, 1981

#### 4.4.2. Cálculo das energias de interação

A energia de interação é calculada utilizando os parâmetros de interação, obtidos pelo modelo UNIFAC, que cada grupo funcional de contribuição exerce sobre o meio, com a temperatura e a constante ideal dos gases. Os valores de energia de interação podem ser obtidos pelas Equações 13 e 14.

$$\tau_{ij} = \exp\left(-\frac{\Delta u_{ij}}{RT}\right) = \exp\left(-\frac{a_{ij}}{T}\right) \quad (13)$$

$$\tau_{ji} = \exp\left(-\frac{\Delta u_{ji}}{RT}\right) = \exp\left(-\frac{a_{ji}}{T}\right) \quad (14)$$

Em que,  $\Delta u_{ij}$  e  $\Delta u_{ji}$  são os parâmetros de interação característicos da energia de interação  $i-j$ , T é a temperatura e R é a constante ideal dos gases.

#### 4.4.3. Cálculo do volume de exclusão

O volume de exclusão foi determinado utilizando as massas e concentrações experimentais obtidos na confecção das curvas binodais. Esses dados foram inseridos no programa Origin 6 que utiliza o método numérico Levenberg-Marquadt para que o ajuste acontecesse e se descobrisse o volume de exclusão pela Equação 15.

$$\ln\left(V_{213}^* \frac{w_2}{M_2} + f_{213}\right) + \left(V_{213}^* \frac{w_1}{M_1}\right) = 0 \quad (15)$$

Onde o  $V_{213}^*$  e  $f_{213}$  indicam o volume de exclusão do sal e a fração volumétrica efetiva do sal na fase polimérica, M e w representam a massa molecular e a fração de

massa, os índices "1" e "2" mostram referência à quantidade de PEG e sal nas fases, respectivamente.

#### **4.5. Obtenção do extrato de betalaína da casca do fruto de Mandacaru**

Os frutos de Mandacaru foram colhidos na região sul da Bahia e selecionados de acordo com a intensidade da cor. Foram imersos em água corrente para remoção das sujidades. Após a lavagem, as cascas foram separadas das frações comestíveis. Em seguida, foram homogeneizadas na proporção 1:2, em peso da casca e volume de água, com auxílio de liquidificador semi-industrial. O extrato líquido obtido foi submetido à centrifugação durante 10 minutos, e filtrado com peneira. O extrato, assim preparado, foi armazenado ao abrigo da luz congelado, para posterior uso durante a execução das etapas seguintes do trabalho.

#### **4.6. Determinação dos parâmetros de partição.**

Após o equilíbrio das fases dos sistemas PEG-Sulfato de sódio-água, realizou-se a separação das fases superior e inferior dos sistemas formados a 25°C em todos os pH's, mantendo a massa do polímero constante com base na primeira linha de amarração e variando apenas a massa da solução salina. O extrato da betalaína foi adicionado (300 µL) diretamente na fase salina, durante a montagem dos sistemas, em um volume de 3,0 mL. Em seguida, foram adicionados 3mL da fase superior aos sistemas, os quais foram centrifugados a 2000 g, por 10 minutos, e mantidos a 25°C, por 24 horas, para que fosse estabelecido o equilíbrio. As concentrações dos sais e do polímero nos sistemas foi escolhida com base nos diagramas de fases, posto que são funções dos dados de equilíbrio. A temperatura de 25°C foi escolhida como absoluta pois, a maioria os sistemas formados à 20°C formavam cristais após a injeção do extrato de betalaína e, segundo Chethana et al., (2007) os sistemas formados acima de 30 °C degradavam a biomolécula de interesse.

O coeficiente de partição da betalaína ( $K_p$ ), o qual é a relação entre a concentração de equilíbrio da betalaína na fase superior ( $C_{sup}$ ) e inferior ( $C_{inf}$ ) foi determinado como descrito na equação 3, já citada.

#### **4.7. Determinação das betalaínas totais.**

A quantificação de betalaínas foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Nilson (1970) utilizando um espectrofotômetro. Para cada amostra fez-se a leitura nos comprimentos de onda 476 nm, 537 nm e 600 nm, respectivamente. A determinação em termos de concentração de betacianina (16) e betaxantinas (17):

$$x = 1,094 (A_{537} + A_{600}) \quad (16)$$

$$y = -0,258 * A_{537} + A_{476} - 0,742 * A_{600} \quad (17)$$

Onde “x” é a concentração de betacianina, “y” é a concentração de betaxantina. E a soma de x e y é a concentração total de betalaína

#### **4.8. Determinação da quantidade de açúcar redutor.**

A quantificação do açúcar redutor na partição do extrato de betalaína foi feita pelo método DNS descrito inicialmente por (Miller, 1959). Primeiramente fez-se a curva padrão de glicose. Para o preparo da curva padrão, pesou-se 1,0 g de glicose anidra e a transferiu analiticamente para balão volumétrico de 1,0 L. Após dissolução, aferiu-se o volume com água destilada. A partir da solução de glicose 1,0 g L<sup>-1</sup>, preparou-se soluções com concentrações variando de 0,1 g/L a 0,9 g/L de glicose, conforme Tabela 9. Transferiram-se alíquotas de volume conveniente de cada solução preparada, incluindo a solução inicial, para tubos de ensaio. Realizou-se a leitura da intensidade da cor em espectrofotômetro a 540 nm e com os valores encontrados obteve-se a curva padrão.

**Tabela 9:** Preparo das soluções diluídas de glicose, usadas na elaboração da curva-padrão, a partir da solução-mãe de glicose 1,0 g/ L.

<b>Solução de glicose (mL)</b>	<b>Água destilada mL</b>	<b>Concentração final (g/L)</b>
10	90	0,1
20	80	0,2
30	70	0,3
40	60	0,4
50	50	0,5
60	40	0,6
70	30	0,7
80	20	0,8

Após obtida a curva de glicose padrão, pipetou-se 1 mL da solução de DNS para tubos de ensaios previamente identificados, adicionou-se 0,2 mL de cada fase separada após a partição da betalaína e completou-se com 0,8 mL de água destilada. A mistura foi aquecida em banho-maria, com água fervente, por 5 minutos e posteriormente resfriada com água gelada. Após atingir temperatura ambiente as amostras foram analisadas por espectrofotômetro com comprimento de onda de 570 nm e assim obtidas as concentrações de açúcar redutor após a partição.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Diagrama de fases de equilíbrio.

Diagramas de equilíbrio de fase foram obtidos para sistemas aquosos bifásicos compostos por PEG, sulfato de sódio e água, onde foi variada a massa molar do PEG (400 e 1500), a temperatura (20, 25, 30 e 35) °C e o pH (3, 4 e 5). Os dados obtidos experimentalmente na obtenção das curvas binodais dos sistemas foram correlacionados pela equação não linear (Equação 5) proposta por Hu et al. (2003) e os valores obtidos para os parâmetros “a”, “b”, “c”, “d” e os coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) da equação ajustadas para os sistemas estudados estão apresentados na Tabela 10. Com base nos valores de R<sup>2</sup> pode-se concluir que a equação se ajustou de forma satisfatória aos dados experimentais.

**Tabela 10:** Parâmetros a, b, c, e d e o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) obtidos para o sistemas PEG- Sulfato de Sódio pela equação de HU et al. (2003).

T (°C)	a	b	c	d	R <sup>2</sup>
PEG 400 – pH 3					
20	0,599	-13,5492	27,7112	-46,7902	0,9978
25	0,1659	-8,2546	10,4861	-9,9832	0,9930
30	-0,0332	-5,4854	-0,574	14,9585	0,9954
35	0,1883	-8,4031	9,2296	-13,0375	0,9984
PEG 1500 – pH 3					
20	0,5458	-16,3206	42,8412	-204,2557	0,9921
25	0,076	-10,0045	18,5079	-117,7607	0,9921
30	0,095	-9,7662	21,9694	-188,2237	0,9918
35	0,4596	-15,918	48,0031	-302,149	0,9897
PEG 400 – pH 4					
20	0,5279	-11,9740	18,0777	-14,6565	0,9946
25	-0,0879	-5,8078	3,5287	3,2796	0,9916
30	-0,0332	-5,4854	-0,5741	14,9586	0,9925
35	0,358	-11,2774	17,9455	-31,4398	0,9893
PEG 1500 – pH 4					
20	-0,1907	-1,3798	-11,5558	-54,8424	0,9914
25	0,6234	-15,6268	37,6488	-201,7939	0,9927

30	0,5093	-16,8915	46,2375	-298,7005	0,9896
35	0,395	-13,95	29,1038	-170,4458	0,9894
PEG 400 – pH 5					
20	0,1516	-8,3506	11,0659	-7,5055	0,9996
25	0,2192	-11,0199	22,8031	-50,4037	0,9923
30	-0,0145	-6,6852	4,5003	1,0642	0,9985
35	0,7885	-18,1253	39,7724	-78,5807	0,9993
PEG 1500 – pH 5					
20	0,5153	-16,4549	42,1829	-219,3390	0,9994
25	0,5555	-17,1446	46,7176	-245,0172	0,9997
30	0,537	-16,9985	43,3216	-224,1548	0,9996
35	0,7157	-19,7607	56,3709	-302,5592	0,9994

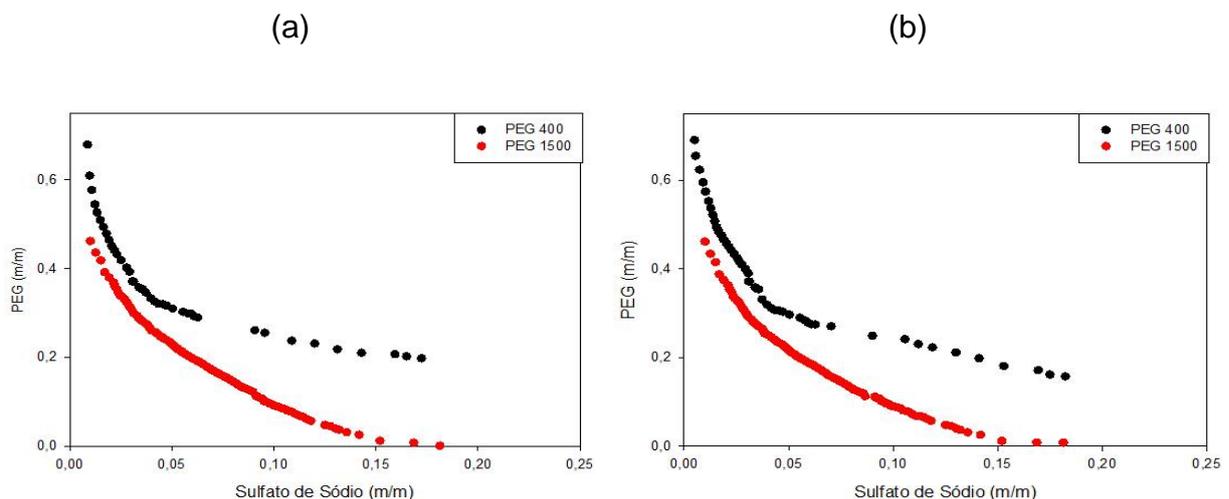
Os diagramas fornecem informações sobre a concentração dos componentes necessárias para a formação das duas fases. Foi observado que quanto mais a curva se aproximava da origem, menor concentração dos componentes seria necessária para formar o SAB's. Abaixo das curvas obtidas para cada condição estudada de massa molar do polímero, temperatura e pH, a mistura dos constituintes do sistema encontrou-se miscíveis formando uma fase homogênea e acima das curvas verificou-se a formação de duas fases.

#### 5.1.1. Efeito da massa molar no diagrama de fases de equilíbrio.

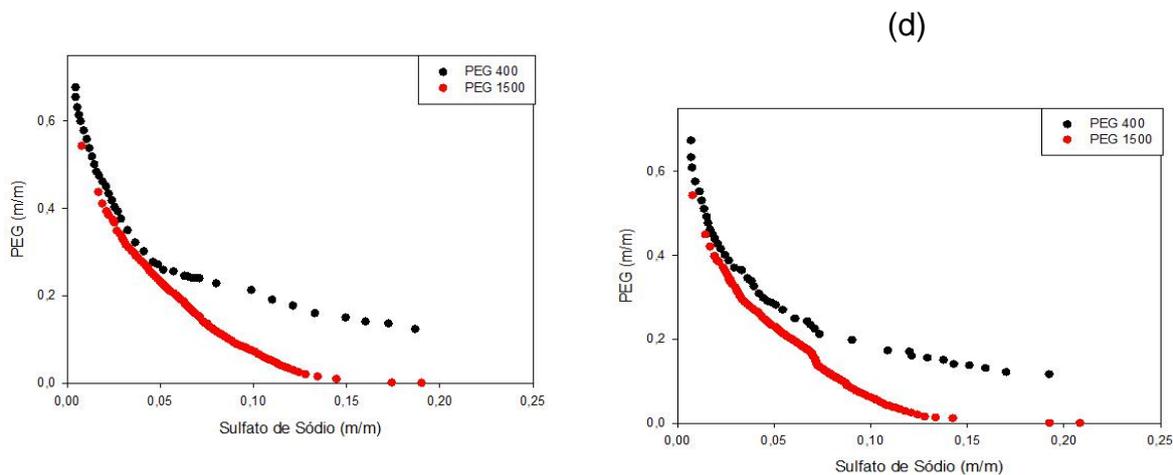
As Figuras 4, 5 e 6, relacionam os diagramas formados por PEG (400 e 1500), sulfato de sódio e água nas temperaturas e valores de pH estudadas. Foi observada, uma redução da região bifásica nos diagramas formados por polímero de menor massa (PEG 400) em todas as temperaturas e valores de pH utilizados, quando comparado ao PEG 1500. PEG de menor massa molar apresenta menor hidrofobicidade, como consequência tem-se a formação de fase superior e inferior com menor diferença de propriedades físico-químicas, fazendo com que necessite de maiores quantidades de sal e polímero para que ocorra a separação das fases. Portanto, a redução da massa molar do polímero provoca a redução da região bifásica e o contrário ocorre para o PEG 1500.

As Figuras 4, 5 e 6, exemplificam como as curvas binodais deslocam-se para concentrações menores de PEG e sal com o aumento da massa molar do polímero. Esta afirmação é sustentada desde estudos antigos até pesquisas atuais, por exemplo, Albertsson (1971) ao estudar sistemas formados por PEG (400 e 4000) e sais, observou que as curvas binodais deslocaram-se para concentrações menores de PEG e sal com o aumento da massa molar do polímero e RENGIFO *et al.*, (2015), estudaram o efeito do peso molecular de PEG (10000 e 35000), e sais compostos do cátion sódio em diferentes temperaturas (10, 20, 30 e 40) C, e também observaram que a região de duas fases se expandiu com o aumento da massa molecular do PEG. Esse comportamento é atribuído à diminuição de solubilidade do PEG em água, que aumenta com a elevação da sua massa molar, por isso, menores concentrações são requeridas para separação de fases. A fase rica em PEG satura-se em concentrações relativamente baixas com o aumento da massa molar do polímero. Esse comportamento também está de acordo com resultados encontrados por SAMPAIO *et al.* (2016), BARBOSA *et al.* (2016), COSTA *et al.* (2015) e OLIVEIRA *et al.* (2008), para sistemas aquosos formados por PEG + sulfato de sódio.

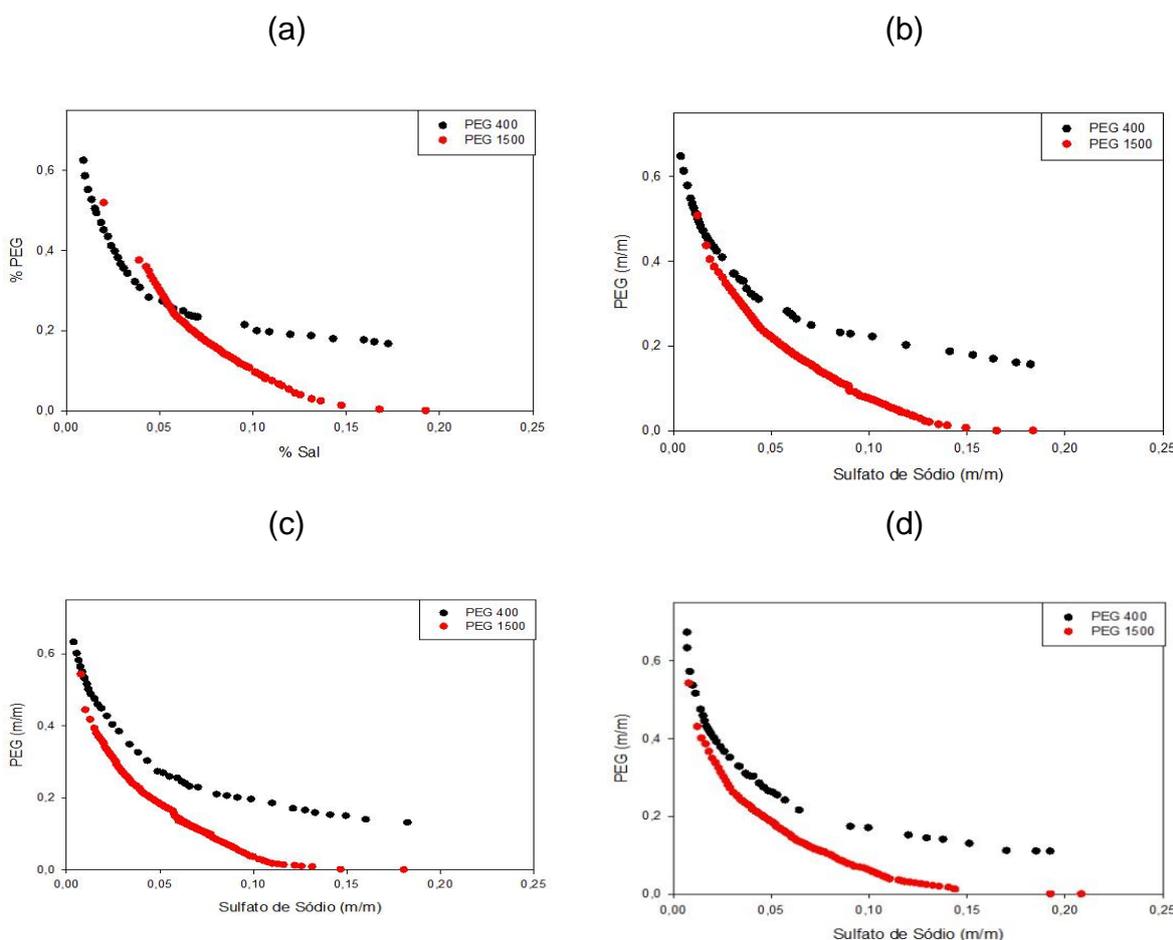
**Figura 4:** Diagrama de fases do sistema PEG + Sulfato de Sódio + água, a temperatura 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c) e 35°C, no pH 3 em diferentes massas molares do polímero.



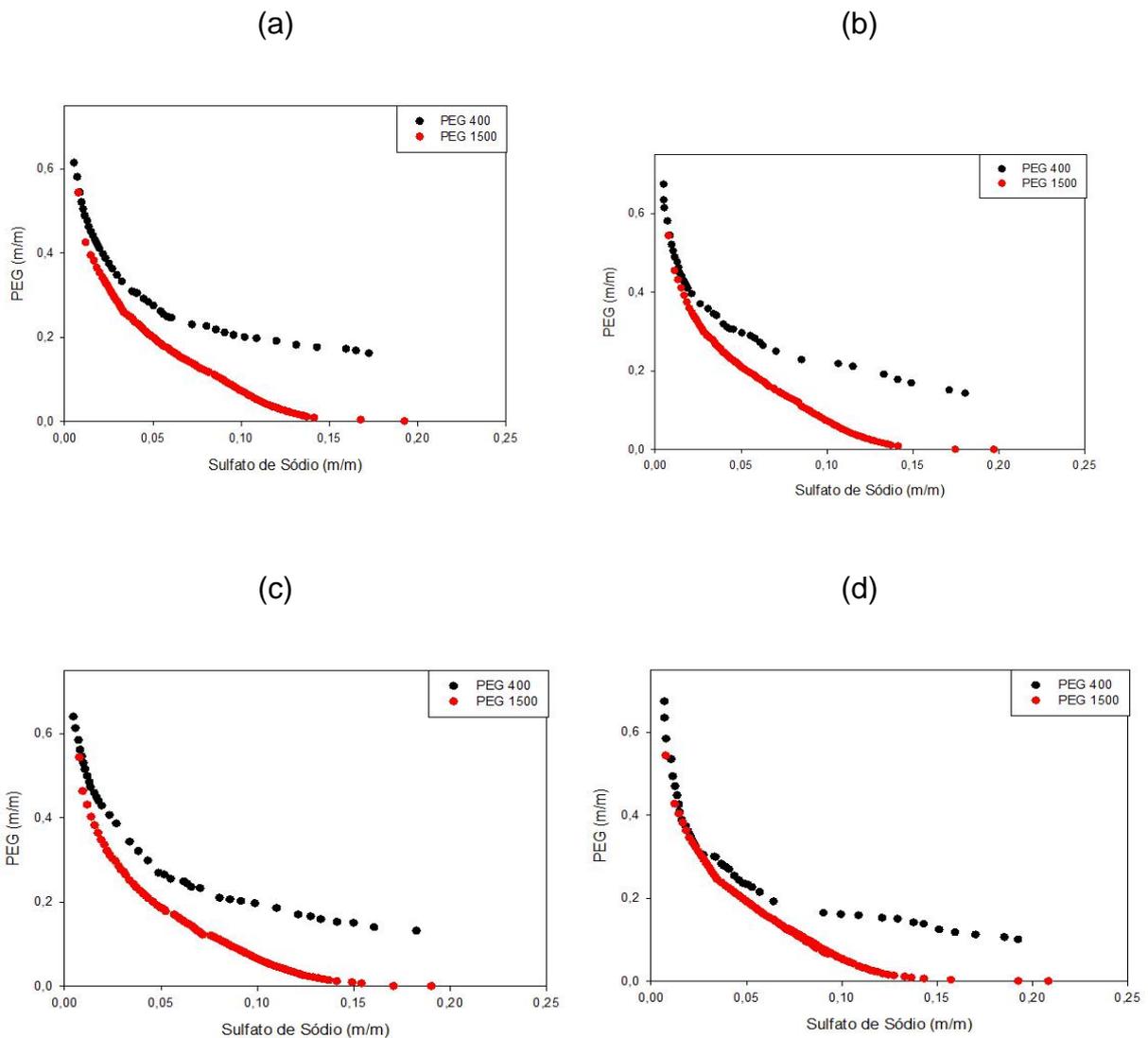
(c)



**Figura 5:** Diagrama de fases do sistema PEG + Sulfato de Sódio + água, a temperatura 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c) e 35°C, no pH 4 em diferentes massas molares do polímero.



**Figura 6:** Diagrama de fases do sistema PEG + Sulfato de Sódio + água, a temperatura 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c) e 35°C, no pH 5 em diferentes massas molares do polímero.



### 5.1.2. Efeito da temperatura no diagrama de fases de equilíbrio.

O efeito da temperatura em sistemas aquosos bifásicos varia de acordo com o tipo de sistema analisado, sendo bastante complexo devido ao seu efeito na composição das fases em equilíbrio. Para sistema PEG + sal, é aguardado que o aumento da temperatura gere um deslocamento da binodal no sentido de menor concentração dos constituintes das fases, ou seja, leve a redução da quantidade de sal e PEG, necessária para a formação de fases e consequente aumento da região bifásica do diagrama de equilíbrio.

Entretanto, a análise gráfica dos sistemas formados por PEG 400+ sulfato de sódio+ água e PEG 1500+ sulfato de sódio+ água, para a maioria dos casos, mostrou que não houve variação significativa da região bifásica com aumento da temperatura (Figuras 7 e 8). Outros autores avaliaram a influência da temperatura em diagramas de

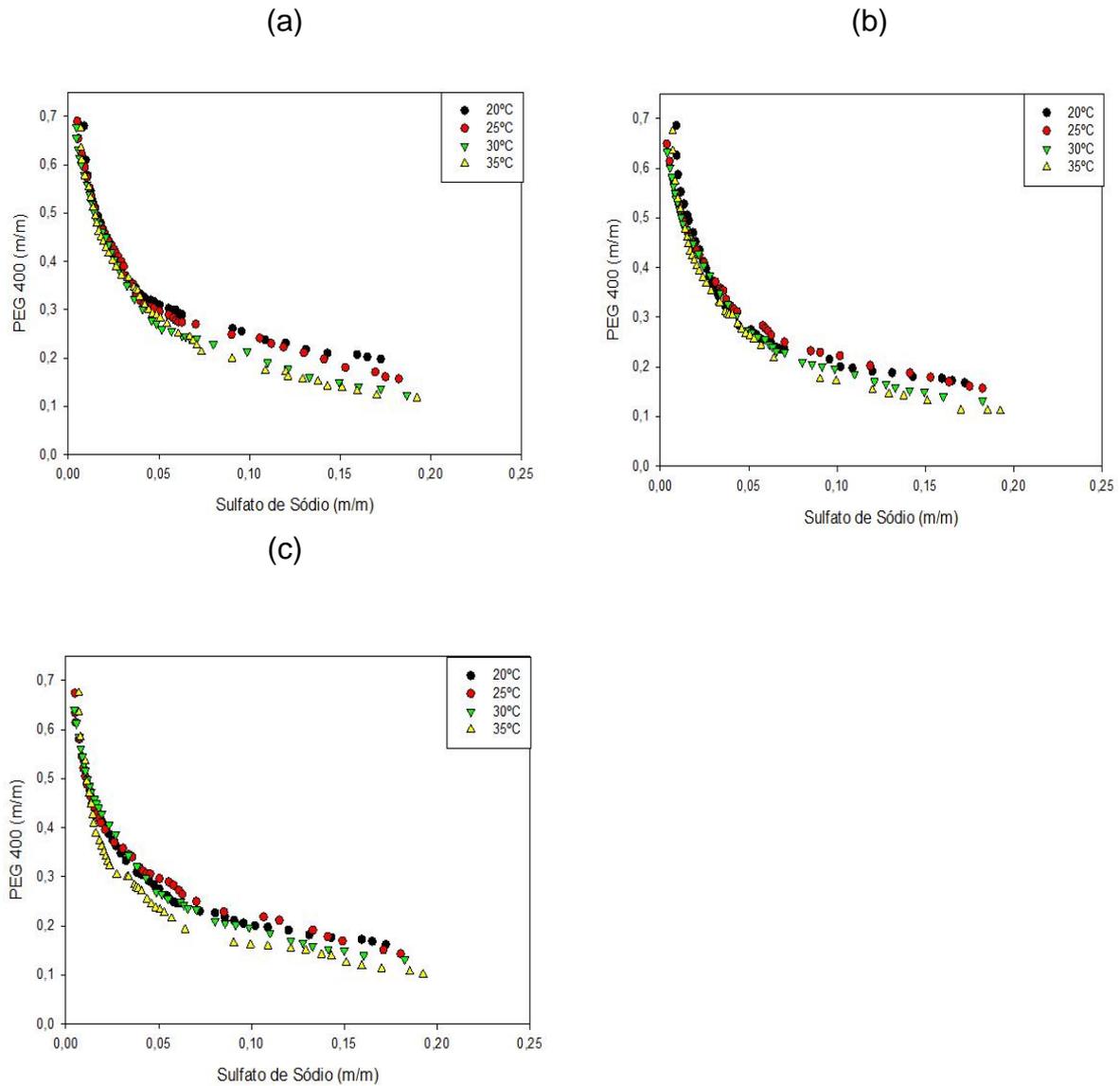
fases formados por PEG + sulfato de sódio e observaram mesmo comportamento. BARBOSA et al. (2015) estudando o efeito da temperatura de 20°C, 30°C, 40°C e 50°C em diferentes pesos molares (PEG 1500, PEG 2000, PEG 4000 e PEG 6000) com sulfato de sódio e água, observaram que não houve variação da região bifásica com a variação da temperatura. COSTA et al. (2015) estudando o efeito da temperatura nos sistemas formados por PEG 4000 e sulfato de sódio nas temperaturas de 20°C, 30°C, 40°C e 50°C, chegou às mesmas conclusões deste estudo, não foi possível observar o efeito da temperatura na composição do equilíbrio de fase. A falta de efeito da temperatura sobre a composição do equilíbrio das fases indica que não há uma variação, expressiva, de entalpia do sistema durante o processo de separação de fases (PATRÍCIO et al., 2011).

Em relação aos sistemas PEG 400+ sulfato de sódio+ água (Figura 7, a e c) e PEG 1500+ sulfato de sódio + água (Figura 8 b), observa-se um pequeno aumento das regiões bifásicas com o aumento da temperatura, este aumento indica que é necessária uma menor quantidade dos compostos (Sal e PEG) para a formação de fase. Sampaio et al. (2016), ao estudarem o efeito das temperaturas de 20 °C, 40°C e 60°C em sistemas PEG (400, 4000, 6000) + sulfato de sódio + água, observou que o aumento da temperatura provocou o deslocamento da curva binodal, aumentando a região bifásica, o que implica em uma menor quantidade do sal e do polímero necessários para a formação do SAB. Resultados semelhantes também foram encontrados por Rengifo et al. (2015) e Hamzehzadeh (2015). Segundo Patrício et al. (2011) esse resultado pode ser explicado tendo em vista que o processo de separação de fases é endotérmico, ou seja, a formação do SAB é favorecida pelo aumento da temperatura, requerendo menores quantidades de sal e PEG para formação do sistema.

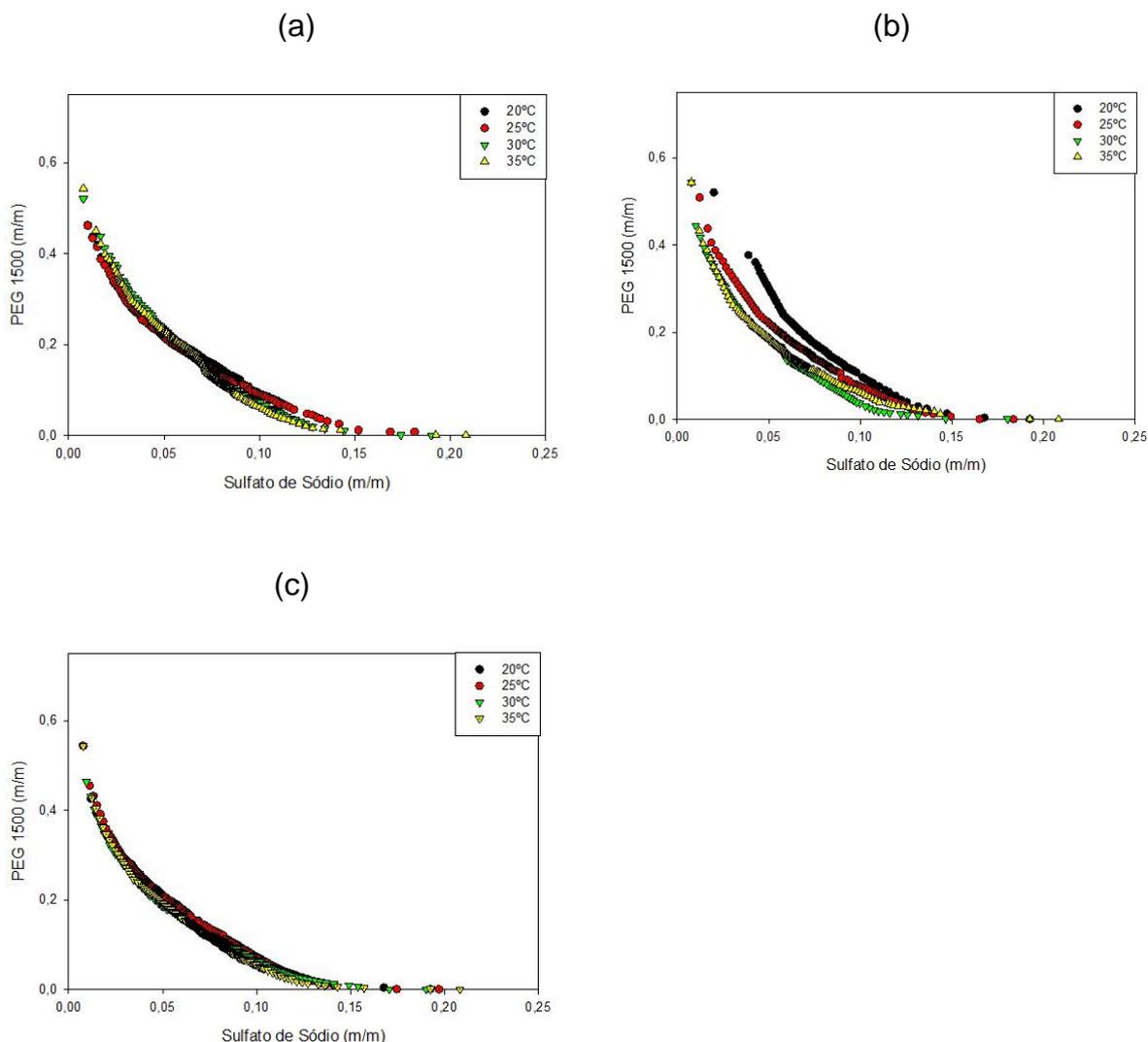
Uma análise geral das forças motrizes que regem o comportamento do sistema é necessária a fim de permitir melhor compreensão a cerca da influência da temperatura sobre o equilíbrio da composição das fases. Com o aumento da temperatura, ocorrerá agitação molecular, fazendo com que ligações sejam rompidas e formadas durante o processo de separação de fases, aumentando assim, a variação da entalpia, entretanto, a entropia configuracional do polímero também aumenta devido ao processo de enovelamento da cadeia, expulsando as moléculas de água que antes formavam camadas de solvatação ao redor das moléculas de PEG e desta forma possibilitando as moléculas de alcançarem inúmeras possibilidades de se rearranjarem. Assim, ocorre transferência de água da fase superior para a fase inferior. Em outras

palavras, a separação de fases é facilitada quando a temperatura é elevada, pois, à medida que se aumenta a temperatura observa-se maior diferença das propriedades físico-químicas entre as fases do sistema.

**Figura 7:** Diagrama de fases do sistema PEG 400 + Sulfato de Sódio + água, a pH 3,0 (a), pH 4,0 (b), e pH 5,0 (c), em diferentes temperaturas.



**Figura 8:** Diagrama de fases do sistema PEG 1500 + Sulfato de Sódio + água, a pH 3,0 (a), pH 4,0 (b), e pH 5,0 (c), em diferentes temperaturas.



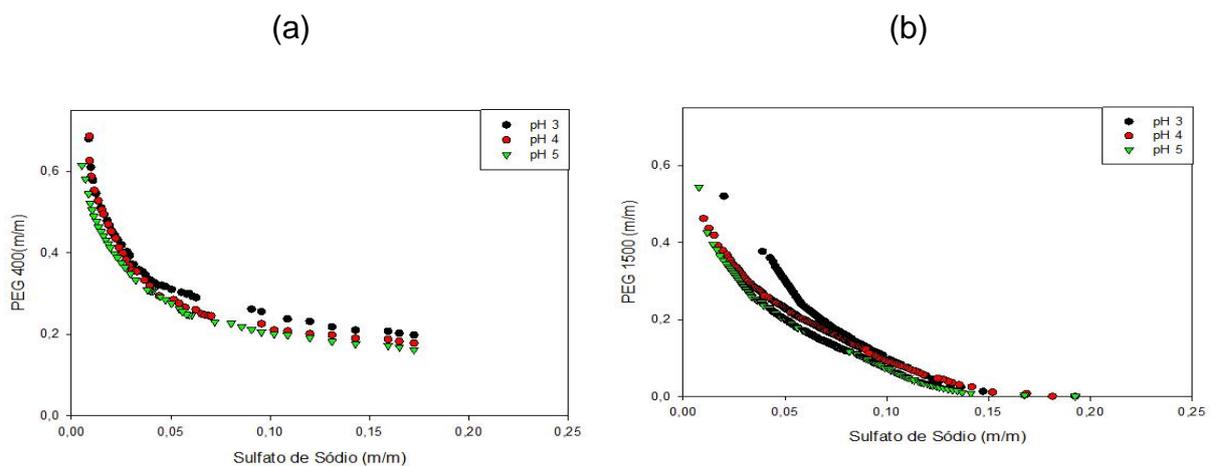
### 5.1.3. Efeito do pH no diagrama de fases de equilíbrio.

Os diagramas formados por PEG 400 + sulfato de sódio e PEG 1500 + sulfato de sódio nos valores de pH 3,0, 4,0, e 5,0 nas temperaturas de 20°C, 25°C, 30°C e 35°C, respectivamente, estão representados nas Figuras 9, 10 e 11.

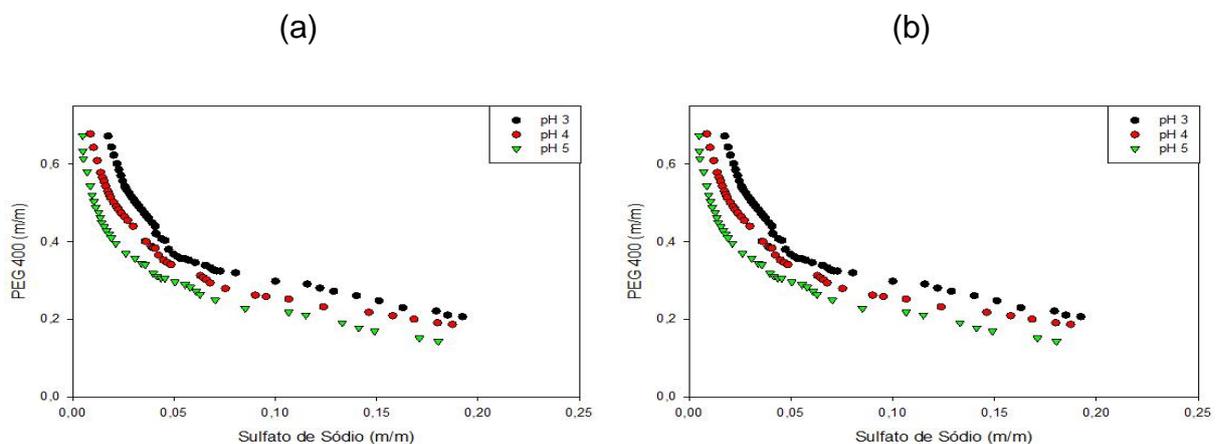
As curvas binodais obtidos para os sistemas estudados têm formas semelhantes para valores de pH diferentes. No entanto, a região bifásica se expande com o aumento do valor do pH, e as curvas binodais deslocam-se para a origem, indicando menor necessidade de PEG e concentrações de sal para a separação das fases. Tal comportamento também foi descrito por PADILHA et al. (2015), que estudou sistemas contendo PEG 400 e PEG 4000 e fosfato de sódio em valores de pH de 7,0 e 8,0;

Os resultados encontrados podem ser explicados com base no seguinte argumento. Os ânions de sulfato são espécies químicas iônicas, de estado de oxidação -2, que se originam a partir do ácido sulfúrico com fórmula molecular  $\text{SO}_4^{2-}$  (BARBOSA, 2000). A adição de ácido sulfúrico a uma solução de sulfato de sódio aumenta a quantidade de íons  $\text{H}^+$  no meio formando um novo tipo de ânion monovalente,  $\text{HSO}_4^-$ . Dessa forma, quanto menor for o pH menor será a concentração de íons divalentes aumentado a razão  $\text{HSO}_4^-/\text{SO}_4^{2-}$ . A importância da presença de uma maior concentração de íons de sais divalentes, comparado aos monovalentes, está associada a maior capacidade de hidratação desse ânion resultando em menor quantidade de água disponível para hidratação do PEG. Segundo Chakraborty e Sen (2016), os ânions com valências mais elevadas em soluções com um valor de pH próximos ao básico são mais eficientes na formação de duas fases, em comparação com aqueles com valências mais baixas em soluções de pH ácido.

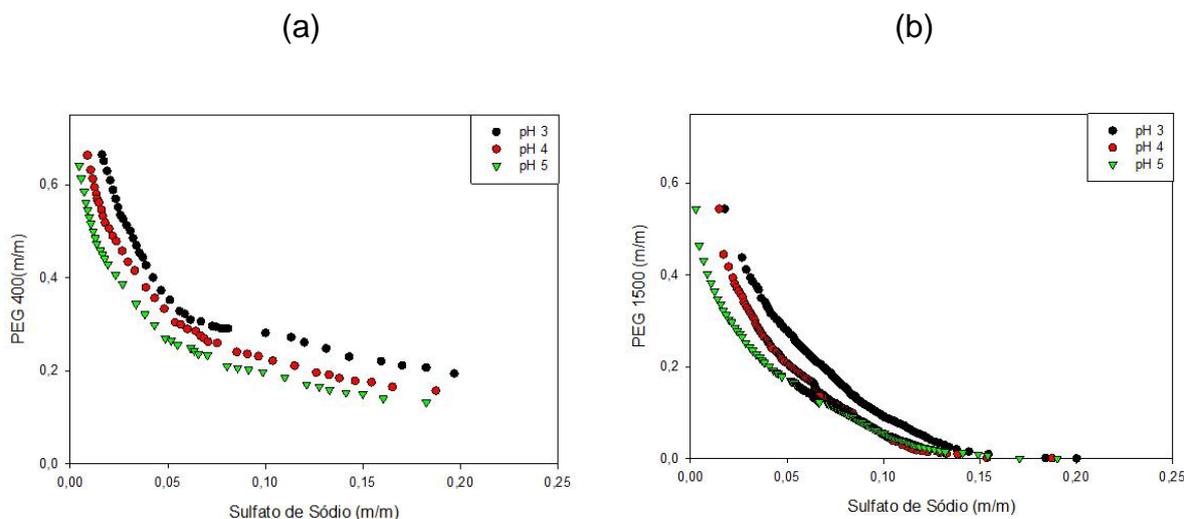
**Figura 9:** Diagrama de fases para sistemas formados por PEG + Sulfato de sódio + Água, para o PEG 400 (a) e PEG 1500 (b), na temperatura de 20 °C.



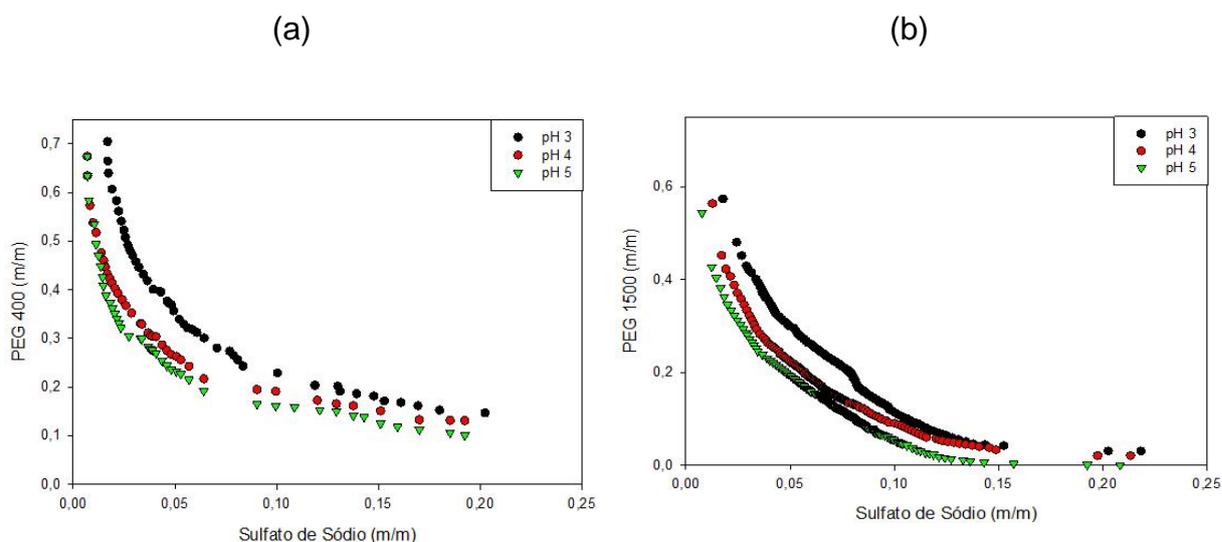
**Figura 10:** Diagrama de fases para sistemas formados por PEG + Sulfato de sódio + Água, para o PEG 400 (a) e PEG 1500 (b), na temperatura de 25 °C.



**Figura 11:** Diagrama de fases para sistemas formados por PEG + Sulfato de sódio + Água, para o PEG 400 (a) e PEG 1500 (b), na temperatura de 30 °C.



**Figura 12:** Diagrama de fases para sistemas formados por PEG + Sulfato de sódio + Água, para o PEG 400 (a) e PEG 1500 (b), na temperatura de 35 °C.



## 5.2. Estudo do Comportamento das Linhas de Amarração.

Com o intuito de caracterizar os diagramas de fases, foram obtidas as linhas de amarração pela regra da alavanca. As composições de equilíbrio, comprimento da linha de amarração (CLA) e inclinação da linha de amarração (ILA) para os sistemas formados por PEG (400 e 1500), Sulfato de sódio e água, estudados em diferentes condições de temperatura e pH estão apresentadas na Tabelas 11 e 12, em que os dados referentes aos componentes das fases estão expressos em termos de porcentagem mássica. Três linhas de amarração foram determinadas para cada sistema estudado. O comprimento das linhas de amarração (CLA) representa a

diferença entre a concentração de sal e do PEG nas fases superior e inferior, quanto maior o CLA, maior é a concentração de PEG na fase superior e a concentração do sal na fase inferior. A inclinação da linha de amarração, segundo Barbosa et al., (2015) é uma medida de como a composição das fases pode variar com a alteração de uma propriedade termofísica.

**Tabela 11:** Dados das linhas de amarração em porcentagem mássica (%m/m) dos sistemas formados por PEG 400 (W1) + Sulfato de Sódio (W2) + Água, em diferentes valores de pH a diferentes temperaturas.

pH	LA	<u>Composição global</u>		<u>Fase Superior</u>		<u>Fase Inferior</u>		CLA	ILA
		W1	W2	W1	W2	W1	W2		
<b>20 °C</b>									
3	1	31,9	7,1	36,543	3,2981	14,339	22,133	29,116	-1,179
	2	33,4	8,6	40,451	2,6005	13,022	23,370	34,406	-1,321
	3	36,0	9,0	44,687	2,0726	12,337	24,016	39,090	-1,474
4	1	28,0	8,0	34,487	3,2869	16,54	20,139	24,619	-1,065
	2	30,0	9,0	37,411	2,8117	15,916	23,497	29,831	-1,039
	3	32,0	10,0	40,53	2,4068	15,429	26,051	34,483	-1,062
5	1	29,5	7,5	32,403	4,3922	19,202	18,526	19,34	-0,934
	2	31,0	8,5	35,38	3,5553	18,182	22,97	25,937	-0,886
	3	32,5	9,5	39,094	2,7822	17,913	24,361	30,237	-0,982
<b>25 °C</b>									
3	1	30,0	8,0	34,728	3,7865	15,788	20,665	25,369	-1,122
	2	31,5	9,0	38,871	2,9056	14,947	22,685	31,042	-1,21
	3	33,0	10,0	43,459	2,2042	14,508	23,783	36,108	-1,342
4	1	29,0	7,5	25,735	6,9413	22,082	9,4479	4,4306	-1,057
	2	30,5	8,5	24,966	7,3842	20,032	11,491	6,4197	-1,002
	3	32,0	9,5	40,091	2,487	14,73	27,568	35,668	-0,911
5	1	29,5	7,5	35,772	2,817	7,2485	24,114	35,597	-1,339
	2	31,0	8,5	40,01	2,071	4,6331	27,313	43,459	-1,402
	3	32,5	9,5	45,068	1,4884	4,6969	27,223	47,876	-1,569
<b>30 °C</b>									
3	1	28,0	8,0	35,515	3,3196	13,422	22,068	28,976	-1,178
	2	30,0	9,0	39,517	2,6354	13,497	23,292	33,223	-1,26
	3	32,0	10,0	43,978	2,0364	13,59	24,08	37,541	-1,379
4	1	26,0	8,0	30,624	4,4264	13,418	21,392	24,163	-1,014
	2	28,0	9,0	34,894	3,4414	13,528	23,591	29,369	-1,06
	3	30,0	10,0	37,636	2,9369	14,459	27,605	33,848	-0,94

5	1	27,0	8,0	30,505	4,1459	11,45	25,101	28,323	-0,909
	2	29,0	9,0	34,941	3,1035	11,177	26,691	33,482	-1,007
	3	31,0	10,0	38,686	2,4481	10,762	29,885	39,147	-1,018
<b>35 °C</b>									
3	1	28,0	8,0	34,218	3,4698	9,9532	21,149	30,022	-1,373
	2	30,0	9,0	39,194	2,6065	8,5466	23,918	37,329	-1,438
	3	32,0	10,0	43,874	2,015	7,338	26,584	44,029	-1,487
4	1	25,0	9,0	31,568	3,4366	6,5471	24,631	32,791	-1,181
	2	27,0	10,0	36,396	2,5766	5,0765	27,321	39,915	-1,266
	3	29,0	11,0	42,912	1,8153	5,4938	26,519	44,837	-1,515
5	1	24,0	9,0	31,125	2,6693	1,8938	28,641	39,103	-1,125
	2	26,0	10,0	36,759	1,9639	2,3304	27,679	42,972	-1,339
	3	28,0	11,0	41,757	1,558	1,7375	29,026	48,539	-1,457

**Tabela 12:** Dados das linhas de amarração em porcentagem mássica (%m/m) dos sistemas formados por PEG 1500 (W1) + Sulfato de Sódio (W2) + Água, em diferentes valores de pH a diferentes temperaturas.

pH	LA	<u>Composição global</u>		<u>Fase Superior</u>		<u>Fase Inferior</u>			
		W1	W2	W1	W2	W1	W2	CLA	ILA
<b>20 °C</b>									
3	1	18,0	7,5	26,77	3,9	3,38	13,5	25,28	-2,44
	2	19,5	8,5	31,98	2,77	0,78	17,1	34,33	-2,177
	3	21,0	9,5	36,35	2,11	0,23	19,5	40,09	-2,077
4	1	18,0	8,0	24,57	5,92	7,93	10,8	27,34	-3,406
	2	19,5	9,0	32,09	4,61	3,01	14,4	30,67	-2,983
	3	21,0	10,0	37,78	3,78	1,4	16,9	38,67	-2,777
5	1	16,0	8,5	26,21	3,4	1,3	14,7	27,37	-2,2
	2	17,5	9,5	31,08	2,5	0,38	17,2	34,05	-2,082
	3	19,0	10,5	35,87	1,88	0,13	19,1	39,68	-2,073
<b>25 °C</b>									
3	1	18,0	7,5	26,91	3,62	3,64	13,7	25,38	-2,3
	2	19,5	8,5	32,31	2,57	1,41	16,9	34,06	-2,16
	3	21,0	9,5	36,26	1,99	0,53	19,6	39,82	-2,033
4	1	17,5	8,0	29,38	3,47	2,12	13,9	29,17	-2,625
	2	19,0	9,0	34,81	2,61	0,7	16,4	36,79	-2,473
	3	20,5	10,0	39,63	2,04	0,25	18,4	42,65	-2,405
1	15,0	8,5	26,27	3,62	1,34	14,4	29,45	-2,31	

5	2	16,5	9,5	30,37	2,77	0,28	17,4	33,44	-2,061
	3	18,0	10,5	34,52	2,13	0,07	19,6	38,61	-1,974
<b>30 °C</b>									
3	1	17,0	8,0	27,29	4,13	1,73	13,7	27,31	-2,657
	2	18,0	9,0	31,15	3,37	0,46	16,5	33,38	-2,335
	3	19,0	10,0	35,82	2,57	0,17	18,3	38,97	-2,265
4	1	14,0	8,0	23,21	3,81	0,51	14,1	24,93	-2,201
	2	15,0	9,0	27,18	3,02	0,12	16,3	30,14	-2,038
	3	16,0	10,0	31,48	2,34	0,04	17,9	35,08	-2,02
5	1	14,0	8,5	23,21	3,84	0,97	15,1	24,93	-1,976
	2	15,0	9,5	27,97	2,82	0,37	17	31,05	-1,941
	3	16,0	10,5	32,01	2,2	0,14	18,7	35,9	-1,928
<b>35 °C</b>									
3	1	13,0	9,0	28,55	3,79	1,8	12,8	28,21	-2,983
	2	14,5	10,0	30,57	3,35	0,28	15,9	32,78	-2,417
	3	16,0	11,0	32,79	2,91	0,03	18,7	36,36	-2,075
4	1	12,5	9,0	26,03	3,2	1,97	13,5	26,18	-2,332
	2	14,0	10,0	27,86	2,88	0,49	16,9	30,77	-1,946
	3	15,5	11,0	31,73	2,32	0,16	19,3	35,83	-1,864
5	1	12,0	9,0	23,11	0,04	0,89	14	26,24	-1,591
	2	13,5	10,0	26,49	0,03	0,14	17	31,33	-1,555
	3	15,0	11,0	29,98	0,03	0,02	19,4	35,69	-1,544

Pode-se observar pelas Tabelas 11 e 12, que a fase superior foi composta por PEG e a fase inferior composta por sal. Com o aumento da composição global a concentração de Sal na fase superior para a maioria dos sistemas é muito baixa, e em alguns casos o Sal é quase que totalmente excluído desta fase, enquanto que o comportamento contrário é observado na fase superior. Comportamento similar foi observado por Barbosa et al., (2015) que utilizou PEG (1500, 2000, 4000 e 6000) + sulfato de sódio, para a obtenção dos dados de equilíbrio. Entretanto, observa-se ainda que para alguns sistemas compostos por PEG 400 + sulfato de sódio, a concentração de PEG na fase inferior foi maior que a concentração do Sal. Isto pode ter ocorrido em virtude do PEG 400 ser bastante hidrofílico e assim, fazer mais interações com a fase salina, a qual é composta majoritariamente por água e sulfato de sódio.

Nas Tabelas 11 e 12 observou-se uma relação proporcional entre o CLA e a composição global do sistema nas temperaturas e valores de pH de estudo. O aumento do valor do CLA ocorre nessa condição em razão de uma maior diferença de

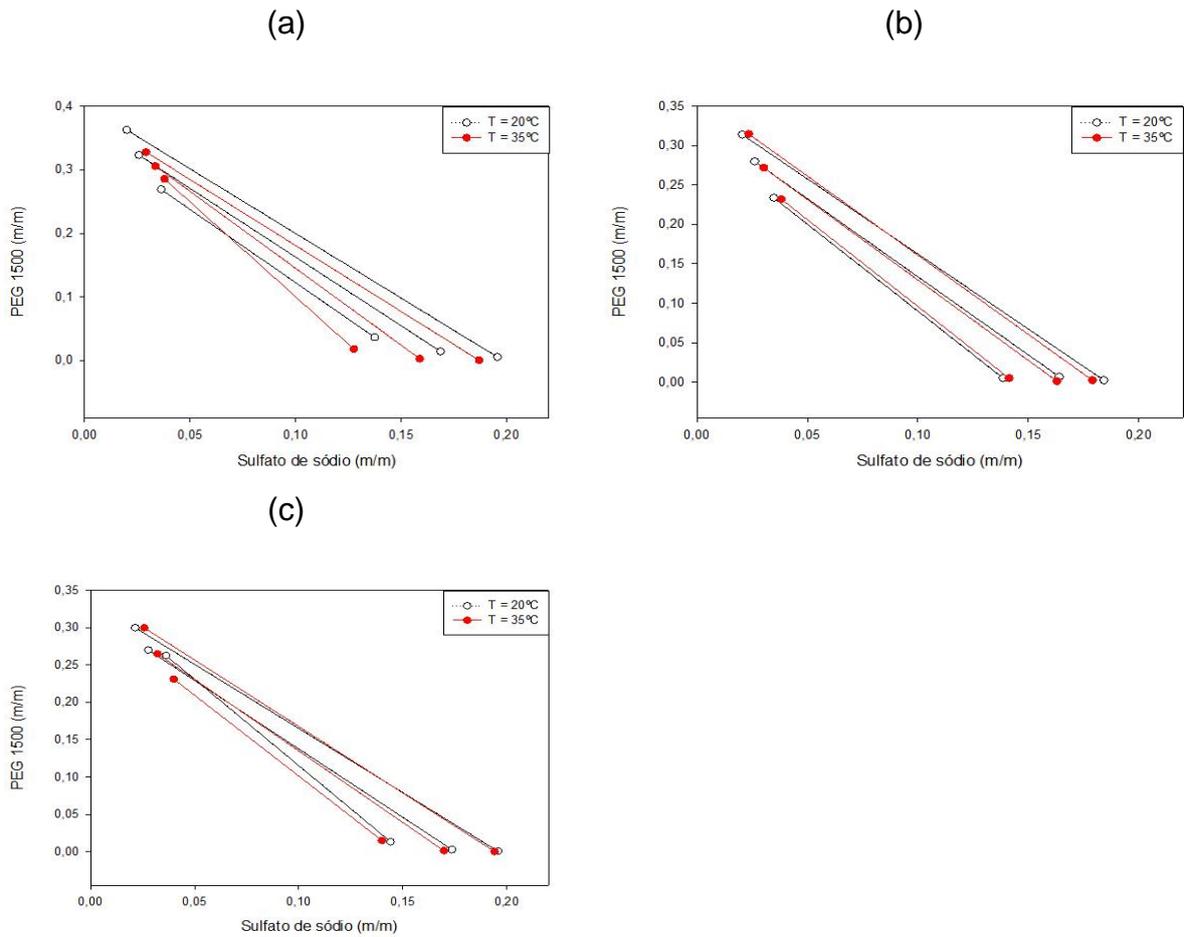
composição entre as fases. O conhecimento do comprimento da linha de amarração de cada SAB é um parâmetro termodinâmico, normalmente utilizado para indicar o comportamento da partição de biomoléculas, sendo que, quanto maior o CLA, maior será a partição (SOUSA *et al.*, 2009; MARTINS, 2010 e SAMPAIO *et al.*, 2012).

Foi observado que o aumento da massa molar do PEG, ocasionou o aumento do CLA. Este comportamento pode ser explicado por que o aumento da massa molar do polímero provoca aumento da hidrofobicidade da fase superior, promovendo a transferência de água da fase superior para a fase inferior. Portanto, tem-se a elevação da concentração de PEG na fase superior aumentando a diferença de composição entre fases. Tendência semelhante foi relatada por Zafarani-Moattar e Sadeghi (2004), para PEG 6000 + hidróxido de sódio; Oliveira *et al.* (2008), para PEG4000 + Sulfato de zinco; Carvalho *et al.* (2008), de PEG4000 + sulfato de sódio, PEG4000 + sulfato de lítio e PEG4000 + fosfato de potássio; BARBOSA *et al.*, (2016) PEG (1500, 2000, 4000 e 6000) + sulfato de sódio.

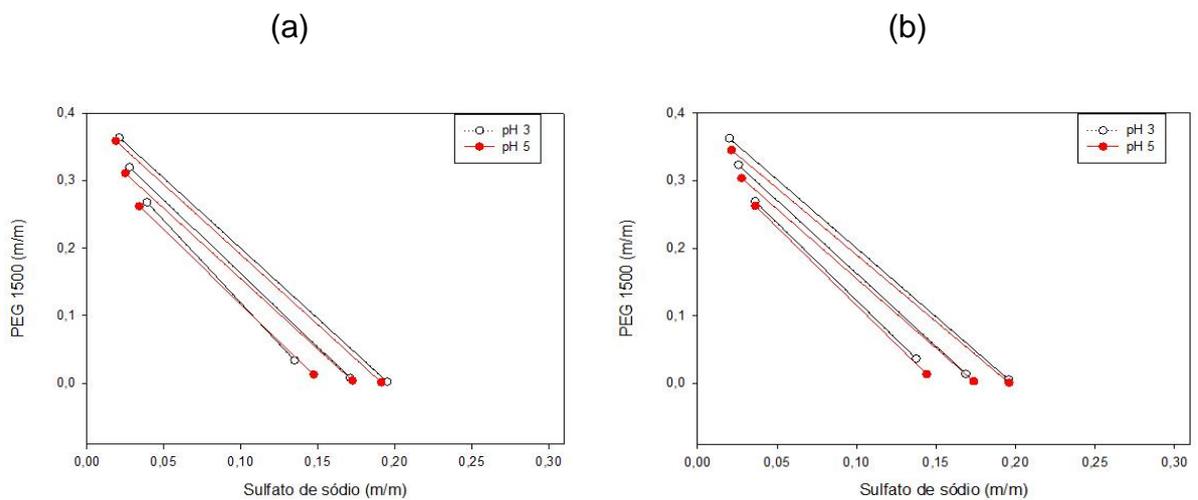
Não foi possível observar o efeito da temperatura e do pH sobre os parâmetros CLA e ILA, como pode ser observado nas Figuras 12 e 13. Para um mesmo tipo de PEG observa-se que as curvas de temperaturas e valores de pH distintos, não influenciam no comportamento das linhas de amarração. Ao analisar as figuras 12 e 13, tal particularidade pode ser comprovada, pois ao comparar as linhas de amarração, obtidas por diferentes parâmetros estudados (Temperatura e pH), percebe-se que, as mesmas possuem tamanhos relativamente parecidos e inclinações bem próximas, chegando a ficarem paralelas umas com as outras.

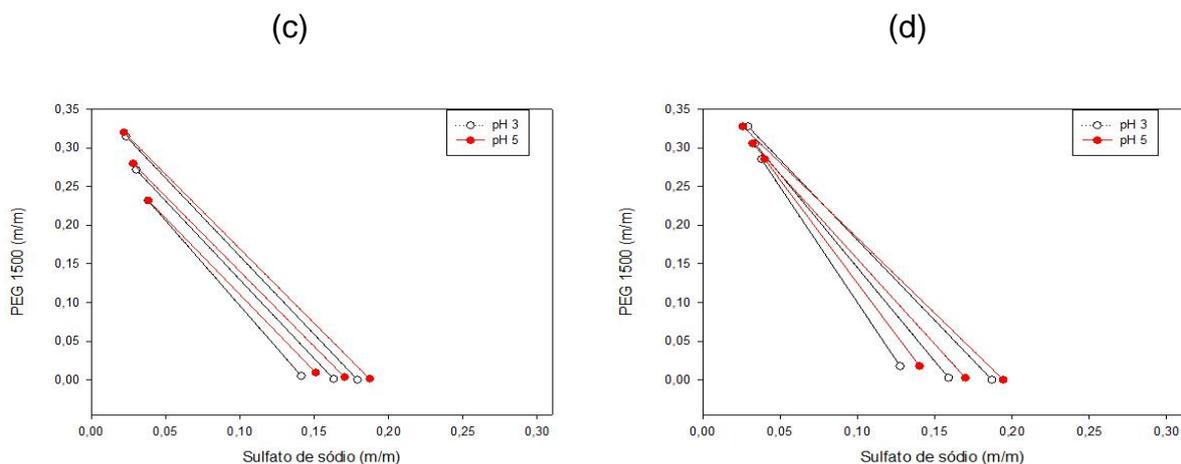
Efeito similar foi observado por CARVALHO *et al.* (2007), ao analisar sistema formado por PEG 4000 + fosfato de potássio.

**Figura 13:** Efeito da temperatura sobre a região bifásica na linha de amarração formado por PEG 1500 + Sulfato de Sódio + Água a pH 3,0 (a), pH 4,0 (b), e pH 5,0 (c).



**Figura 14:** Efeito do pH no CLA e ILA nos sistemas de PEG 1500 + Sulfato de Sódio + água, nas temperaturas de 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c) e 35°C (d).

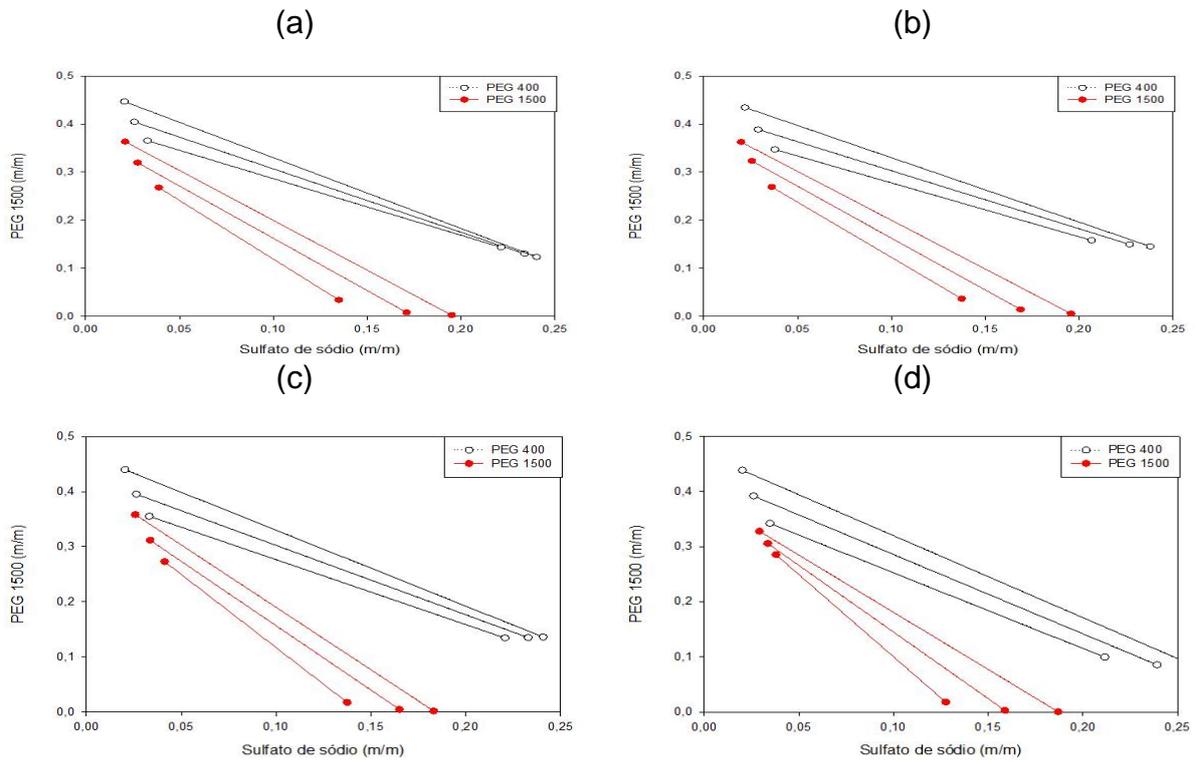




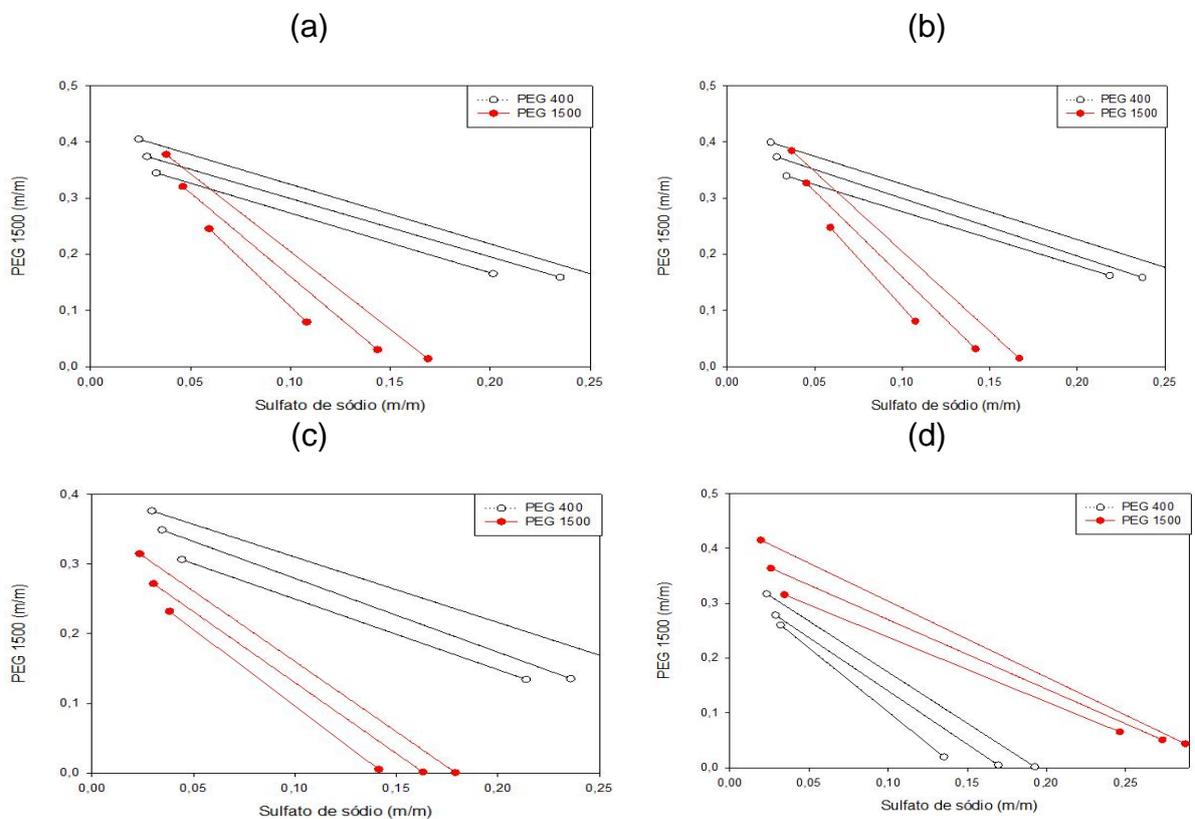
Assim como o comprimento da linha de amarração (CLA), o parâmetro que gerou comportamento significativo na inclinação da linha de amarração (ILA), foi o aumento da massa molar do PEG que causou um aumento da ILA. De acordo com os resultados observa-se que uma elevação na massa molar do polímero, promove um aumento da ILA (Tabelas 9 e 10). Isto pode ser explicado pelo aumento de hidrofobicidades das moléculas de PEG com a elevação da massa molar promovendo menor interação com as demais moléculas. Em outras palavras, o aumento da massa molar irá causar uma redução de atração entre o PEG e as moléculas de água e sulfato de sódio, o que resulta em um aumento da concentração deste polímero na fase superior e uma diminuição da concentração de sal na fase inferior, implicando no aumento da ILA. Tal peculiaridade pode ser comprovada ao analisar as Figuras 15 e 16, as quais possuem linhas de amarração obtidas por polímeros de diferentes massas molares, percebe-se que o polímero que tem maior massa molar, produziu linhas de amarração com inclinação mais acentuada.

Outro fato que pode ser observado é que, quanto maior for a inclinação das linhas de amarração, menor será a quantidade de sal necessária para separar as fases, isso é característico em PEG maiores massas molares maiores (ALVARENGA, 2013).

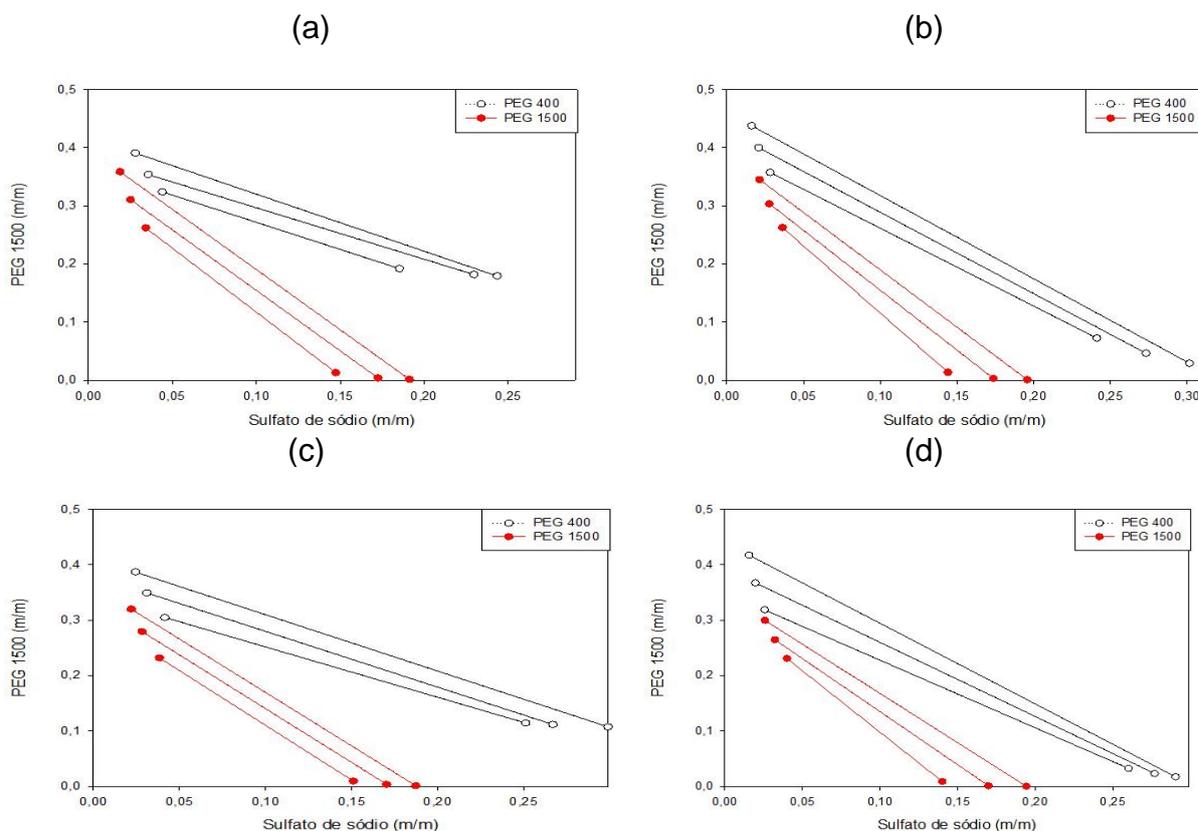
**Figura 15:** Efeito da massa molar no CLA e LA dos sistemas formados por PEG 1500 e PEG 4000 a 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c) e 35°C (d) no pH 3.



**Figura 16:** Efeito da massa molar no CLA e LA dos sistemas formados por PEG 1500 e PEG 4000 a 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c) e 35°C (d) no pH 4.



**Figura 17:** Efeito da massa molar no CLA e LA dos sistemas formados por PEG 1500 e PEG 4000 a 20°C (a), 25°C (b), 30°C (c) e 35°C (d) no pH 4.



### 5.3. Propriedades termofísicas.

A densidade das soluções aquosas do PEG e do sulfato de sódio foram medidas em diferentes temperaturas  $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  para o PEG 400 e PEG 1500. As interações do PEG com a água e do sal com a água desempenham um papel crucial na separação de fases (BEGUM et al., 2015). Dados das propriedades físicas de soluções aquosas podem ser úteis na elucidação das interações entre as moléculas nas misturas líquidas.

#### 5.3.1. Densidade

Na Tabela 13 são apresentados os dados obtidos experimentalmente para densidade ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ), das fases superior e inferior para os sistemas formados por PEG (400/1500) + sulfato de sódio + água nos valores de pH 3,0, 4,0, e 5,0, nas temperaturas de 20, 25, 30 e 35°C

**Tabela 13:** Densidade, das fases dos sistemas compostos por PEG (400/1500) + sulfato de sódio + água em diferentes valores de pH e Temperatura.

pH	L.A	PEG 400		PEG 1500	
		Superior g.cm <sup>-3</sup>	Inferior g.cm <sup>-3</sup>	Superior g.cm <sup>-3</sup>	Inferior g.cm <sup>-3</sup>
<b>20°C</b>					
3	1	1076,65	1136,118	1078,36	1137,4
	2	1078,87	1158,973	1080,3	1159,92
	3	1080,9	1173,554	1082,99	1175,62
4	1	1069,06	1140,002	1070,56	1140,22
	2	1068,14	1151,985	1070,5	1152,88
	3	1071,00	1176,46	1073,19	1176,55
5	1	1063,96	1137,421	1065,96	1138,43
	2	1064,10	1163,918	1065,9	1164,98
	3	1066,00	1180,016	1068,59	1180,88
<b>25°C</b>					
3	1	1075,98	1134,455	1077,46	1135,47
	2	1077,79	1148,665	1079,24	1149,85
	3	1080,01	1161,231	1081,54	1163,24
4	1	1068,00	1136,736	1069,33	1138,77
	2	1068,97	1151,683	1069,27	1151,69
	3	1069,98	1173,335	1071,96	1174,58
5	1	1062,97	1137,01	1064,73	1138
	2	1063,06	1162,112	1064,67	1162,11
	3	1065,01	1178,434	1067,36	1178,43
<b>30°C</b>					
3	1	1074,22	1130,008	1076,22	1130,91
	2	1076,34	1140,119	1078,34	1141,89
	3	1078,34	1151,144	1080,34	1153,53
4	1	1067,99	1135,394	1069,19	1137,39
	2	1068,02	1148,309	1069,12	1150,32
	3	1069,41	1172,003	1071,82	1173,2
	1	1063,01	1135,627	1064,59	1136,63

5	2	1063,94	1155,74	1064,52	1160,74
	3	1065,22	1172,062	1067,22	1177,06
<b>35 °C</b>					
3	1	1073,08	1122,221	1074,92	1125,4
	2	1073,85	1140,091	1075,34	1140,59
	3	1074,94	1150,799	1075,94	1151,75
4	1	1066,10	1136,695	1068,18	1136,7
	2	1066,73	1145,608	1068,13	1149,61
	3	1069,81	1170,678	1070,81	1172,68
5	1	1063,38	1131,129	1063,58	1136
	2	1064,00	1155,047	1064,03	1160,04
	3	1067,09	1170,167	1067,01	1174,36

Na Tabela 13, é possível observar que a densidade das fases superior e inferior do sistema composto por PEG 400+sulfato de sódio+ água na temperatura de 20°C variou de 1063,961 g.cm<sup>-3</sup> a 1080,9 g.cm<sup>-3</sup> e 1136,345 g.cm<sup>-3</sup> a 1180,112 g.cm<sup>-3</sup>, respectivamente. Fazendo uma análise geral dos dados, verificou-se que a densidade aumenta com a elevação das concentrações dos constituintes dos sistemas, tanto na fase superior, quanto na fase inferior. Além disso, verificou-se que as fases inferiores do sistema, compostas majoritariamente por sal e água, possuem maior densidade que as fases superiores, ricas em PEG e água, fazendo com que, a separação das fases seja mais rápida em razão dessa diferença de densidade dos constituintes da fase inferior. Tais afirmações, também podem ser feitas para as temperaturas de 25°C, 30°C, 35°C e para os demais sistemas compostos por PEG 1500 + sulfato de sódio + água.

A densidade das misturas binárias de PEG 400, PEG 15000 e Sulfato de Sódio + água, diminuíram com o aumento da temperatura. Trivedi, Bhanot e Pandey (2010), também encontraram comportamento similar, ao estudar o efeito da temperatura sobre a densidade de soluções aquosas de polietilenoglicol. A redução da densidade com o aumento da temperatura pode ser conferida à maior vibração e agitação das moléculas do líquido, que causam um possível aumento do volume e, conseqüentemente, a diminuição de interações moleculares (SIANGCO; LERON; LI, 2013). Outro fator

observado na Tabelas 11 é que houve uma grande proximidade dos valores da densidade do PEG 400 e do PEG 1500, estando de acordo aos resultados encontrados por Kirinčič e Klofutar (1998) que utilizaram soluções aquosas de polietilenoglicol de peso molecular na faixa de 300 a 35000 g.mol<sup>-1</sup> a 298,15 K, para determinar a densidade, e verificaram que os valores da densidade são praticamente independentes da massa molecular do polietilenoglicol.

#### 5.4. Estimativa dos parâmetros e energia de interação.

Nesse trabalho os dados experimentais do equilíbrio líquido-líquido foram utilizados para estimar novos parâmetros de interação de grupo com o modelo UNIFAC original.

Os parâmetros de interação usados da literatura, os estimados (negrito) e os valores da energia de interação ( $T_{ij}$ ) encontrada com os dados experimentais deste trabalho a 25°C estão disponíveis nas Tabelas (14-19). As Tabelas referentes às demais temperaturas estão nos Anexos.

**Tabela 14:** Valores dos parâmetros de interação, encontrados na literatura, estimados e energias de interação referentes ao sistema PEG 400, pH 3 e T=25°C.

Grupo i	Grupo j	A <sub>ij</sub>	A <sub>ji</sub>	T <sub>ij</sub>	T <sub>ji</sub>	Referências
CH <sub>2</sub>	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892	1,0111	Parâmetro estimado
CH <sub>2</sub>	OH	644,6	328,2	0,1108	0,3262	Magnussen, 1981
CH <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub>	<b>-1686,8</b>	<b>-1005,3</b>	316,3966	30,9093	<b>Parâmetro estimado</b>
CH <sub>2</sub>	Na	1257,7	1681,1	0,0137	0,0032	Yan et al., 1999
CH <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	1300	342,5	0,0118	0,3107	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>545,68</b>	<b>-2953,1</b>	0,1553	23833,3131	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO <sub>4</sub>	<b>963,1</b>	<b>-2735,6</b>	0,0374	11344,8454	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	Na	<b>1101,3</b>	<b>590,2</b>	0,0233	0,1334	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H <sub>2</sub> O	<b>319,95</b>	<b>-1821,7</b>	0,3356	501,401	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO <sub>4</sub>	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549	Cunha, 2008
OH	Na	1610,4	783,6	0,0041	0,0689	Yan et al., 1999
OH	H <sub>2</sub> O	28,73	-122,4	0,9066	1,5185	Magnussen, 1981
SO <sub>4</sub>	Na	-1106,6	-2049,5	43,6757	1091,0333	Cunha, 2008
SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O	-416,13	-1903,9	4,1381	663,781	Cunha, 2008
Na	H <sub>2</sub> O	-165	22,38	1,7562	0,9265	Yan et al., 1999

**Tabela 15:** Valores dos parâmetros de interação, encontrados na literatura, estimados e energias de interação referentes ao sistema PEG 400, pH 4 e T=25°C.

Grupo i	Grupo j	A <sub>ij</sub>	A <sub>ji</sub>	T <sub>ij</sub>	T <sub>ji</sub>	Referências
CH <sub>2</sub>	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892	1,0111	Parâmetro estimado
CH <sub>2</sub>	OH	644,6	328,2	0,1108	0,3262	Magnussen, 1981
CH <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub>	<b>-655,09</b>	<b>-1130,7</b>	9,354	47,42	<b>Parâmetro estimado</b>
CH <sub>2</sub>	Na	1257,7	1681,1	0,0137	0,0032	Yan et al., 1999
CH <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	1300	342,5	0,0118	0,3107	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>500,27</b>	<b>-2272,1</b>	0,1813	2332,2938	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO <sub>4</sub>	<b>1229,9</b>	<b>-2053,9</b>	0,015	1107,5411	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	Na	<b>1232,9</b>	<b>644,54</b>	0,0149	0,1108	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H <sub>2</sub> O	<b>345,37</b>	<b>-1266,7</b>	0,3077	75,4302	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO <sub>4</sub>	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549	Cunha, 2008
OH	Na	1610,4	783,6	0,0041	0,0689	Yan et al., 1999
OH	H <sub>2</sub> O	28,73	-122,4	0,9066	1,5185	Magnussen, 1981
SO <sub>4</sub>	Na	-1106,6	-2049,5	43,6757	1091,0333	Cunha, 2008
SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O	-416,13	-1903,9	4,1381	663,781	Cunha, 2008
Na	H <sub>2</sub> O	-165	22,38	1,7562	0,9265	Yan et al., 1999

**Tabela 16:** Valores dos parâmetros de interação, encontrados na literatura, estimados e energias de interação referentes ao sistema PEG 400, pH 5 e T=25°C.

Grupo i	Grupo j	A <sub>ij</sub>	A <sub>ji</sub>	T <sub>ij</sub>	T <sub>ji</sub>	Referências
CH <sub>2</sub>	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,0110987	Parâmetro estimado
CH <sub>2</sub>	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,3262353	Magnussen, 1981
CH <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub>	<b>-146,44</b>	<b>-958,02</b>	1,6483837	26,303259	<b>Parâmetro estimado</b>
CH <sub>2</sub>	Na	1257,7	1681,1	0,0136708	0,0032227	Yan et al., 1999
CH <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	1300	342,5	0,011833	0,3106955	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>591,06</b>	<b>-2672,2</b>	0,1330182	9137,449	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO <sub>4</sub>	<b>989,9</b>	<b>-2417,1</b>	0,0340986	3825,6668	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	Na	<b>992,67</b>	<b>512,88</b>	0,0337778	0,1736969	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H <sub>2</sub> O	<b>498,23</b>	<b>-1782,8</b>	0,1826025	439,06244	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO <sub>4</sub>	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,85494	Cunha, 2008
OH	Na	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H <sub>2</sub> O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO <sub>4</sub>	Na	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,0333	Cunha, 2008
SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,78096	Cunha, 2008
Na	H <sub>2</sub> O	-165	22,38	1,7561781	0,926462	Yan et al., 1999

**Tabela 17:** Valores dos parâmetros de interação ( $A_{ij}$  e  $A_{ji}$ ), encontrados na literatura e estimados e energias de interação ( $T_{ij}$  e  $T_{ji}$ ) referentes ao sistema PEG 1500, pH 3 e  $T=25^{\circ}\text{C}$ .

Grupo i	Grupo j	$A_{ij}$	$A_{ji}$	$T_{ij}$	$T_{ji}$	Referências
CH <sub>2</sub>	ETIL	-502,86	-3,1886	5,5636	1,0109	<b>Parâmetro estimado</b>
CH <sub>2</sub>	OH	644,6	328,2	0,1108	0,3262	Magnussen, 1981
CH <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub>	<b>-2325,5</b>	<b>2023,4</b>	2798,5594	0,001	Parâmetro estimado
CH <sub>2</sub>	Na	1257,7	1681,1	0,0137	0,0032	Yan et al., 1999
CH <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	1300	342,5	0,0118	0,3107	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-2252,2</b>	<b>-2935</b>	2179,1484	22405,5695	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO <sub>4</sub>	<b>-1216,3</b>	<b>-2139,8</b>	63,5098	1484,8539	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	Na	<b>-837,24</b>	<b>-601,21</b>	17,4175	7,7828	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H <sub>2</sub> O	<b>714,66</b>	<b>-2157,9</b>	0,0872	1579,4728	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO <sub>4</sub>	-2364,7	-1174,5	3199,1757	55,066	Cunha, 2008
OH	Na	1480,3	367,01	0,0064	0,2858	Yan et al., 1999
OH	H <sub>2</sub> O	28,73	-122,4	0,9066	1,5185	Magnussen, 1981
SO <sub>4</sub>	Na	-1106,6	-2049,5	43,6757	1091,0333	Cunha, 2008
SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O	-416,13	-1903,9	4,1381	663,781	Cunha, 2008
Na	H <sub>2</sub> O	165	22,38	0,5694	0,9265	Yan et al., 1999

**Tabela 18:** Valores dos parâmetros de interação ( $A_{ij}$  e  $A_{ji}$ ), encontrados na literatura e estimados e energias de interação ( $T_{ij}$  e  $T_{ji}$ ) referentes ao sistema PEG 1500, pH 4 e  $T=25^{\circ}\text{C}$ .

Grupo i	Grupo j	$A_{ij}$	$A_{ji}$	$T_{ij}$	$T_{ji}$	Referências
CH <sub>2</sub>	ETIL	-502,86	-3,1886	5,5636	1,0109	<b>Parâmetro estimado</b>
CH <sub>2</sub>	OH	644,6	328,2	0,1108	0,3262	Magnussen, 1981
CH <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub>	<b>-1169,7</b>	<b>1427,4</b>	54,1712	0,0077	Parâmetro estimado
CH <sub>2</sub>	Na	1257,7	1681,1	0,0137	0,0032	Yan et al., 1999
CH <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	1300	342,5	0,0118	0,3107	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-638,12</b>	<b>-2735,4</b>	8,8276	11337,1041	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO <sub>4</sub>	<b>-1158,6</b>	<b>-2234,8</b>	52,1574	2053,5058	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	Na	<b>-671,19</b>	<b>-592,31</b>	9,8824	7,5499	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H <sub>2</sub> O	<b>762,21</b>	<b>-1957,2</b>	0,0742	796,2104	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO <sub>4</sub>	<b>-2338,2</b>	<b>-1109,1</b>	2922,5295	44,05	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	Na	<b>1403,2</b>	<b>523,8</b>	0,0083	0,1673	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	H <sub>2</sub> O	28,73	-122,4	0,9066	1,5185	Magnussen, 1981
SO <sub>4</sub>	Na	-1106,6	-2049,5	43,6757	1091,0333	Cunha, 2008
SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O	-416,13	-1903,9	4,1381	663,781	Cunha, 2008
Na	H <sub>2</sub> O	165	22,38	0,5694	0,9265	Yan et al., 1999

**Tabela 19:** Valores dos parâmetros de interação ( $A_{ij}$  e  $A_{ji}$ ), encontrados na literatura e estimados e energias de interação ( $T_{ij}$  e  $T_{ji}$ ) referentes ao sistema PEG 1500, pH 5 e  $T=25^{\circ}\text{C}$ .

Grupo i	Grupo j	$A_{ij}$	$A_{ji}$	$T_{ij}$	$T_{ji}$	Referências
CH <sub>2</sub>	ETIL	-502,86	-3,1886	5,563602	1,010942025	<b>Parâmetro estimado</b>
CH <sub>2</sub>	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub>	<b>-2253,4</b>	<b>1730,1</b>	2188,0915	0,002726387	Parâmetro estimado
CH <sub>2</sub>	Na	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-799,6</b>	<b>-2751,2</b>	15,317719	11965,2404	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO <sub>4</sub>	<b>-1377,6</b>	<b>-2094,7</b>	110,13496	1273,019298	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	Na	<b>-733,59</b>	<b>-488,05</b>	12,227899	5,289372711	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H <sub>2</sub> O	<b>768,21</b>	<b>-1950,7</b>	0,0726663	778,7415201	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO <sub>4</sub>	<b>-2422</b>	<b>-1134,6</b>	3890,1835	48,05542099	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	Na	<b>1457,2</b>	<b>215,59</b>	0,0069197	0,479121027	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	H <sub>2</sub> O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO <sub>4</sub>	Na	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
Na	H <sub>2</sub> O	165	22,38	0,5694183	0,926461996	Yan et al., 1999

De acordo com os valores da energia de interação expostos nas Tabelas 14-19, pode-se observar que para os sistemas formados por PEG 400 (Tabelas 14, 15 e 16), a energia de interação dos grupos funcionais do sal (Na, SO<sub>4</sub>) com a água (H<sub>2</sub>O) foram maiores que os grupos funcionais do PEG (ETIL) com sal (Na, SO<sub>4</sub>) e PEG/-Água. Tal comportamento era esperado, pois a fase salina dos sistemas tem maior capacidade de interagir com moléculas de água que a fase polimérica. Outro fator observado nas Tabelas 14, 15, 16, é que, à medida que se aumenta o valor do pH, ocorre uma redução da energia de interação do grupo de contribuição ETIL com o grupo de contribuição da água. Esse comportamento ocorre por que em maiores valores de pH há maior concentração de íons com maior valência no sistema. Como moléculas que possuem maior valência, possuem maior capacidade de hidratação, possivelmente as energias de interação do grupo de contribuição ETIL com a água seriam mais baixos em maiores valores de pH, quando comparadas com as energias de interação em menores valores. Estes fatos estão relacionados com o volume de exclusão, pois quanto maior a capacidade de hidratação das moléculas de sal, maior será a quantidade de sítios configuracionais livres para que ocorra a interação com as moléculas de água, sendo assim, maior o valor do volume de exclusão. A ocorrência que anteriormente foi descrita, será possivelmente determinante na partição da biomolécula de interesse,

pois à medida que ocorrem ligações entre sal e água predominantes na fase inferior, cavidades e sítios configuracionais livres serão formadas na fase superior, ficando suscetíveis a receber as biomoléculas que serão particionadas.

Nas demais tabelas (17, 18 e 19) observou-se comportamento distinto. Além das energias de interação dos grupos funcionais do PEG com os da água serem maiores que as energias de interação dos grupo SAL/Água, foi observado que o aumento dos valores de pH provocou uma maior interação dos grupos funcionais do PEG com os grupos de sal e água, quando esse resultado deveria ser oposto, pois à medida que aumenta o valor do pH aumenta os valência dos íons de sal, e com esse aumento terão maior capacidade de hidratação, logo, estariam mais ligados às moléculas de água, sobrando assim menores quantidades moléculas de sal e água para interagirem com a fase polimérica.

Essa contradição pode ser explicada pelo fato do modelo UNIFAC se tratar de um modelo de ajuste de composição local o qual analisa a interação de um grupo funcional com todos os grupos funcionais presentes no sistema. Entretanto, a eficiência desse modelo depende de um comando de ajustes de cada interação, esse comando de ajuste é realizado pelo operador e nesse trabalho só foram estimados os parâmetros de interação das moléculas de PEG com as moléculas de sal e água. Já os parâmetros de interação das moléculas de sal com a água foram obtidos da literatura, os tornando fixos durante processo de modelagem, impossibilitando assim, estimar novos valores de interação para eles, fato este, provavelmente interferiu nas análises.

#### **5.4.1. Desvio dos sistemas e gráficos comparativos dos dados experimentais e calculados através do modelo UNIFAC.**

O desvio médio calculado para cada sistema utilizando o modelo UNIFAC, aparece na Tabela 20.

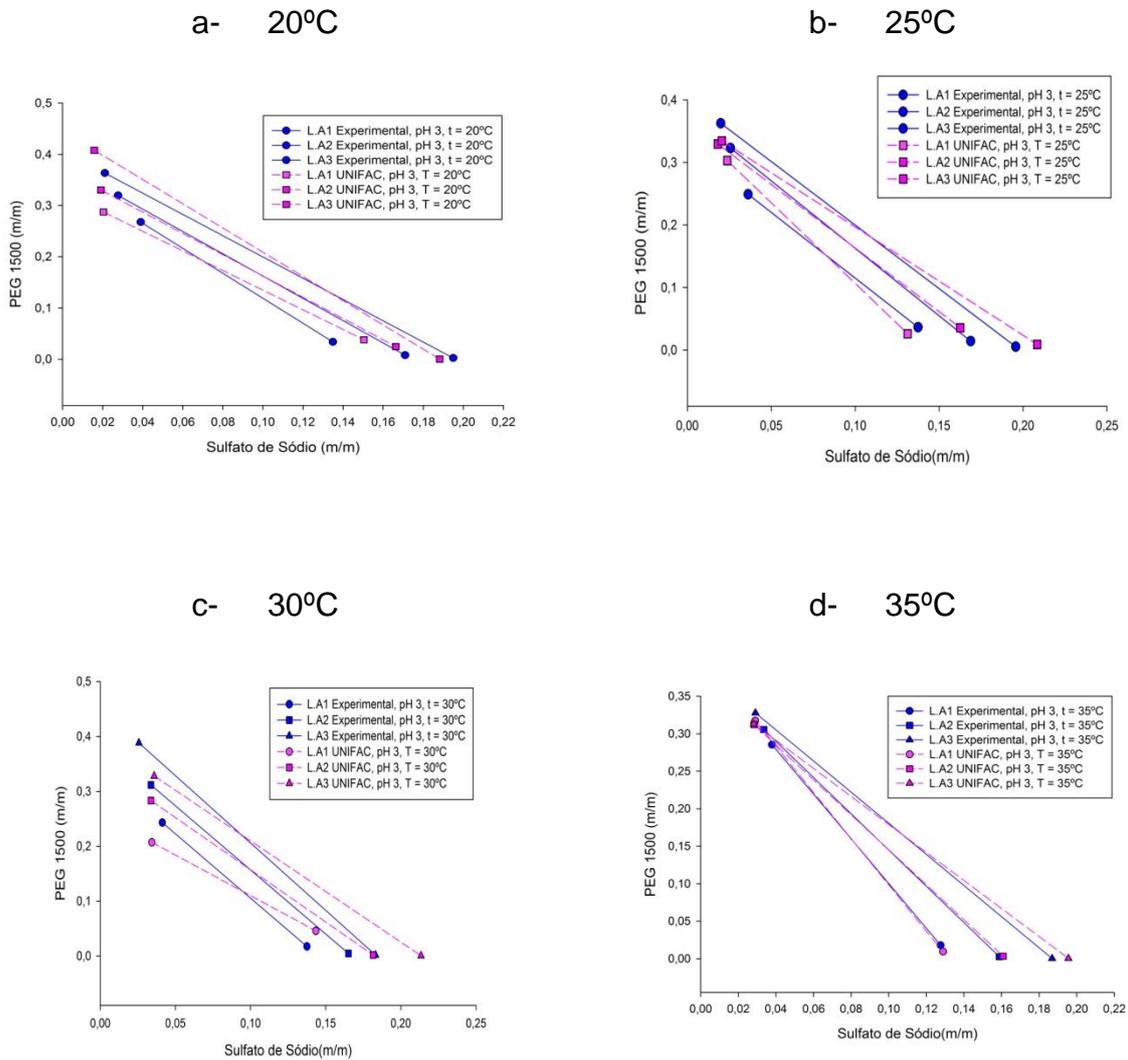
**Tabela 20:** Desvios nas composições dos sistemas por modelagem termodinâmica (UNIFAC).

<b>Sistemas</b>	<b><math>\Delta w</math> (%)</b>
-----------------	----------------------------------

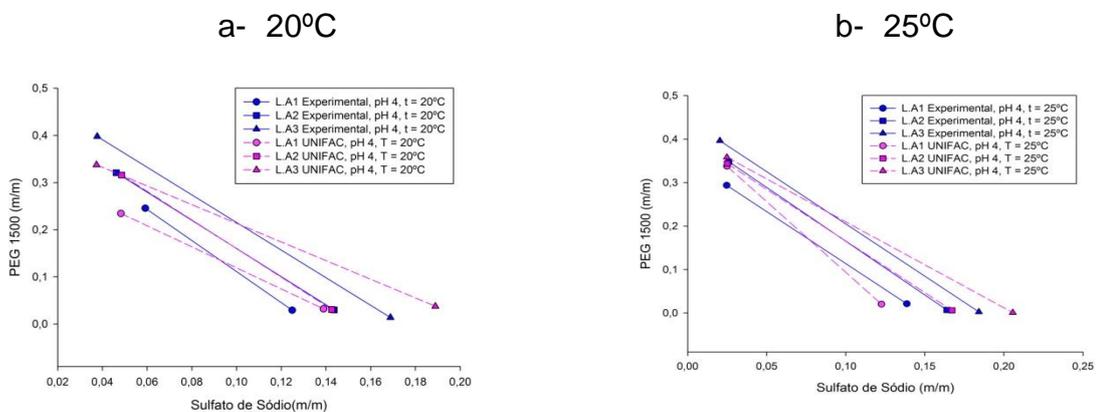
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 20°C.	3,12
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 25°C.	3,86
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 30°C.	2,61
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 35°C.	1,16
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 20°C.	1,17
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 25°C.	2,53
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 30°C.	1,75
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 35°C.	1,93
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 20°C.	2,35
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 25°C.	2,49
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 30°C.	2,64
PEG 1500 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 35°C.	3,58
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 20°C.	3,18
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 25°C.	3,12
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 30°C.	3,11
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 3, T = 35°C.	3,24
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 20°C.	2,97
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 25°C.	2,54
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 30°C.	2,33
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 4, T = 35°C.	2,98
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 20°C.	2,88
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 25°C.	2,16
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 30°C.	2,16
PEG 400 + Sulfato de sódio+ água, pH 5, T = 25°C.	2,25
<b>Desvio médio global</b>	<b>2,58</b>

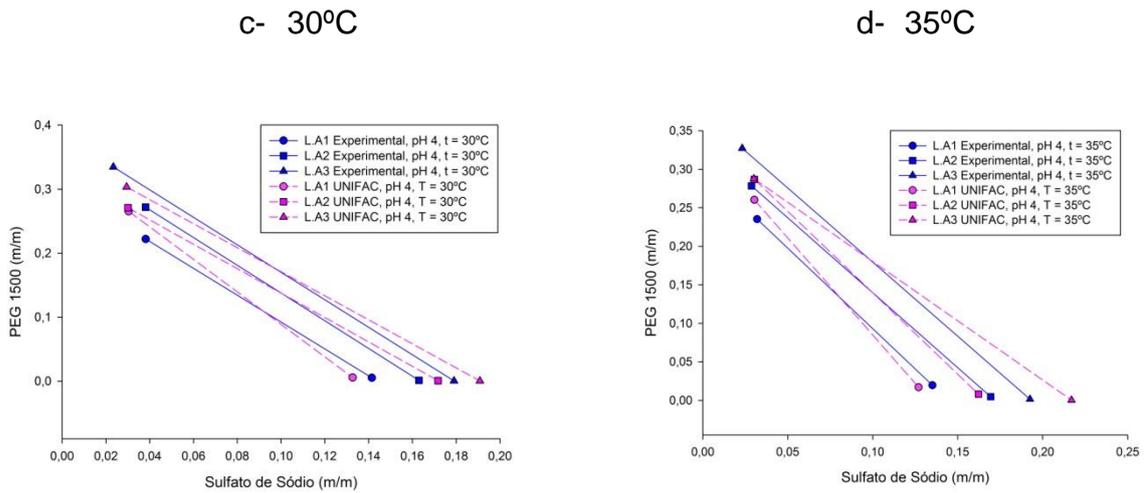
Nas figuras 18 a 24 são apresentados os gráficos comparativos dos dados experimentais e calculados através do modelo UNIFAC.

**Figura 18: Dados experimentais e calculados do equilíbrio líquido-líquido para o sistema PEG 1500 + sulfato de sódio + água pelo modelo UNIFAC a pH 3.**

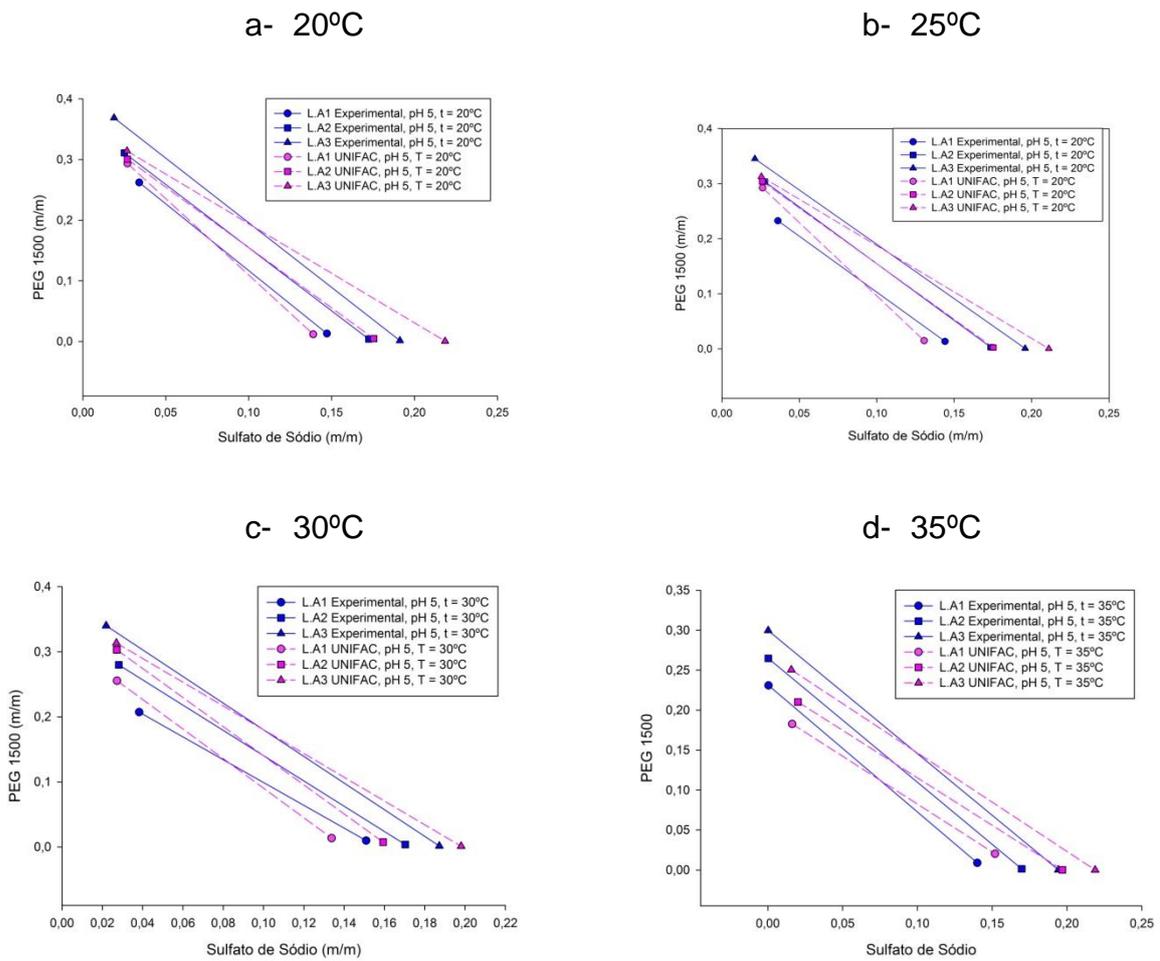


**Figura 19: Dados experimentais e calculados do equilíbrio líquido-líquido para o sistema PEG 1500 + sulfato de sódio + água pelo modelo UNIFAC a pH 4.**

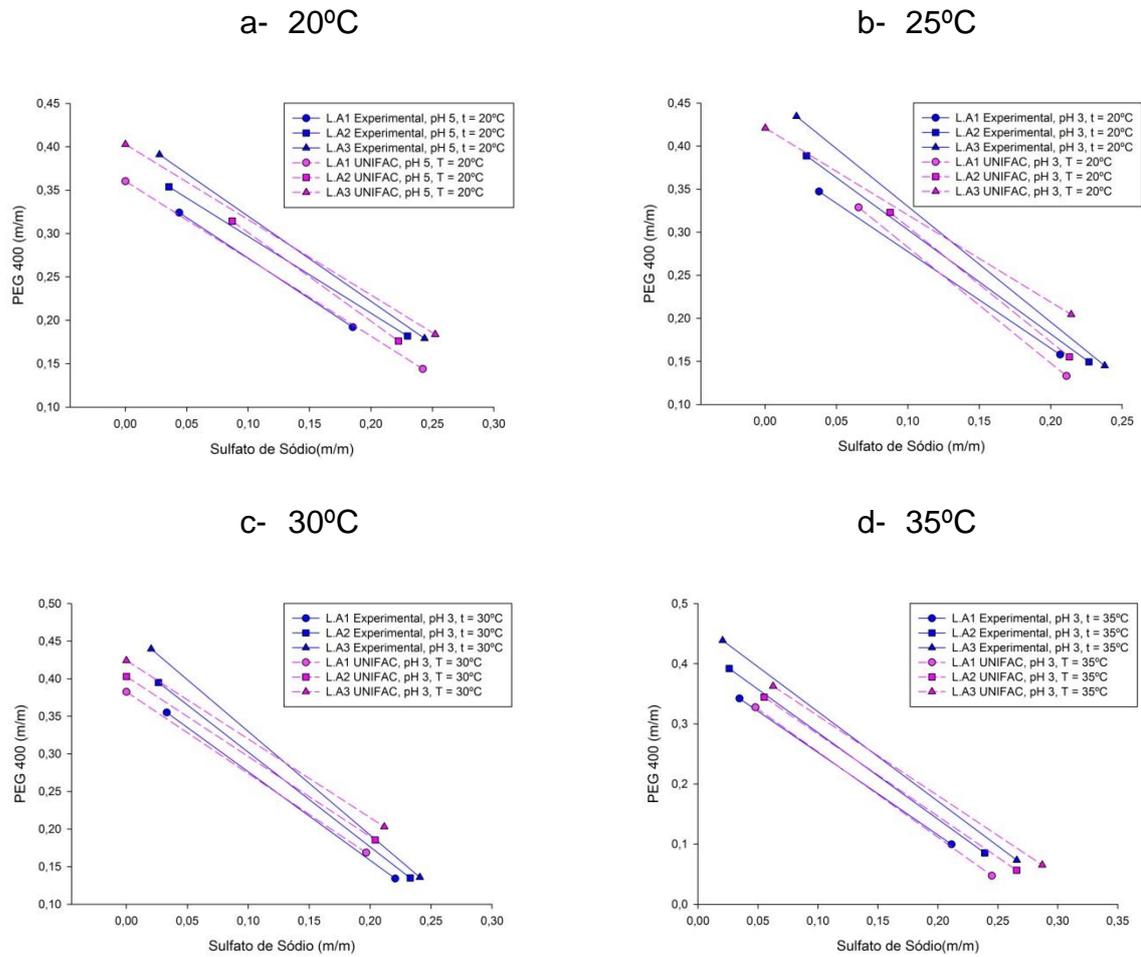




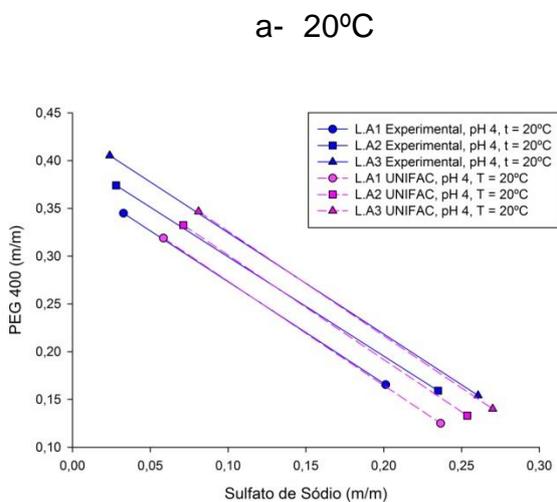
**Figura 20:** Dados experimentais e calculados do equilíbrio líquido-líquido para o sistema PEG 1500 + sulfato de sódio + água pelo modelo UNIFAC a pH 5.

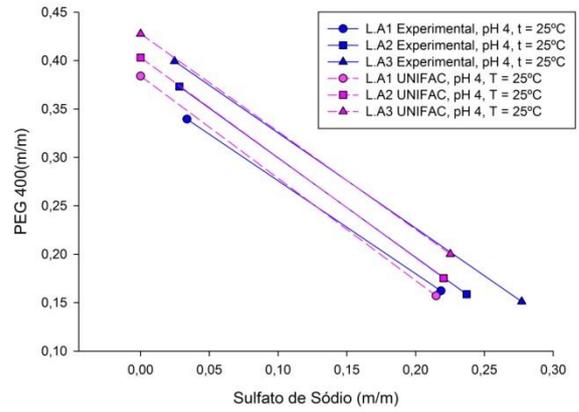


**Figura 21:** Dados experimentais e calculados do equilíbrio líquido-líquido para o sistema PEG 400 + sulfato de sódio + água pelo modelo UNIFAC a pH 3.



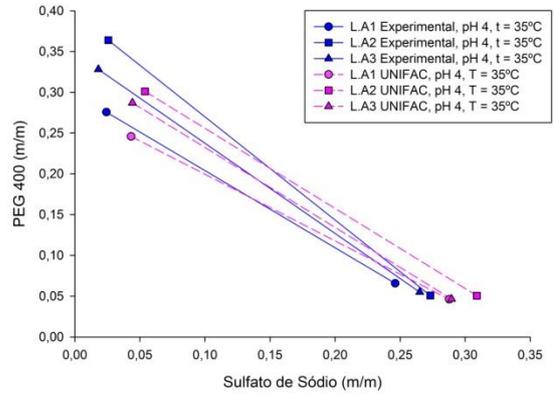
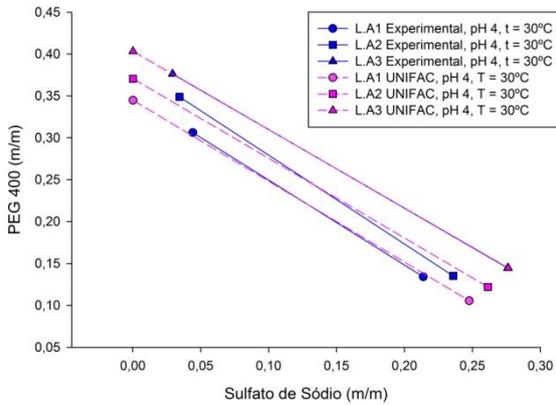
**Figura 22:** Dados experimentais e calculados do equilíbrio líquido-líquido para o sistema PEG 400 + sulfato de sódio + água pelo modelo UNIFAC a pH 4.





c- 30°C

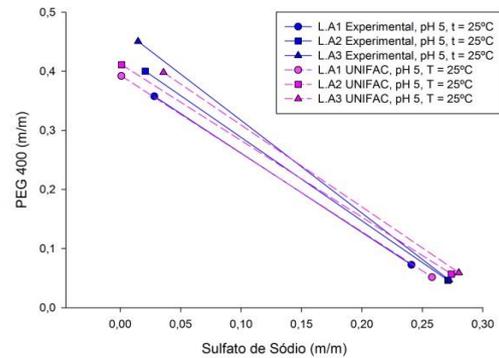
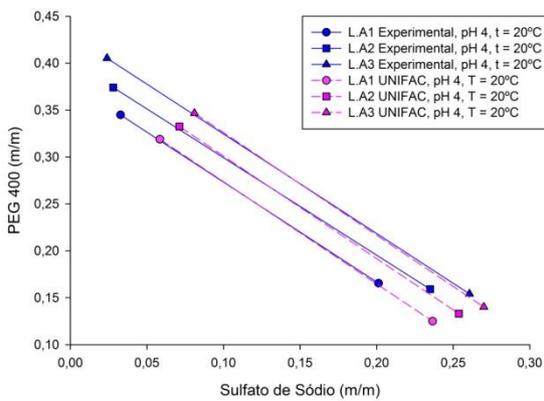
d- 35°C



**Figura 23:** Dados experimentais e calculados do equilíbrio liquido-liquido para o sistema PEG 400 + sulfato de sódio + água pelo modelo UNIFAC a pH 5.

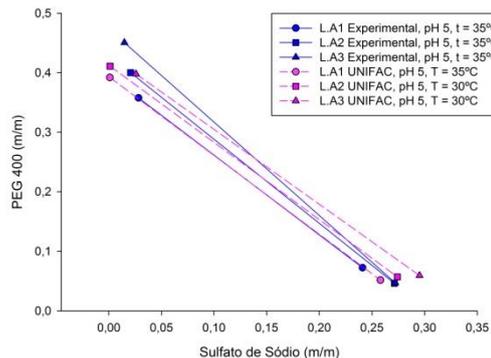
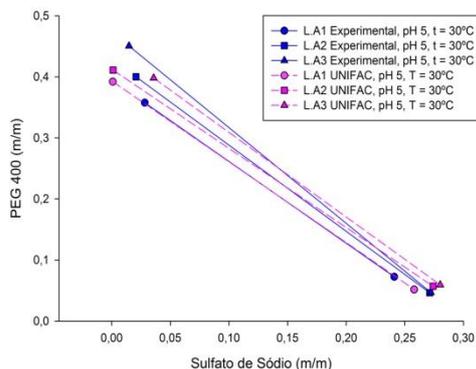
a- 20°C

b- 25°C



c- 30°C

d- 35°C



Observando a Tabela com os desvios e as Figuras (18 a 23), percebe-se que modelo UNIFAC teve uma representação excelente para os sistemas analisados, apresentando um desvio médio global muito baixo. Para os sistemas contendo PEG 1500 (Figuras 18, 19 e 20) a representação gráfica pode ser considerada boa, pois apesar dos extremos das linhas de amarração não coincidirem, essas estão muito próximas. Para o sistema contendo PEG 400 (Figuras 21, 22 e 23) os dados calculados praticamente se sobrepõem aos experimentais, representando, portanto melhor esse sistema. Isso pode ser atribuído ao fato do PEG 400 conter uma menor cadeia de etileno, fazendo com que o programa precise ajustar menos dados calculados aos experimentais.

## 5.5. Volume de exclusão dos sistemas

A fim de melhor estudar a capacidade de ligação do sulfato de sódio com a água, o volume de exclusão, que é denominado como uma espécie de espaços vazios disponíveis para interações moleculares, foi calculado para os sistemas formados a 25°C nos valores de pH 3, 4 e 5, para as respectivas linhas de amarração. Os valores do volume de exclusão estão representados na Tabela 20. Os volumes de exclusão referentes às demais temperaturas são apresentados no Anexo 2:

**Tabela 21: Valores calculados do volume de exclusão dos sistemas formados por PEG (400/1500) + Sulfato de sódio + água a 25°C.**

<b>SAB's</b>	<b>V*213</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 3	2437.69	0.9949
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 4	2654.39	0.9879
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 5	2795.86	0.9907
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	411.34	0.9498
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 4	459.53	0.9824
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	488.29	0.9943

As condições de equilíbrio e a distribuição dos componentes nos sistemas estão normalmente sob a influência dos eletrólitos presentes. Sabe-se que o tipo e a concentração do sal são fatores efetivos na separação de fases. Conforme mostrado na Tabela 20 o volume de exclusão dos sistemas contendo maiores valores de pH (maior concentração de íons divalentes) são significativamente mais elevados do que aqueles com maior concentração de íons monovalentes. Isso acontece pois, quanto maior a concentração de íons divalentes, maior a capacidade de hidratação as moléculas de sal e dessa forma terão mais sítios configuracionais livres para que ocorra a interação com as moléculas de água, sendo assim, maior o valor do volume de exclusão. O mesmo comportamento foi observado por Chethana et al., (2007) ao estudar dados de equilíbrio formados por PEG (2000, 4000) + cloreto de sódio + água.

Esse fato possivelmente será determinante na partição da biomolécula de interesse, pois à medida que ocorrem ligações entre sal e água predominantes na fase inferior, cavidades e sítios configuracionais livres serão formadas na fase superior, ficando suscetíveis a receber as biomoléculas que serão particionadas.

#### **5.6. Partição da Betalaína e dos açúcares redutores em Sistemas Aquosos Bifásicos**

Nas tabela 22 e 23 estão apresentados os valores para o coeficiente de partição da betalaína ( $K_p$ ), em sistemas aquosos bifásicos formados por PEG (1500/400)+Sulfato de sódio+água a 25°C.

**Tabela 22:** Coeficiente de partição da betalaína ( $K_p$ ), nos sistemas formados por PEG (1500 ou 400) + sulfato de sódio + água a 25°C.

L.A	pH	PEG 1500 + Sulfato de	PEG 400 + Sulfato de
		sódio	sódio
		$K_p$	$K_p$
1	3	3,82	2,24
2		3,91	3,33
3		4,56	3,96
1	4	3,97	2,98
2		4,24	3,41
3		4,65	3,45
1	5	4,88	4,08
2		5,67	4,23
3		8,44	5,87

**Tabela 23:** Coeficiente de partição ( $K_p$ ) do açúcar redutor, nos sistemas formados por PEG (1500 ou 400) + sulfato de sódio + água a 25°C.

L.A	pH	PEG 1500 + Sulfato de sódio	PEG 400 + Sulfato de sódio
		$K_p$	$K_p$
1	3	0,21	0,34
2		0,22	0,28
3		0,07	0,33
1	4	0,19	0,31
2		0,21	0,24
3		0,15	0,38
1	5	0,15	0,18
2		0,09	0,26
3		0,12	0,19

Os resultados indicaram que, para todos os sistemas testados, com diferentes valores de pH e concentrações de sal, houve a predominância da betalaína na fase superior (rica em polímero) e dos açúcares na fase inferior (rica em sulfato de sódio), como mostrado nas Tabelas 22 e 23. Mesmo comportamento foi descrito por Chandrasekhar et al., (2015) e Chethana et al., (2007) quando estudaram a partição

da betalaína e açúcares em sistemas formados por polímeros e sais. A afinidade das betalaínas presentes no extrato da casca do fruto de Mandacaru pela fase polimérica se deve a dois fatores. Primeiro fator influente é a facilidade das betalaínas em associar-se a compostos moléculares com características similares. A betalaína possui em sua estrutura compostos, como as carboxilas, que estão distribuídos na cadeia e, que proporcionam à betalaína uma certa afinidade com moléculas, como o  $\text{CH}_2$ , que é uma molécula característica da fase superior. Outro fator é a cavidade formada na fase superior pela influência do volume de exclusão, que interfere na partição da betalaína que mesmo sendo um composto hidrossolúvel e tenha ótima interação com moléculas de água, não é possível que estas interações sejam formadas, pois, as moléculas de sal, as quais possuem maior afinidade com a água ocupam a maioria dos sítios configuracionais livres para interação e, dessa forma, espaços vazios são formados na fase superior e ocupados pela betalaína.

Pode-se observar pelas tabelas 22 e 23, que à medida que se aumenta o pH, aumenta o coeficiente de partição. Com relação ao efeito do pH, CHAKRABORTY e SEN (2016) relatam que, íons com valências mais elevadas em soluções com um valor de pH próximos ao básico são mais eficientes na capacidade de hidratação. Devido a maior hidratação, a fase salina possuirá maior disponibilidade de interação com moléculas de água, por isso o volume de exclusão dos sistemas formados com pH 5 são maiores que os demais. Além disso, quanto mais moléculas de água estiverem ligadas aos íons, significa que as mesmas romperam suas ligações com a fase polimérica, formando então uma cavidade na fase superior a qual possivelmente foi ocupada pelas betalaínas e por isso o coeficiente de partição ( $K_p$ ) foi maior em maiores valores de pH, como mostrado nas tabelas 22 e 23. Em relação ao coeficiente de partição dos açúcares, não apresentou tendências com a variação do pH, percebeu-se apenas que essas moléculas, por terem menor peso molecular e por apresentam numerosos grupos funcionais OH que formam facilmente ligações de hidrogênio com a moléculas de água, migram para a fase inferior.

Em relação ao efeito comprimento da linha de amarração (CLA), o qual decresce à medida que a concentração de sal diminui, pode-se observar pela tabela 22 que quanto menor o (CLA) menor é o coeficiente de partição da betalaína. Segundo Duarte *et al.* (1998), pequenas concentrações salinas podem elevar a solubilidade de solutos pelo aumento da solvatação. Devido a esta maior solvatação, menor será a quantidade de betalaína disponível para interagir com a fase polimérica e, portanto, menor é a

concentração da mesma verificada na fase superior. Isso pode justificar as menores concentrações betalaína verificadas na fase superior e conseqüentemente menores coeficientes de partição em sistemas com menores concentrações salinas. Chethana et al., (2007), ao estudarem a partição de betalaína em sistemas aquosos bifásicos, formados por PEG (1500, 4000 e 6000) e sais de sulfato, observou que o coeficiente de partição diminuía ao diminuir a quantidade de sal presente no sistema.

O aumento da massa molar do PEG aumenta o coeficiente de partição da betalaína, por causa do aumento da hidrofobicidade da fase superior. Ou seja, quanto maior a massa molar do PEG, menor quantidade de água ficará disponível para solvatar as moléculas de betalaína como descrito acima. Este comportamento também foi observado por Chandrasekhar et al., (2015) e Chethana et al., (2007) .

## 6. CONCLUSÃO

Foram obtidos dados de equilíbrio de sistemas formado por PEG (400 ou 1500), sulfato de sódio e água, onde foi verificado que, a variável temperatura não apresentou grandes variações na região bifásica.

Os resultados mostraram, também, que maiores valores de pH e massa molar do polímero favorecem a formação das duas fases, com aumento da região bifásica.

Em relação às linhas de amarração, para sistemas formados por PEG 400 e 1500 não foi observado um comportamento significativo ao avaliar o efeito da temperatura e pH. No entanto, o comprimento e a inclinação da linha de amarração (CLA e ILA) aumentam quando a composição global e massa molar do polímero é maior.

Analisando as propriedades termofísicas, notou-se que a fase inferior apresenta maior densidade e a densidade diminui com o aumento da temperatura e não sofre variação significativa com a variação do pH.

O modelo UNIFAC apresentou excelentes resultados, com baixos desvios entre as composições experimentais e calculadas.

Os valores de volume de exclusão se ajustaram bem aos valores obtidos no coeficiente de partição da betalaína.

A partição da betalaína na temperatura de 25 °C foi maior para o sistema de PEG 1500, pH 5,0 e linha de amarração 3, em razão da maior capacidade de hidratação dos íons e do aumento da hidrofobicidade quando houve o aumento da massa molar do polímero.

Dessa forma, pode-se concluir que os sistemas aquosos bifásicos podem ser utilizados como um método de separação para as betalaínas presentes no extrato da casca do Fruto de Mandacaru.

## 7. REFERÊNCIAS

AGRAWAL, A. **Scope of betalains as a food colorant.** *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*. 3 (3), p 22-36, 2013.

ALBERTSSON, P. A. **Partition of cell particles and macromolecule.** New York: John Wiley and Sons, 1971.

ALBERTSSON, P.A. **Partition of cell and macromolecules.** New York: John Wiley, 1986

ALBERTSSON, P-Ä. **Partition of Cell Particles and Macromolecules.** Stockolm: Almquist & Wiksells, 231 p. 1960

ALCÂNTARA, L. A. P.; AMARAL, I. V.; BONOMO, R. C. F.; DA SILVA, L. H. M.; DA SILVA, M. C. H.; MINIM, V. P. R.; MINIM, L. A. **Partitioning of  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin from cheese whey in aqueous two-phase systems containing poly (ethylen glycol) and sodium polyacrylate.** *Food and Bioproducts Processing*. v. 92, p. 409-415, 2014.

ALMEIDA, M.M.; OLIVEIRA, A.S.; AMORIM, B.C.; FREIRE, R.M.M.; OLIVEIRA, L.S.C.; SILVA, F.L.H.; **Características físicas e físico-químicas do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* P.DC.).** In: I Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita de Frutos Tropicais, 2005, João Pessoa. João Pessoa: Hotel Ouro Branco, 2005, p.1-6.

Alves, Kelly Cristina Nascimento **Modelagem termodinâmica de sistemas aquosos bifásicos contendo sais e polímeros / K.C.N. Alves.** -- Edição revisada -- São Paulo, 2008. 118 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química)

AMARESH, S. P.; SHREELA, M.; REGUPATHI, I.; MURUGESAN, T. **Liquid- Liquid Equilibrium of Poly (ethylene glycol) 4000 + diAmmonium Hydrogen Phosphate + Water at different temperatures.** *Journal of Chemical & Engineering Data*, v.53, p.1574–1578, 2008.

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

AWAD, M. *Fisiologia pós-colheita de frutos.* São Paulo: Nobel, 1993.

AYRANCI, E.; SAHIN, M. **Interactions of polyethylene glycols with water studied by measurements of density and sound velocity,** *Journal of Chemical Thermodynamics*. v.40, p.1200–1207, 2008.

AZEVEDO, A. M.; GOMES, A.G.; ROSA, P.A.J.; FERREIRA, I.F.; PISCO, A.M.M.O; AIRES-BARROS, M.R. **Partitioning of human antibodies in polyethylene glycol–sodium citrate aqueous two-phase systems**, Separation and Purification Technology, v.65, p.14–21, 2009

BAHADUR, I.; GOVENDER, B. B.; OSMAN, K.; OSMAN, K.; WILLIAMS-WYNN, M. D.; NELSON, W. M.; NAIDOO, P.; RAMJUGERNATH, D. **Measurement of activity coefficients at infinite dilution of organic solutes in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium 2-(2-methoxyethoxy) ethylsulfate at T = (308.15, 313.15, 323.15 and 333.15) K using gas + liquid chromatography**. Journal of Chemical Thermodynamics, v. 70, p. 245-252, 2014.

BAHIA, E.V. A.; MORAIS, L.R.V.; SILVA, M.P.; LIMA, O.V.; SANTOS, S.F.; **Estudo das características físico-químicas do fruto do Mandacaru (*cereus jamacaru*. P.DC.) cultivado no sertão pernambubano**. Instituto Federam do Sertão, 2010.

BARBOSA, ADA A. ; Bonomo, Renata C. F. ; MARTINS, CRISTIANE V. ; FONTAN, RAFAEL C. I. ; JÚNIOR, EVALDO C. SOUZA ; Minim, Luis A. ; PIGNATA, MICHELLE C. . **Equilibrium Data and Physical Properties of Aqueous Two Phase Systems Formed by PEG (1500 and 4000) g·mol<sup>-1</sup> + Sodium Sulfate + Water at Different Temperatures and pH 2**. Journal of Chemical and Engineering Data , v. 61, p. 3-11, 2016.

BARBOSA, Addson; **Dicionário de Química, 2º Ed.; AB – Editora, Goiânia, 2000**

BASKIR, J.N.; HATTON, T. A.; SUTTER, U.W. **Protein partitioning in two-phase aqueous polymer systems**, Biotechnology and Bioengineering, v. 34, p. 541-558, 1989.

BEGUM, S. K.; RATNA, S. A.; CLARKE, R. J.; AHMED, M. S. **Excess molar volumes, refractive indices and transport properties of aqueous solutions of poly(ethylene glycol)s at (303.15–323.15) K**. Journal of Molecular Liquids, v.202, p.176–188, 2015.

**BONDI, A. Physical Properties of Molecular Crystals, Liquids and Glasses. Wiley, New York, 1968**

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 2. ed. Fortaleza: ESAM, 1960.

CAI, Y; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant Activity of betalains from Plants of the Amaranthaceae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.8, p.2288-2294, 2003.

CARVALHO, C. C.; COIMBRA, J. S. R.; COSTA, I. A. F.; MINIM, L. H.; MAFFIA, M. C. **Equilibrium Data for PEG 4000 + Salt + Water Systems from (278.15 to 318.15)** Journal of Chemical & Engineering Data, v. 52, p. 351-356, 2007.

CHAIWUT, P.; RAWDKUEN, S.; BENJAKUL, S. **Extraction of protease from calotropis procera latex by polyethylene glycol-salts biphasic system.** Process Biochemistry, v. 45, p. 1148-1155, 2010.

CHAKRABORTY, A.; SEN, K. **Impact of pH and temperature on the phase diagrams of different aqueous two-phase systems.** Journal of Chromatography, v. 1433, p. 41-55, 2016

**CHANDRASEKHAR, J; SONIKA, G; MADHUSUDHAN, M.C; RAGHAVARAO, K.S.M.S.** Differential partitioning of betacyanins and betaxanthins employing aqueous two phase extraction, **Journal of food Engineering**, v, **144**, pages **156-163**, **2015**.

Chethana, S; Chetan, A; Nayak, K.S.M.S. Raghavarao. **Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains.** Journal of Food Engineering. Volume 81, Issue 4, August 2007, Pages 679–687.

COIMBRA, J.S. R.; TEIXEIRA, J. **Engineering Aspects of Milk and Dairy Products.** Boca-Raton, CRC Press, 2009.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do CEEPA**, v.20, n.2, p.203-220, 2002.

COSTA, A. R.; COIMBRA, J. S. R.; FERREIRA, L. A.; MARCOS, J. C.; SANTOS, I. J. B.; SALDANA, M.; TEIXEIRA, J. A. C. **The partitioning of bovine lactoferrin in the aqueous two-phase system containing poly (ethylene glycol) and sodium citrate.** **Food and Bioproducts Processing**. v. 95, p. 118-124, 2015.

COSTA, B. S.; GARCIA-ROJAS, E. E.; COIMBRA, J. S. R.; TEIXEIRA, J. A.; TELIS-ROMERO, J. **Density, Refractive Index, Apparent Specific Volume, and Electrical Conductivity of Aqueous Solution of Poly(ethylene glycol) 1500 at Different Temperaturas.** Journal Chemical & Engineering Data, v. 59, p. 339-345, 2014.

COSTA, B. S.; GARCIA-ROJAS, E. E.; COIMBRA, J. S. R.; TEIXEIRA, J. A.; TELISROMERO, J. **Density, Refractive Index, Apparent Specific Volume, and Electrical Conductivity of Aqueous Solution of Poly(ethylene glycol) 1500 at**

**Diffetent Temperaturas.** Journal Chemical and Engineering Data, v. 59, p. 339-345, 2014

Cunha, Evelyn Vilma Caravazi **Equilíbrio líquido-líquido em sistemas aquosos bifásicos água + PEG 8000 + sal: determinação experimental e modelagem termodinâmica** / Evelyn Vilma Caravazi Cunha. --Campinas, SP: [s.n.], 2008.Dissertação de Mestrado -Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

DA SILVA, L.H.M.; LOH, W. Sistemas Aquosos Bifasicos: **Fundamentos e aplicações para partição/purificação de proteínas.** Química Nova, v. 29, p. 1345-1351, 2006.

DALLORA, N.L.P.; KLEMZ, J.G.D.; PESSÔA FILHO, P.D.A. **Partitioning of model proteins in aqueous two-phase systems containing polyethylene glycol and ammonium carbamate,** Biochemical Engineering Journal, v. 34 , n. 92–97, 2007.

DASILVA,D.V.T;Fabricio de Oliveira Silva;Daniel Perrone;Anna Paola Trindade Rocha Pierucci;Carlos Adam Conte-Junior ; Thiago da Silveira Alvares; Eduardo Mere Del Aguila; Vania Margaret Flosi Paschoalin. **PHYSICOCHEMICAL, NUTRITIONAL, AND SENSORY ANALYSES OF A NITRATE-ENRICHED BEETROOT GEL AND ITS EFFECTS ON PLASMATIC NITRIC OXIDE AND BLOOD PRESSURE.** Food & Nutrition Research 2016, 60, 2016

DIAMOND, A. D.; HSU, J. T. **Aqueous Two Phase Systems for Biomolecule Separation.** Advances in Biochemical Engineering, Fiechter, A. (ed.) Springer-Verlag, Berlin, v.47, p.89- 135, 1992.

DING, P. et al. Interfacial Tension in Phase-Separated Gelatin/Dextran Aqueous Mixtures. Journal Colloid Interface Science, v.253, p.367-372, 2002.

DOS SANTOS, F. S; DE FIGUEIREDO, R.M.F; QUEIROZ, A.J.M; SANTIAGO, V.M.S. **Concentração de betalainas na casca da Pitaya vermelha.** Congresso técnico científico da Engenharia e da Agronomia, CONTECC' 2015.

DREYER, S.; SALIM, P.; KRAGL. U. **Driving forces of protein partitioning in an ionic liquidbased aqueous two-phase system.** Biochemical Engineering Journal, v.46, p.176-185, 2009.

FERREIRA, G. B.; EVANGELISTA, A. F.; JUNIO, J. B.S.; SOUZA, R. R.; CURVELO SANTANA, J. C.; TAMBOURGI, E. B.; JORDÃO, E. **Partitioning Optimization of Proteins from Zea mays Malt in ATPS PEG 6000/CaCl<sub>2</sub>.** Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 50, n. 3, p. 557-564, 2007

FERRREIRA, L. A.; TEIXEIRA, J. A. **Salt effect on the aqueous two-phase system PEG 8000 – Sodium Sulfate**. J. Chem. Eng. Data, 56, p. 133-137, 2011

FICKE, L. E.; NOVARK, R. R.; BRENNECKE, J. F. **Thermodynamic and Thermo-physical Properties of Ionic Liquid + Water Systems**. Journal of Chemical & Engineering Data, v.55, n. 11, 4946-4950, 2010.

FRANÇA, J. M. P.; NIETO DE CASTRO, C. A.; LOPES, M. M.; NUNES, V. M. B. **Influence of Thermo-physical Properties of Ionic Liquids in Chemical Process Design**. Journal of Chemical & Engineering Data, v.54, n.9, p.2569–2575, 2009.

FREIRE, M. G.; PEREIRA, J. F. B.; FRANCISCO, M.; RODRÍGUEZ, H.; REBELO, L. P. N.; ROGERS, R. D.; COUTINHO, A. P. **Insight into the interactions that control the phase behaviour of new aqueous biphasic systems composed of polyethylene glycol polymers and liquid ionic**. Chemistry A European Journal, v. 18, p. 1831-1839, 2012

G. Tubio, L. Pellegrini, B.B. Nerli, G.A. Pico **Liquid–liquid equilibria of aqueous two-phase systems containing poly(ethylene glycols) of different molecular weight and sodium citrate**J. Chem. Eng. Data., 51 (2006), p. 209

GANDÍA-HERRERO, F.; GARCÍA- CARMONA, F.; ESCRIBANO, J. **A novel method using high – performace liquid chromatography with fluorescence detection for the determination of betaxanthins**. **Journal of Chomatography A**, v.17, n.1-2, p.83-89, 2005.

GARZA-MADRID, M.; RITO-PALOMARES, M.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; BENAVIDES, J. **Potential of aqueous two-phase system constructed on flexible devices: human sérum albumin as proof of concept**. Process Biochemistry, v. 45, p. 1082-1087, 2010.

GOMES, G.A.; AZEVEDO, A.M.; AIRES-BARROS, M.R.; PRAZERES, D.M.F. **Purification of plasmid DNA with aqueous two-phase systems of PEG 600 and sodium citrate/ammonium sulfate**, Separation and Purification Technology, v. 65, p.22–30, 2009.

GONÇALVES, L. C. P.; **Betalaínas: semissíntese, capacidade antirradicalar e aplicação como sondas em sistemas biológicos** - Tese apresentada ao Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do ABC para obtenção do Título de Doutor em Ciência e Tecnologia – Química 2012

GRABER, T. A. G.; HECTOR, R. C.; CAROL, C.; MARIA, E. T. **Density, refractive index, viscosity, and electrical conductivity in the Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>+ POly( ethylene**

**glycol)+ H<sub>2</sub>O system from (29315 to 308,15 K)** J. Chem. Eng. Data, v. 49, p. 1254-1257, 2004.

GRABER, T. A.; MARIA, E. T.; ASENJO, J. A.; ANDREWS, B. A. **Influence of Molecular Weight of the Polymer on the Liquid-Liquid Equilibrium of the Poly(ethylene glycol) + NaNO<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O System at 298.15 K.** Journal of Chemical & Engineering Data, v.46, p.765–768. 2002.

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

HAMZEHZADEH , S.; ZAFARANI-MOATTAR, M. T. **The phase separation in aqueous solutions of propylene glycol and sodium citrate: Effects of temperature and pH.** Fluid Phase Equilibria. v. 385, p. 37-47, 2015.

HAYYAN, A.; MJALLI, F. S.; ALNASHEF, I. M.; AL-WAHAIBI, Y. M.; T. AL-WAHAIBI, M.A.HASHIM. **Glucose-based deep eutectic solvents: Physical properties, Journal Molecular Liquids**, v. 178, p.137–141, 2013.

HUDDLESTON, J. G.; WILLAUER, H. D.; SWATLOSKI, R. P.; VISSER, A. E.; ROGERS, R. D. **Room temperature ionic liquids as novel media for 'clean' liquid-liquid extraction.** Chemical Communications, p.1765-1766, 1998.

HUSTED, H., CORNER K.H., KULA, M.R. **Partition in aqueous two-phase systems, Trends Biotech**, v. 3, p. 139-144, 1985.

JOHANSSON, H-O, ISHII, M., MINAGUTI, M., FEITOSA, E., PENNA, T.C.V., PESSOA JR., A. **Separation and partitioning of Green Fluorescent Protein from Escherichia coli homogenate in poly(ethylene glycol)/sodium-poly(acrylate) aqueous two-phase systems.** Sep. Pur. Technol., 62, 1, 166-174, 2008a.

K. Mishima, K. Nakatani, T. Nomiyama, K. Matsuyama, M. Nagatani, H. Nishikawa **Liquid–liquid equilibria of aqueous two phase systems containing polyethyleneglycol and dipotassium hydro-genphosphate** Fluid Phase Equilib., 107 (2001), p. 269.

KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. **Betalains, a new class of dietary cationized antioxidants.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.49, n.11, p.5178-5185, 2001

KAPADIA, G. J.; AZUINE, M. A.; SRIDHAR, R.; OKUDA, Y.; TSURUTA, A.; ICHIISHI, E.; MUKAINAKE, T.; TAKASAKI, M.; KOMOSHIMA, T.; NISHINO, H.; TOKUDA, H. **Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced**

**TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot.** *Pharmacological Research*, v.47, n.2, p.141-148, 2003.

KAREEM, M. A.; MJALLI, F. S.; HASHIM, M. A.; ALNASHEF, I. M. **Phosphonium-based ionic liquids analogues and their physical properties.** *Journal Chemical & Engineering Data*, v. 55, p.4632–4637, 2010.

KIRINČIČ, S. E KLOFUTAR, C. **A volumetric study of aqueous solutions of polyethylene glycol.sat 298.15 K.** *Fluid Phase Equilibria*, v.149, p.233–247, 1998.

Koul V. K., Jain M.P., Koul S., Sharma V.K., Tikoo C.L., Jain S.M. **Spray drying of beet root juice using different carriers.** *Indian journal of chemical technology*, 9 (5), 442-445, 2002.

LEMOS; L.R.; SANTS, I. J. B.; RODRIGUES, G. D.; FERREIRA, G. M. D.; DA SILVA, L. H. M.; DA SILVA, M. D. H.; CARVALHO, R. M.M. **Phase compositions of aqueous two-phase systems formed by L 35 and salts at different temperature,** *J. Chem. Eng. Data* 55, 1193-1199, 2011.

LERNADÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. C. **“Green chemistry”- Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa.** *Química nova*, 26, p. 123-129, 2003.

LIMA, E. E. et al. **Estudo das polpas do facheiro em função da parte do ramo.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 34., 2005, Canoas. Anais... Canoas: SBEA, 2005. p. 34. CD-ROM.

LOUROS, C. L. S. et al. **Extraction of Biomolecules Using Phosphonium-Based Ionic Liquids + K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> Aqueous Biphasic Systems.** *International Journal of Molecular Sciences*, v.11, n.4, p.1777-1791, 2010.

LOUROS, C. L. S.; CLÁUDIO, A. F. M.; NEVES, C. M. S. S.; MARRUCHO, M. G. F.; ISABEL, M.; PAULY, J.; COUTINHO, J. A. P. **Extraction of biomolecules using phosphonium-based ionic liquids + K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> aqueous biphasic systems.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 11, p. 1777-1791, 2010.

MAGESTE, A. B.; DE LEMOS, L. R.; DA SILVA, M. C. H.; FERREIRA, G. M. D.; 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. Chromatography A* 1216, p. 7623-7629.2009

Magnussen, T. **UNIFAC Parameter Table for Prediction of Liquid-Liquid Equilibria,** *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 1981, 20, 331-339

MARTINS, J. P.; COIMBRA, J. S. R.; OLIVEIRA, F. C.; SANAIOTTI, G.; DA SILVA, C. A. S.; SILVA, L. H. M.; SILVA, M. C. **Liquid-liquid equilibrium of aqueous two-phase system composed of poly(ethylene glycol) 400 and sulfate salts.** Journal Chemical & Engineering Data, v. 55, p.1247–1251, 2010.

MILLER G. L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.** Analytical Chemistry, v. 31, p. 426, 1959.

MORÁVKOVÁ, L., WAGNER, Z., SEDLÁKOVÁ Z., LINEK J. **Volumetric behaviour of binary and ternary liquid systems composed of ethanol, isooctane, and toluene at temperatures from (298.15 to 328.15) K.** Experimental data and correlation. Journal of Chemical Thermodynamics, v. 43, p. 1906–1916, 2011.

MUHAMMAD, N.; MAN, Z.; ZIYADA, A. K.; BUSTAM, M. A.; MUTALIB, M. I. ABDUL, WILFRED, C. D.; RAFIQ, S.; MOHDTAN, I. **Thermo-physical Properties of Dual Functionalized Imidazolium- Based Ionic Liquids** Journal Chemical & Engineering Data, 57, 737-743, 2012.

MURRAY, J. N.; JENKINS, A. D. **Properties of liquids and solutions**, 2 ed. New York: J. Wiley, 303, 1994.

NASCIMENTO, R.G. ; NUNES, A. L. V. ; NOGUEIRA, L. S. ; SANTOS, L. S. ; BONOMO, R. C. F. . **Partição da betalaína da casca do fruto do mandacaru (Cereus jamacaru) em sistemas aquosos bifásicos.** Revista de Química Industrial , v. 747, p. 77-81, 2015.

NINNI, L., CAMARGO, M.S., MEIRELLES, A.J.A., **Water Activity in Poly(Ethylene Glicol) Aqueous Solutions.** Thermochemica Acta, v.1-2, p.169-176, 1999.

OLIVEIRA, F. C.; COIMBRA, J. S. R.; SILVA, L. H. M.; ROJAS, E. E. G.; SILVA, M. C. H. **Ovomucoid partitioning in aqueous two-phase systems.** Biochemical Engineering Journal. v. 47, p. 55–60, 2009.

OLIVEIRA, R. M. **Equilíbrio de fases de sistemas aquosos bifásicos compostos por polietilenoglicol, sulfato de zinco, sulfato de cobre e citrato de sódio sob diferentes temperaturas.** Dissertação de Mestrado, UFV; Viçosa; 2006.

PADILHA, G. S; FERREIRA, J. F; ALEGRE, R. M; TAMBOURGI, E. B. **Efeito do pH e massa molar do polímero sobre o sistema bifásico aquoso PEG/fosfato.** São Paulo – SP: UNICAMP, v.33, n. 1, p. 1-4, 2011.

PASSOS, H.; TRINDADE, M. P.; VAZ, T. S. M. DA COSTA, L. P.; FREIRE, M. G. F.; COUTINHO, J. A. P. **The impact of self-aggregation on the extraction of biomolecules in ionic liquid-based aqueous two-phase systems.** Separation and Purification Technology, v. 108, p. 174-180, 2013.

PATRICIO, P.R; MAGESTE, A.B; DA SILVA, L.H; DA SILVA, M.C; **Extração e purificação de antocianinas utilizando sistemas aquosos bifásicos.** In: 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

PEI, Y. C.; EANG, J.; WU, K.; XUAN, X.; LU, X. **Ionic liquid-based aqueous two-phase extraction of selected proteins.** Separation and Purification Technology, n. 64, p. 288–295, 2009.

PIMENTEL, J. G; S. F. BICALHO<sup>2</sup>, O. R. R. GANDOLFI<sup>1</sup>, R. C. F. BONOMO<sup>3</sup>, R. C. I. FONTAN<sup>3</sup>, L. B. RODRIGUES. **OBTENÇÃO DE DADOS DE EQUILÍBRIO DE SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS FORMADOS POR ÁLCOOL E SAIS PARA EXTRAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS.** Congresso Brasileiro de Sistemas articulados enemp2015/PS-755.

PINKERT, A.; ANG, K. L.; MARSH, K.N.; PANG, S. **Density, viscosity and electrical conductivity of protic alkanolammonium ionic liquids,** Physical Chemistry Chemical Physics, v.13, p.5136– 5143, 2011

PLECHKOVA, N. V.; SEDDON, K. R. **Applications of ionic liquids in the chemical industry.** Chemical Society Reviews, v.37, p.123–150, 2008.

REGUPATHI, I.; SHREELA, M.; GOVINDARAJAN, R.; AMARESH, S. P.; MURUGESAN, T. **Liquid-Liquid Equilibrium of Poly(ethylene glycol) 6000 + Triammonium Citrate + Water Systems at Different Temperatures.** Journal Chemical & Engineering Data, v.54, p.1094– 1097, 2009.

REIS, I.A.O.; SANTOS, S.B.; PEREIRA, F.D.S.; SOBRAL, C.R.S.; FREIRE, M.G.; FREITAS, L.S.; SOARES, C.M.F.; LIMA, A.S. **Extraction and recovery of rutin from acerola waste using alcohol-sal-based aqueous two-phase systems.** Separation Science and Technology - In press. 2014

RENGIFO, A. F. C; FERREIRA, G. M. D; FERREIRA, G. M. D; SILVA, M. C. H; SILVA, L. H. M. **Phase diagrams, densities and refractive indexes of poly(ethylene oxide) + organic salts + water aqueous two-phase systems: Effect of temperature, anion and molar mass.** Fluid Phase Equilibria, v. 406, p. 70–76, 2015.

ROBERTS, M. J.; BENTLY, M.D.; HARRIS, J.M. **Chemistry for peptide and protein PEGylation, Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p.459–476, 2002.

ROBERTS, M. J.; BENTLY, M.D.; HARRIS, J.M. **Chemistry for peptide and protein PEGylation, Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p.459–476, 2002.

ROCHA, E. A.; AGRA, M. F. **Flora do Pico do Jabre, Brasil: Cactaceae juss.** Acta Botânica Brasileira, n.16, p.15-21, 2002.

RODRIGUES, A. M. C.; DA SILVA, L. H. M. Measurements and Modeling of Liquid–Liquid **Equilibrium of Polyethylene Glycol 400, Sodium Phosphate, or Sodium Citrate Aqueous TwoPhase Systems at (298.2, 308.2, and 318.2) K.** Journal Chemical & Engineering Data, v. 58, p.2008-2017, 2013.

SALABAT, A. **The influence of salts on the phase composition in aqueous two-phase systems: experiments and predictions.** Fluid Phase Equilibria, v. 187-188, p. 489, 2001.

SAMPAIO, D.A; MAFRA, L.I; YAMAMOTO, C.I; ANDRADE, E.F; SOUZA, M.O; MAFRA, M.R; CASTILHOS, F. **Aqueous two-phase (polyethylene glycol + sodium sulfate) system for caffeine extraction: Equilibrium diagrams and partitioning study.** The Journal of Chemical Thermodynamics, v 98, p 86–94, 2016.

SAMPAIO, V. S.; BONOMO, R. C. F.; FILHO, E. S. M.; MINIM, V. P. R.; MINIM, L. A. **Physical Properties and Liquid–Liquid Equilibrium of Aqueous Two-Phase Systems 74 Containing Poly(ethylene glycol) + Potassium Chloride + Sodium Polyacrylate.** Journal of Chemical and Engineering Data, v. 57, p.3651-3657, 2012.

SANTOS, I. J. B.; CARVALHO, R. M. M.; DA SILVA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M. **Phase Diagram, Densities, and the Refractive Index of New Aqueous Two-Phase System Formed by PEO1500 + Thiosulfate + H<sub>2</sub>O at Different Temperatures.** J. Chem. Eng.Data, 57, p. 274–279. 2012

SCHERER, R. K.; CASSINI, A. S. **Clarificação de Extrato Rico em Betalaínas Proveniente de Talos de Beterraba Através de Microfiltração.** XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS Ano 2015

Schwartz, S. J.; Von Elbe, J. H.; Pariza, M. W.; Goldsworthy, T.; Pilot, H. C., **Food Chem. Toxicol.** 1983, 21, 531; (b) Herbach, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R., J. Food Sci. 2012, 71, R41)

Sediyama, M. A. N.; Santos, M. R.; Vidigal, S. M.; Santos, I. C.; Salgado, L. **T.Ocorrência de plantas daninhas no cultivo de beterraba com cobertura morta e adubação orgânica**. *Planta Daninha*, v.28, p.717-725, 2010

SEKI, S.; HAYAMIZU, K.; TSUZUKI, S.; FUJII, K.; UMEBAYASHI, Y.; MITSUGI, T.; KOBAYASHI, T.; OHNO, Y.; KOBAYASHI, Y.; MITA, Y.; MIYASHIRO, H.; ISHIGURO, S. **Relationships between center atom species (N, P) and ionic conductivity, viscosity, density, selfdiffusion coeficiente of quaternary cation room-temperature ionic liquids**, *Physical Chemistry Chemical Physsics*, v.11, p.3509–3514, 2009

SHAHRIARI, S.; TAGHIKHANI, V.; VOSSOUGH, M.; SAFE KORDI, A. A.; ALEMZADEH, I.; PAZUKI, G. R. **Measurement of partition coefficients of  $\beta$ -amylase and amyloglucosidase enzymes in aqueous two-phase systems containing poly (ethylene glycol) and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> at different temperatures**. *Fluid Phase Equilibria*, v. 292, p. 80-86, 2010.

SIANGCO, K. R.; LERON, R. B.; LI, M-H. **Densities, refractive indices, and viscosities of N,N-diethylethanol ammonium chloride–glycerol or –ethylene glycol deep eutectic solvents and their aqueous solutions**. *Journal of Chemical Thermodynamics*, v.65, p.65–72, 2013.

SILVA, C. A. S. **Partição do glicomacropéptido usando sistemas aquosos bifásicos**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 57 p., 2007.

SILVA, L. R; ALVES, R. E. Avaliação da composição físico-química de frutos de mandacaru (*Cereus jamacaru* P.). **Acta Agronômica**, v. 58, n. 4, p. 245-250,2009.

SIANGCO, K. R.; LERON, R. B.; LI, M-H. **Densities, refractive indices, and viscosities of N,N-diethylethanol ammonium chloride–glycerol or –ethylene glycol deep eutectic solvents and their aqueous solutions**. *Journal of Chemical Thermodynamics*, v. 65, p.65–72, 2013.

SONIYA, M. E MUTHURAMAN G. **Comparative study between liquid-liquid extraction and bulk liquid membrane for the removal and recovery of methylene blue from waste water**. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 30, p. 266-273, 2015.

SOUZA, R. C. S.; COIMBRA, J. S. R.; DA SILVA, L. H. M.; AS SILVA, M. C. H.; ROJAS, E. E. G.; VICENTE, A. A. A. **Thermodynamic studies of partitioning**

**behavior of lysosyme and conalbumin in aqueous two-phase systems.** Journal of Chromatography B, v. 877, p. 2579- 2584, 2009

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalains – emerging prospects for food scientists. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, n.10, p.514-525, 2007.

STINTZING, F. C.; TRICHTERBORN, J.; CARLE, R. Characterisation of anthocyanin-betalain mixtures for food colouring by chromatographic and HPLC-DADMS analyses. **Analytical, Nutritional and Clinical Methods**, v. 94, p. 296-309, 2006.

Tomé, J.M.M. Araújo, L.P.N. Rebelo, J.A.P. Coutinho, I.M. Marrucho, M.G. Freire, **Aqueous biphasic systems: a benign route using cholinium based ionic liquids**, RSC Adv. 3 (2013) 1835-1843.

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

TUBIÒ, G.; PELLEGRINI, L.; NERLI, B. B.; PICO, G. A. **Liquid-Liquid Equilibria of Aqueous Two-Phase Systems Containing Poly(ethylene glycols) of Different Molecular Weight and Sodium Citrate** J. Chem. Eng. Data, 51, p. 209-212, 2006

VAIDYA, B. K.; SUTHAR, H. K.; KASTURE, S.; NENE, S. **Purification of potato polyphenol oxidase (PPO) by partitioning in aqueous two-phase system**, Biochemical Engineering Journal, v.28, p. 161–166, 2006.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.20, n.1, p.157-166, 2009.

WALTER, H.; BROOKS, D. E.; FISHER, D. **Partition in Aqueous Two-Phase Systems. Theory, Methods, Uses and Applications to Biotechnology**. Orlando, FL: Academic, 1985.

Wang, J. Han, X. Xu, S. Hu, Y. Yan, **Partition behavior and partition mechanism of antibiotics in ethanol/2-propanol–ammonium sulfate aqueous two-phase systems**. Sep. Purif. Technol. 75 (2011) 352-357.

**WEAST, R. C., Handbook of Chemistry and Physics, 53 rd. The chemical Rubber Company, Cleveland , 1973.**

WILLAUER, H. D.; HUDDLESTON, J. G.; LI, M.; ROERS, R. D. **Investigation of aqueous biphasic systems for the separation of lignins from cellulose in the paper pulping process**. Journal of Chromatography B, n. 743, p. 127 – 135, 2000.

YUE, H.; YUAN, Q.; WANG, W. **Purification of phenylalanine ammonia-lyase in PEG1000/Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aqueous two-phase system by a two-step extraction.** Biochemical Engineering Journal, v. 37, p.231–237, 2007.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; HAMZEHZEDH, S. **Partitioning of amino acids in the aqueous biphasic system containing the water-miscible ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium bromide and the water-structuring salt potassium citrate.** Biotechnology Progress, n. 27, p. 986–997, 2011.

ZASLAVSKY, B.Y. **Aqueous Two-Phase Partitioning, Physical chemistry and bioanalytical applications.** New York: Marcel Decker, 696 p., 1995.

ZHANG, D. L.; DENG, Y. F.; CHEN, J. **Enrichment of aromatic compounds in water using ionic liquids and their aqueous solutions.** Separation Science and Technology, n. 45, p. 663- 669, 2010.

ZHOU, Q., SONG, Y., YU, Y., HE , H., ZHANG, S. **Density and Excess Molar Volume for Binary Mixtures of Naphthenic Acid Ionic Liquids and Ethanol.** Journal of Chemical and Engineering Data, v, 55, p. 1105–1108, 2010

## ANEXOS

### Anexo 1. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij e Tji) referentes ao sistema PEG 400, pH 3 e T=20°C.

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,011098681	Parâmetro estimado
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-1005,8</b>	<b>-967,86</b>	30,962119	27,20161783	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>585,88</b>	<b>-2203,7</b>	0,1353907	1846,70899	Parâmetro estimado
ETIL	SO4	<b>980,67</b>	<b>-1970</b>	0,0351899	831,7646166	Parâmetro estimado
ETIL	NA	<b>1254,3</b>	<b>1015,1</b>	0,0138304	0,031288486	Parâmetro estimado
ETIL	H2O	<b>412,07</b>	<b>-1235,1</b>	0,2450281	67,71842922	Parâmetro estimado
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,85494012	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068947997	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926461996	Yan et al., 1999

### Anexo 2. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij e Tji) referentes ao sistema PEG 400, pH 3 e T=30°C.

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,011098681	Parâmetro estimado
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-1380,7</b>	<b>-1101,3</b>	111,30639	42,89276105	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>444,88</b>	<b>-2994,2</b>	0,2190705	27422,32188	Parâmetro estimado
ETIL	SO4	<b>937,21</b>	<b>-2794,3</b>	0,0408165	13861,35551	Parâmetro estimado
ETIL	NA	<b>1053,1</b>	<b>601,5</b>	0,0274827	0,128361982	Parâmetro estimado
ETIL	H2O	<b>309,24</b>	<b>-1905</b>	0,3480439	666,2776561	Parâmetro estimado
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,85494012	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068947997	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926461996	Yan et al., 1999

**Anexo 3. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 400, pH 3 e T=35°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,01109868	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-1185,8</b>	<b>-1593,4</b>	57,231187	230,03357	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>291,65</b>	<b>-2857,8</b>	0,3695784	17215,8133	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>698,18</b>	<b>-2598,9</b>	0,0922856	7115,03813	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>832,8</b>	<b>656,05</b>	0,0582902	0,10655665	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>373,38</b>	<b>-1910,9</b>	0,279617	679,830161	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549401	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 4. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 400, pH 4 e T=20°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,01109868	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-112,77</b>	<b>-980,5</b>	1,4694388	28,4007735	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>542,67</b>	<b>-2211,4</b>	0,1569048	1895,88357	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>1142</b>	<b>-1974,2</b>	0,0202903	843,773386	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>1346,8</b>	<b>667,19</b>	0,0100862	0,10258137	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>426,49</b>	<b>-1380,1</b>	0,233261	111,078694	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549401	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 5. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 400, pH 4 e T=30°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,01109868	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-889,41</b>	<b>-1252,5</b>	20,811985	71,8617423	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>491,95</b>	<b>-2909</b>	0,1865585	20503,0236	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>1070,8</b>	<b>-2664,7</b>	0,0258716	8906,52336	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>1048,7</b>	<b>656,68</b>	0,0278985	0,10632778	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>315,73</b>	<b>-1952,9</b>	0,3404194	784,610733	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549401	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 6. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 400, pH 4 e T=35°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,01109868	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-1164,1</b>	<b>-1241,3</b>	53,145718	69,1666473	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>599,49</b>	<b>-2800,4</b>	0,1292456	14152,9616	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>806,7</b>	<b>-2528,6</b>	0,0637209	5597,26928	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>1179</b>	<b>619,8</b>	0,0178832	0,12059007	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>344,43</b>	<b>-1911</b>	0,3086557	680,062224	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549401	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 7. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 400, pH 5 e T=20°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,011098681	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-153,81</b>	<b>-1058,3</b>	1,6903723	37,03803629	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>504,45</b>	<b>-2720,8</b>	0,1787669	10786,0275	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>1142,7</b>	<b>-2494,6</b>	0,0202419	4984,025486	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>1087,3</b>	<b>622,56</b>	0,024455	0,119459467	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>291,66</b>	<b>-1759,9</b>	0,3695657	406,0533852	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,85494012	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068947997	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926461996	Yan et al., 1999

**Anexo 8. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 400, pH 5 e T=30°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-524,46	-3,234	5,9892481	1,01109868	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-292,89</b>	<b>-958,02</b>	2,7172615	26,3032586	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>591,06</b>	<b>-2672,2</b>	0,1330182	9137,44896	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>989,9</b>	<b>-2417,1</b>	0,0340986	3825,66679	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>992,67</b>	<b>512,88</b>	0,0337778	0,17369686	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>498,23</b>	<b>-1782,8</b>	0,1826025	439,062441	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549401	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 9. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 400, pH 5 e T=35°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	<b>-436,14</b>	<b>-3,0463</b>	4,4305885	1,010451164	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>282,35</b>	<b>475,07</b>	0,3814972	0,19762197	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>375,03</b>	<b>-2927,5</b>	0,2780468	21839,32618	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>1031,9</b>	<b>-2676</b>	0,0295449	9256,726932	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>1061,9</b>	<b>457,58</b>	0,0266696	0,209777783	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>519,34</b>	<b>-2062</b>	0,1699091	1138,586275	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,85494012	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068947997	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	-165	22,38	1,7561781	0,926461996	Yan et al., 1999

**Anexo 10. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 3 e T=20°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-502,86	-3,1886	5,563602	1,01094202	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2635,1</b>	<b>1822,2</b>	8050,7083	0,00199101	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-902,69</b>	<b>-2732,7</b>	21,776976	11233,1124	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1285,4</b>	<b>-1973,4</b>	80,40133	841,472711	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-807,42</b>	<b>-617,77</b>	15,732044	8,23530199	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>694,3</b>	<b>-1953</b>	0,0935158	784,878564	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	<b>-2297,9</b>	<b>-1132,9</b>	2546,9762	47,7774084	Cunha, 2008
OH	NA	<b>1441,5</b>	<b>514,78</b>	0,0073006	0,17257414	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 11. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 3 e T=30°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-561,63	-3,3697	6,7993427	1,01156707	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2297,3</b>	<b>905,5</b>	2541,7658	0,04548177	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-323,37</b>	<b>-2955,5</b>	3,0151569	24029,3365	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1190,7</b>	<b>-2348,9</b>	58,196343	3031,22937	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-699,84</b>	<b>-625,42</b>	10,897489	8,45315081	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>715,09</b>	<b>-2134,4</b>	0,0871103	1457,73864	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549401	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 12. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 3 e T=35°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	<b>-536,62</b>	<b>-3,3608</b>	6,2430421	1,01153634	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,32623525	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2569,3</b>	<b>905,15</b>	6431,3643	0,04553613	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,00322268	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-387,05</b>	<b>-2906,4</b>	3,7471283	20321,8903	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1194</b>	<b>-2235,2</b>	58,855502	2056,31113	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-732,1</b>	<b>-691,66</b>	12,165874	10,5974598	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>674,69</b>	<b>-2052,3</b>	0,0999889	1101,50958	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,8549401	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,03334	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,780962	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 13. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij e Tji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 4 e T=20°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-502,86	-3,1886	5,563602	1,010942	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,3262353	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2643,4</b>	<b>1704,3</b>	8282,0268	0,0029773	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,0032227	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,3106955	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-560,64</b>	<b>-2778,5</b>	6,7764075	13133,679	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1257,1</b>	<b>-2060</b>	72,99885	1130,8408	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-769,51</b>	<b>-627,77</b>	13,822725	8,5212217	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>744,19</b>	<b>-2011,1</b>	0,0788745	957,01831	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	<b>-2358,5</b>	<b>-1148</b>	3132,191	50,304208	Cunha, 2008
OH	NA	<b>1441,7</b>	<b>534,72</b>	0,0072956	0,1612204	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,0333	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,78096	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 14. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij e Tji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 4 e T=30°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-502,86	-3,1886	5,563602	1,010942025	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2499,8</b>	<b>1598,1</b>	5073,2688	0,004278015	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-806,3</b>	<b>-2861,9</b>	15,672023	17458,41056	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1226,9</b>	<b>-2108,4</b>	65,849512	1333,956259	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-669,34</b>	<b>-1746,9</b>	9,8201545	388,4311915	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>749,95</b>	<b>-2058,1</b>	0,077339	1123,531448	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	<b>-2373</b>	<b>-1171,4</b>	3291,0966	54,48645935	Cunha, 2008
OH	NA	<b>1203,5</b>	<b>454,4</b>	0,0164487	0,212066952	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926461996	Yan et al., 1999

**Anexo 15. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 4 e T=35°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	<b>-563,25</b>	<b>-3,4717</b>	6,8370404	1,011919281	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2529,1</b>	<b>978,89</b>	5606,8291	0,035404318	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-430,48</b>	<b>-2913,5</b>	4,3458224	20820,34696	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1150,1</b>	<b>-2236,4</b>	50,666046	2064,75015	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-746,33</b>	<b>-635,68</b>	12,771311	8,754398975	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>658,63</b>	<b>-2089,7</b>	0,1056225	1251,479726	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,85494012	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068947997	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926461996	Yan et al., 1999

**Anexo 16. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij eTji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 5 e T=20°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-502,86	-3,1886	5,563602	1,010942025	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2484,2</b>	<b>1579,7</b>	4810,2209	0,004555283	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-883,22</b>	<b>-2895,3</b>	20,376917	19566,41717	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1247,5</b>	<b>-2007,7</b>	70,645837	945,9771648	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-773,4</b>	<b>-1800,5</b>	14,007466	466,4035258	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>613,57</b>	<b>-2089,8</b>	0,1231816	1251,906925	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	<b>-2318,7</b>	<b>-1153,2</b>	2734,3578	51,20494849	Cunha, 2008
OH	NA	<b>1049,4</b>	<b>470,95</b>	0,027832	0,200420447	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926461996	Yan et al., 1999

**Anexo 17. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij e Tji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 5 e T=30°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	-502,86	-3,1886	5,563602	1,010942025	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,326235254	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2346,4</b>	<b>1479,3</b>	3005,4757	0,006416994	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,003222678	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,31069549	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-881,8</b>	<b>-2802,2</b>	20,278401	14240,17573	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1253,4</b>	<b>-1873</b>	72,082817	597,3429879	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-744,06</b>	<b>-1723,3</b>	12,672749	358,3714312	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>685,16</b>	<b>-1984</b>	0,096479	872,4724329	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	<b>-2355,7</b>	<b>-1119,4</b>	3102,4014	45,62600393	Cunha, 2008
OH	NA	<b>1290,8</b>	<b>488,35</b>	0,0122105	0,188864859	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,518537105	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,033342	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,7809619	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926461996	Yan et al., 1999

**Anexo 18. Valores dos parâmetros de interação (Aij e Aji), encontrados na literatura e estimados e energias de interação (Tij e Tji) referentes ao sistema PEG 1500, pH 5 e T=35°C.**

Grupo i	Grupo j	Aij	Aji	Tij	Tji	Referências
CH2	ETIL	<b>-557,93</b>	<b>-4,1821</b>	6,7140205	1,0143757	<b>Parâmetro estimado</b>
CH2	OH	644,6	328,2	0,1108032	0,3262353	Magnussen, 1981
CH2	SO4	<b>-2233,3</b>	<b>618,32</b>	2043,0198	0,1212007	Parâmetro estimado
CH2	NA	1257,7	1681,1	0,0136708	0,0032227	Yan et al., 1999
CH2	H2O	1300	342,5	0,011833	0,3106955	Magnussen, 1981
ETIL	OH	<b>-497,17</b>	<b>-2845</b>	5,4566003	16479,914	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	SO4	<b>-1330,6</b>	<b>-2102,6</b>	93,812389	1307,8099	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	NA	<b>-726,53</b>	<b>-647,19</b>	11,936782	9,1051446	<b>Parâmetro estimado</b>
ETIL	H2O	<b>752,42</b>	<b>-2061,6</b>	0,0766898	1137,033	<b>Parâmetro estimado</b>
OH	SO4	-2292,6	-1107,8	2501,3188	43,85494	Cunha, 2008
OH	NA	1610,4	783,6	0,0041021	0,068948	Yan et al., 1999
OH	H2O	28,73	-122,4	0,9065994	1,5185371	Magnussen, 1981
SO4	NA	-1106,6	-2049,5	43,675697	1091,0333	Cunha, 2008
SO4	H2O	-416,13	-1903,9	4,1381089	663,78096	Cunha, 2008
NA	H2O	165	22,38	0,5694183	0,926462	Yan et al., 1999

**Anexo 19. Valores calculados do volume de exclusão dos sistemas formados por PEG (400/1500) + Sulfato de sódio + água a 20°C.**

<b>SAB's, T=20°C</b>	<b>V*<sub>213</sub></b>	<b>R<sup>2</sup></b>
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 3	1984.89	0.9885
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 4	2759.91	0.9855
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 5	2834.88	0.9949
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	415.26	0.9179
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 4	445.53	0.9307
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	498.29	0.9422

**Anexo 20. Valores calculados do volume de exclusão dos sistemas formados por PEG (400/1500) + Sulfato de sódio + água a 30°C.**

<b>SAB's</b>	<b>V*<sub>213</sub></b>	<b>R<sup>2</sup></b>
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 3	2359.77	0.9965
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 4	2678.98	0.9907
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 5	2798.22	0.9498
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	760.64	0.9456
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 4	769.43	0.9179
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	788.55	0.9307

**Anexo 21. Valores calculados do volume de exclusão dos sistemas formados por PEG (400/1500) + Sulfato de sódio + água a 35°C.**

<b>SAB's</b>	<b>V*<sub>213</sub></b>	<b>R<sup>2</sup></b>
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 3	2380.14	0.9882
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 4	2544.66	0.9965
PEG (1500) + Sulfato de sódio + água, pH 5	2800.02	0.9907
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	781.62	0.9498
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 4	769.43	0.9024
PEG (400) + Sulfato de sódio + água, pH 3	788.55	0.9299