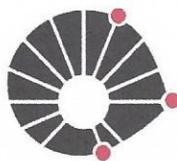




ANDRÉ RODRIGUES GURGEL DA SILVA

**ESTUDOS TERMODINÂMICOS EM SISTEMAS DE
DUAS FASES AQUOSAS PARA A PURIFICAÇÃO DE
BROMELINA DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS**

CAMPINAS
2014



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

ANDRÉ RODRIGUES GURGEL DA SILVA

**ESTUDOS TERMODINÂMICOS EM SISTEMAS DE DUAS FASES
AQUOSAS PARA A PURIFICAÇÃO DE BROMELINA DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS**

Orientador: Prof. Dr. Elias Basile Tambourgi

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO ANDRÉ RODRIGUES GURGEL DA SILVA E ORIENTADO PELO PROF. DR. ELIAS BASILE TAMBOURGI.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

Si38e Silva, André Rodrigues Gurgel da, 1988-
Estudos termodinâmicos em sistemas de duas fases aquosas para a purificação de bromelina de resíduos agroindustriais / André Rodrigues Gurgel da Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Elias Basile Tambourgi.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Bromelina. 2. Modelagem termodinâmica. I. Tambourgi, Elias Basile, 1957-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Thermodynamic studies in aqueous two-phase systems for purifying bromelain from agroindustrial wastes

Palavras-chave em inglês:

Bromelain

Thermodynamic modeling

Área de concentração: Engenharia Química

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora:

Elias Basile Tambourgi [Orientador]

Juliana Ferrari Ferreira Secato

Ana Paula Brescancini Rabelo

Data de defesa: 15-08-2014

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Folha de Assinaturas

Dissertação de mestrado defendida por André Rodrigues Gurgel da Silva em 15 de agosto de 2014 e aprovada pela banca constituída pelos doutores:



Prof. Dr., Elias Basile Tambourgi (Orientador)



Profa. Dra. Juliana Ferrari Ferreira Secato



Profa. Dra. Ana Paula Brescancini Rabelo

RESUMO

O abacaxi, considerado a terceira fruta mais importante do mundo, é utilizado como principal fonte de bromelina, uma enzima com atividade anti-inflamatória e que auxilia no tratamento de queimaduras. Pesquisas recentes indicam possíveis aplicações dessa enzima em terapias oncológicas. Atualmente a purificação de compostos biológicos é um grande desafio para a indústria. A extração em sistemas de duas fases aquosas (SDFA) proporciona um elevado rendimento e fácil ampliação de escala nesse tipo de processo. Dessa forma, esse trabalho visa a caracterização de um SDFA formado por polietilenoglicol (PEG) e Sulfato de amônio, utilizando os modelos termodinâmicos NRTL, UNIQUAC, UNIFAC E ASOG. Os dados experimentais foram obtidos a 5°C e 25°C com PEG de peso molecular 2000, 4000 e 6000 e, posteriormente, comparados com os resultados dos modelos indicando uma predominância dos modelos que utilizam o conceito de contribuição de grupos, e dentre estes, se destacou o método UNIFAC obtendo valores com erros próximos a 2%.

Palavras chave: Bromelina, Sistema de duas fases aquosas, Modelagem termodinâmica, UNIFAC, UNIQUAC, ASOG, NRTL

ABSTRACT

The pineapple, considered the third most important fruit in the world, is used as the main source of bromelain, an enzyme with anti-inflammatory activity and used for burns treatment. Nowadays, several researches show a possible application of this protein for cancer's treatment. In this context, the purification of biological components is an important challenge to industries. The extraction in aqueous two-phase system (ATPS) presents an elevated potential and easy application for this process. Thus, this study aims the characterization of an ATPS composed by Polyethylene Glycol (PEG) and ammonium sulfate, using NRTL, UNIQUAC, UNIFAC and ASOG as thermodynamic models. Experimental data were obtained for temperatures of 5 °C and 25 °C with PEG of different molecular weight (2000, 4000 and 6000) and posteriorly compared to the model's results, which indicated a predominance of those whom employ the group concept for calculating the activity coefficient, emphasizing the UNIFAC method which obtained an average error of 2%.

Key word: Bromelain, Aqueous two-phase systems, Thermodynamic Modeling, UNIFAC, UNIQUAC, ASOG, NRTL

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
SUMÁRIO	xi
LISTA DE FIGURAS	xvii
LISTA DE TABELAS	xxi
LISTA DE SIGLAS	xxiii
NOMENCLATURA	xxv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS	2
1.1.1 Objetivo Geral	2
1.1.2 Objetivos Específicos	2
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 BROMELINA	3
2.2 SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS (SAB).....	5
2.3 COMPONENTES DO SISTEMA	14
2.3 MODELAGEM TERMODINÂMICA	16
2.3.1 Modelo NRTL.....	21
2.3.2 Modelo UNIQUAC	22
2.3.3 Modelo UNIFAC.....	24
2.3.3 Modelo ASOG.....	25
3. METODOLOGIA	27
3.1 Obtenção dos Dados Experimentais.....	27
3.1.1 Determinação das Curvas Binodais dos SDFAs.....	27
3.1.2 Obtenção das Linhas de Amarração do SDFAs PEG/Sulfato de Amônio.....	27
3.2 Obtenção dos Dados Modelados	28
3.2.1 Algoritmo Geral	28
3.2.2 Cálculo dos Coeficientes de Atividade	28
3.2.3 Equação de Rachford-Rice.....	29
3.2.4 Minimização da Função Objetivo	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	37

4.1 Curvas Binodais	37
4.2 Validação do Modelo	40
4.3 Modelagem das Linhas de Amarração	49
4.3.1 Linhas de Amarração - NRTL.....	51
4.3.2 Linhas de Amarração - UNIQUAC.....	54
4.3.3 Linhas de Amarração – UNIFAC.....	57
4.3.4 Linhas de Amarração - ASOG	60
4.3.5 Análise das Linhas de Amarração	63
5. CONCLUSÕES.....	64
5.1 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	65
REFERÊNCIAS	66
ANEXOS.....	75

Dedico este trabalho aos meus pais, Miguel e Luciene,
que me apoiaram em todos os momentos dessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Elias Basile Tambourgi, pelo auxílio e pela orientação dedicados à conclusão deste trabalho;

Aos meus pais, Miguel e Luciene, e meus irmãos, Lucas e Maria Luiza, por terem me dado todo o suporte e apoio necessário durante esse tempo e que estão ao meu lado desde o início;

À família Lech, Yara, Adriana e Fernando que me ajudaram das mais diversas formas a seguir o meu caminho.

À Manuella, que entrou em minha vida e rapidamente se tornou imprescindível, por toda paciência e carinho nos momentos mais difíceis

Aos meus amigos que sempre estiveram do meu lado, Bruno, Thalles, Eduardo, Isabela e Raquel;

A todos os presentes no laboratório de biosseparação II, Diego, William, Edgar, Dani, Juliana, Amanda e Thamyris, pelos conselhos, ajudas e incentivos quando precisei;

Ao CNPq pelo auxílio financeiro ao projeto e à bolsa concedida.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama de fases ternário.	12
Figura 2: Diagrama de fases retangular (Carvalho, 2007).	12
Figura 3: (a) Sistema tipo 0; (b) Sistema tipo 1; (c)-(e) Sistema tipo 2; (f) Sistema tipo 3.	13
Figura 4: Exemplo de um problema de equilíbrio de fases.	17
Figura 5: Resolução em três etapas para um sistema em equilíbrio de fases.	17
Figura 6: Algoritmo desenvolvido separado em blocos.	28
Figura 7: Representação do sistema aquoso bifásico.	29
Figura 8: Representação do algoritmo utilizado na segunda etapa de cálculos.	32
Figura 9: Representação dos pontos do triplet (a,b,c) e suas respectivas funções $f(a)$, $f(b)$ e $f(c)$, bem como o valor de teste x sua função $f(x)$	33
Figura 10: Representação da busca de mínimos pelo método Golden Search.	34
Figura 11: Ilustração de w e z . Quando $c - a$ possui o valor de uma unidade, $b - a = w$ e $x - b = z$	34
Figura 12: Representação do método iterativo de minimização da função objetivo com múltiplos parâmetros.	36
Figura 13: Comparação entre as curvas binodais de PEG 2000, PEG 4000 e PEG 6000 a 5°C.	37
Figura 14: Comparação entre as curvas binodais de PEG 2 000, PEG 4000 e PEG 6000 a 25°C.	38
Figura 15: Comparação entre as curvas binodais de PEG 2000 a 5°C e a 25°C.	38
Figura 16: Comparação entre as curvas binodais de PEG 4000 a 5°C e a 25°C.	39
Figura 17: Comparação entre as curvas binodais de PEG 6000 a 5°C e a 25°C.	39
Figura 18: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo NRTL.	41
Figura 19: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.	43
Figura 20: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo UNIFAC.	45
Figura 21: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo ASOG.	47
Figura 22: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo NRTL.	51
Figura 23: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo NRTL.	51
Figura 24: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo NRTL.	52

Figura 25: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo NRTL.	52
Figura 26: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo NRTL.	53
Figura 27: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo NRTL.	53
Figura 28: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.	54
Figura 29: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.	54
Figura 30: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.	55
Figura 31: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.	55
Figura 32: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.	56
Figura 33: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.	56
Figura 34: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.	57
Figura 35: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.	57
Figura 36: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.	58
Figura 37: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.	58
Figura 38: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.	59
Figura 39: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.	59
Figura 40: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo ASOG.	60

Figura 41: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo ASOG.....	60
Figura 42: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo ASOG.....	61
Figura 43: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo ASOG.....	61
Figura 44: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo ASOG.....	62
Figura 45: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo ASOG.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de componentes que formam sistemas aquosos bifásicos	7
Tabela 2. Parâmetros R_k e Q_k dos grupos para os modelos UNIFAC e UNIQUAC	29
Tabela 3. Dados experimentais para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.....	40
Tabela 4. Dados obtidos pelo modelo NRTL para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.	42
Tabela 5. Parâmetros estimados para o modelo NRTL.....	42
Tabela 6. Dados obtidos pelo modelo UNIQUAC para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.	44
Tabela 7. Parâmetros estimados para o modelo UNIQUAC.....	44
Tabela 8. Dados obtidos pelo modelo UNIFAC para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.....	46
Tabela 9. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC.	46
Tabela 10. Dados obtidos pelo modelo ASOG para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.....	48
Tabela 11. Parâmetros estimados para o modelo ASOG.	48
Tabela 12. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C.	49
Tabela 13. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C.	49
Tabela 14. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C.	49
Tabela 15. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C.	50
Tabela 16. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C.	50
Tabela 17. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C.	50
Tabela 18. Erros calculados para os modelos NRTL, UNIQUAC, UNIFAC e ASOG.	63
Tabela A 1. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de Amônio a 5°C.	75
Tabela A 2. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de Amônio a 25°C.	76
Tabela A 3. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de Amônio a 5°C.	77
Tabela A 4. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de Amônio a 25°C.	78
Tabela A 5. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de Amônio a 5°C.	79
Tabela A 6. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de Amônio a 25°C.	80
Tabela A 7. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo NRTL.....	81
Tabela A 8. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo NRTL.....	81
Tabela A 9. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo NRTL.....	81
Tabela A 10. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo NRTL.....	81
Tabela A 11. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo NRTL.....	82
Tabela A 12. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo NRTL.....	82

Tabela A 13. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNQUAC.....	82
Tabela A 14. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNQUAC.....	82
Tabela A 15. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNQUAC.....	83
Tabela A 16. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNQUAC.....	83
Tabela A 17. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNQUAC.....	83
Tabela A 18. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNQUAC.....	83
Tabela A 19. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIFAC.	84
Tabela A 20. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIFAC.	84
Tabela A 21. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIFAC.	84
Tabela A 22. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIFAC.	84
Tabela A 23. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIFAC.	85
Tabela A 24. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIFAC.	85
Tabela A 25. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo ASOG.	85
Tabela A 26. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo ASOG.	85
Tabela A 27. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo ASOG.	86
Tabela A 28. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo ASOG.	86
Tabela A 29. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo ASOG.	86
Tabela A 30. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo ASOG.	86
Tabela A 31. Parâmetros estimados para o modelo NRTL.....	87
Tabela A 32. Parâmetros estimados para o modelo UNQUAC.....	87
Tabela A 33. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC para PEG 2000.	87
Tabela A 34. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC para PEG 4000.	87
Tabela A 35. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC para PEG 6000.	88
Tabela A 36. Parâmetros estimados para o modelo ASOG para PEG 2000.	88
Tabela A 37. Parâmetros estimados para o modelo ASOG para PEG 4000.	88
Tabela A 38. Parâmetros estimados para o modelo ASOG para PEG 6000.	88

LISTA DE SIGLAS

AS: Sulfato de Amônio

ASOG: Analytical Solution of Groups

DNA: Ácido desoxirribonucleico

NRTL: Non-Random Two-Liquid

PEG: Poli-etileno glicol

SAB: Sistemas Aquosos Bifásicos

SDFA: Sistema de Duas Fases Aquosas

UNIFAC: UNIQUAC Functional-group Activity Coefficients

UNIQUAC: Universal Quasi-Chemical Theory

NOMENCLATURA

P: Pressão

R: Constante universal dos gases

T: Temperatura

μ_i^α : Potencial químico na fase α

μ_i^β : Potencial químico na fase β

v_i : Volume molar do componente i

f_i : Fugacidade do componente i

f_i^0 : Fugacidade padrão do componente i

f_i^α : Fugacidade do componente i na fase α

f_i^β : Fugacidade do componente i na fase β

$\mu_i^{0\alpha}$: Potencial químico padrão na fase α

$\mu_i^{0\beta}$: Potencial químico padrão na fase β

a_i^α : Atividade do componente i na fase α

a_i^β : Atividade do componente i na fase β

γ_i : Coeficiente de atividade do componente i

γ_i^α : Coeficiente de atividade do componente i na fase α

γ_i^β : Coeficiente de atividade do componente i na fase β

x_i : Fração molar do componente i

x_i^α : Fração molar do componente i na fase α

x_i^β : Fração molar do componente i na fase β

w_j : fração mássica do componente j

M_j : massa molar do componente j

A_{ij} (NRTL): parâmetro de interação entre os grupos i e j

α_{ij} (NRTL): parâmetro relacionando à não aleatoriedade da mistura

z (UNIQUAC): número de coordenação

Φ (UNIQUAC): fração de volume da molécula i

θ (UNIQUAC): fração de superfície da molécula i

$v_k^{(i)}$ (UNIQUAC): número de grupos do tipo k na molécula i

γ_i^C (UNIQUAC): coeficiente de atividade combinatorial

γ_i^R (UNIQUAC): coeficiente de atividade residual
 r_i (UNIQUAC): volume total da molécula i
 q_i (UNIQUAC): área total da molécula i
 R_k (UNIQUAC): contribuição do grupo k para o volume da molécula
 Q_k (UNIQUAC): contribuição do grupo k para a área da molécula
 V_{wk} (UNIQUAC): parâmetro de área do grupo k
 A_{wk} (UNIQUAC): parâmetro de superfície do grupo k
 τ_{ij} (UNIQUAC): parâmetro de interação entre os componentes i e j
 Γ_k (UNIFAC): coeficiente de atividade do grupo k
 $\Gamma_k^{(i)}$ (UNIFAC): coeficiente de atividade do grupo k em uma solução contendo apenas moléculas do tipo i
 Θ_m (UNIFAC): fração de área do grupo m
 X_m (UNIFAC): fração molar do grupo m na mistura
 Q_k (UNIFAC): contribuição do grupo k para a área da molécula
 Ψ_{mn} (UNIFAC): parâmetro de interação entre os grupos m e n
 U_{mn} (UNIFAC): energia de interação entre os grupos m e n
 a_{mn} (UNIFAC) diferença entre as energias de interação entre os grupos m e n e os grupos n e m
 γ_i^{FH} (ASOG): coeficiente de atividade calculado pela equação de Flory-Huggins
 γ_i^G (ASOG): coeficiente de atividade residual de grupos calculado pela equação de Wilson
 v_i^{FH} (ASOG): tamanho da molécula i , dada pelo número de átomos da molécula i excluindo os de hidrogênio
 Γ_k (ASOG): coeficiente de atividade do grupo k
 $\Gamma_k^{(i)}$ (ASOG): coeficiente de atividade do grupo k em uma solução contendo apenas moléculas i
 X_l (ASOG): fração molar do grupo l na mistura
 $v_{k,i}$ (ASOG): número de grupos do tipo k na molécula i
 $a_{k/l}$ (ASOG): parâmetro de interação entre os grupos na mistura
 F : quantidade de entrada dos componentes no sistema em massa
 F_α : quantidade dos componentes na fase de topo (α) em massa
 F_β : quantidade dos componentes na fase de fundo (β) em massa
 R : razão entre a quantidade de componentes na fase de topo e a quantidade de componentes adicionada ao sistema em massa

K_i : razão entre os coeficientes de atividade da fase de fundo e da fase de topo do componente i

F.O.: função objetivo

1. INTRODUÇÃO

Bromelina é o nome dado às enzimas com atividade proteolítica, comumente chamadas de proteases. São encontradas no caule, folhas e frutos de plantas da família *Bromeliaceae* (Doko et al., 1991), uma linhagem de monocotiledôneas com aproximadamente 3.200 espécies, sendo principalmente nativas da América de clima tropical. As representantes mais conhecidas das Bromeliáceas e as principais fontes de bromelina são o abacaxi (*Ananas comosus*) e o curauá (*Ananas erectifolius*).

Industrialmente, a bromelina é amplamente utilizada no setor alimentício como amaciante de carnes devido ao caráter proteolítico da enzima. No ramo farmacêutico, sabe-se que a bromelina possui atividade anti-inflamatória (Seligman, 1962), antitrombótica e fibrinolítica (Maurer, 2001), auxilia na prevenção de edemas, agregação plaquetária e metástases (González-Rábade et al., 2011), potencializa efeitos antibióticos (Baumann, 2007), ajuda no desbridamento enzimático dos tecidos necróticos de úlceras e lesões por queimadura (Napper et al., 1994), na modulação de citocinas e do sistema imune (White et al., 1988), além de facilitar a digestão e aumentar a capacidade cardiorrespiratória (Silveira et al., 2009).

As proteínas utilizadas para fins terapêuticos ou para aplicação direta em humanos necessitam de um grau de pureza superior àquelas que tem uma finalidade industrial (Bresolin, 2013). Assim, o grande desafio na produção de bromelina em grandes proporções é a purificação, sendo esta etapa extremamente ligada à aplicação do produto final.

Dessa forma, é preciso atingir um equilíbrio entre uma separação eficiente, proporcionando uma manufatura em larga escala e com o grau de pureza desejado, e, simultaneamente, manter a atividade da enzima. A dificuldade neste processo é referente às restrições na purificação, por se tratar de uma molécula biológica seletiva. O processo, então, não pode utilizar condições muito agressivas como: temperaturas elevadas, alguns tipos de solvente e pH fora de sua faixa de trabalho sob o risco de ocorrer desnaturação dessas enzimas, fazendo com que elas não exerçam suas funções (Mosby, 2009).

Os sistemas aquosos bifásicos (SAB) adquiriram recentemente um importante papel na purificação de compostos como células animais ou vegetais, microorganismos, ácidos nucleicos e principalmente enzimas e proteínas (Cunha, 2008). A extração em SAB proporciona um elevado

rendimento do processo, trabalha com uma faixa de pH próxima ao equilíbrio, permite uma fácil ampliação de escalas e o uso em processos contínuos (Coimbra, 1995).

Apesar do Brasil ser o segundo maior produtor mundial de abacaxi (com cerca de 2,1 milhões de toneladas/ano) atrás apenas das Filipinas (2,2 milhões de toneladas/ano) (Faostat, 2009), os maiores produtores de bromelina são os países asiáticos, com destaque para Tailândia, Taiwan, Índia e China, além dos Estados Unidos. Assim, o Brasil se encontra em uma posição extremamente favorável para participar dessa fatia de mercado que movimenta cerca de U\$3 bilhões de dólares por ano (Leary et al., 2009).

Dessa forma, este trabalho visa uma descrição termodinâmica do sistema aquoso bifásico empregado na purificação da enzima do abacaxi, para que seja possível um desenvolvimento de equipamentos mais eficientes na separação da bromelina e o Brasil assuma uma condição de destaque no comércio de proteases.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Modelar termodinamicamente o equilíbrio de fases de um sistema composto por polietilenoglicol e Sulfato de amônio a fim de se obter um conhecimento teórico para o projeto de métodos mais eficientes para a purificação de bromelina.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Analisar a influência do peso molecular do polímero estudado e da temperatura do sistema na composição das fases de equilíbrio;
- Estudo da validade dos modelos termodinâmicos, UNIFAC, UNIQUAC, NRTL e ASOG, na caracterização das fases do equilíbrio líquido-líquido;
- Estimativa dos parâmetros de tais modelos que descrevem satisfatoriamente o equilíbrio líquido-líquido.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 BROMELINA

Enzimas são moléculas biológicas complexas responsáveis por catalisar milhares de processos metabólicos nos seres vivos (Smith, 1997). Nesse conjunto, as proteases são responsáveis por quebrarem as ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas e representam um dos grupos de enzimas mais relevantes produzidas industrialmente (Layman, 1986). Estas representam 60% de todo o comércio mundial de enzimas, podendo ser utilizadas na fabricação de detergentes, manufatura de cervejas e com aplicações nas indústrias de couro, laticínios, processamento de carnes e fotografia (Kalisz, 1988).

A história da bromelina está intimamente ligada à do abacaxi, sendo este descoberto por Cristovão Colombo em 1493 na ilha de Guadalupe (Taussig e Batkin, 1988). Naquela ocasião, o fruto já era utilizado pelos nativos como planta medicinal para combater enjoos e problemas renais (Rochefort, 1605). Hoje sabe-se que a bromelina é o principal responsável por tais efeitos terapêuticos. A descoberta e o isolamento da enzima são creditados ao químico venezuelano Vicente Marcano no ano de 1891 (Chittenden et al., 1892).

Em 1957, Heinecke constatou que o talo do abacaxi contém uma maior quantidade de bromelina do que a fruta (Heinecke e Gortner, 1957), que possui um valor de mercado mais alto. Dessa forma, barateou-se a matéria-prima para a produção de bromelina, visto que o caule era um resíduo da produção de abacaxi (Tochi et al., 2008), abrindo, assim, oportunidades de se comercializar a enzima em maior escala.

As proteases de maior destaque no mercado são a bromelina, a papaína e a ficina, extraídas respectivamente do abacaxi, do mamão e do figo. Diferentemente do abacaxi, as proteases presentes no mamão e no figo são encontradas somente quando os frutos estão verdes, desaparecendo conforme o processo de maturação eclode (Bartholomew et al., 2003). Já no caso das enzimas presentes na família das bromélias, apesar de ausente nos estágios iniciais, crescem rapidamente e mantêm-se altas até a fruta estar madura (Maurer, 2001).

A maior parte da bromelina comercializada mundialmente é proveniente do caule da fruta. Diversos autores analisaram as propriedades da enzima e notaram uma diferença significativa entre a bromelina da fruta e a bromelina do caule do abacaxi. Para a enzima extraída da fruta, a

massa molar varia de 26 – 37 kDa, com pH ótimo de 6 – 7 e temperatura ideal de 50 – 60°C (Harrach et al., 1998; Kumar et al., 2011; Suh et al., 1992; Xue et al., 2010; Liang et al., 2011). Já para a bromelina originária do caule, esses valores são de 24,5 - 32,4 kDa para massa molar, uma faixa de 3 – 8 para o pH ótimo e uma temperatura ideal de 37 – 70°C (Corzo et al., 2011; Ketnawa et al., 2011, Kumar et al., 2011; Lopes et al., 2009; Suh et al., 1992; Jutamongkon e Charoenrein, 2010; Liang et al., 2011).

O início de pesquisas para a aplicação da bromelina em fármacos se iniciou com Seligman, em 1962, que comprovou o potencial anti-inflamatório da bromelina, e, assim, essa passou a ser empregada no tratamento de cardiopatias, artrite reumatóide, traumas cirúrgicos, edemas e sinusites. Adicionalmente, foram observados efeitos na modulação de citocinas e do sistema imune (White et al., 1988), na potencialização da recuperação de úlceras e lesões por queimaduras (Napper et al., 1994), na intensificação da resposta a antibióticos (Baumann, 2007), no aumento da capacidade cardiorespiratória (Silveira et al., 2009) e há evidências recentes que a bromelina possa ser uma candidata promissora para o tratamento com terapia enzimática em pacientes oncológicos, aumentando a lise das células cancerígenas (Chobotova et al., 2010).

Além da aplicação em fármacos, a bromelina é comumente utilizada na indústria alimentícia. Dada a sua função proteolítica, a enzima é empregada como amaciante de carnes, na produção de biscoitos provenientes de farinha de trigo de alto valor protéico e na remoção de complexos proteínas-taninos na etapa de clarificação de cervejas (Freiman e Srur, 1999). O composto também é efetivo também no tratamento de couro, na suavização das fibras na indústria têxtil e para a produção de detergentes.

O principal ponto ao se iniciar um processo de purificação é o grau de pureza que se almeja obter da proteína. Este depende do destino ao qual essas enzimas serão empregadas. As proteínas utilizadas para fins terapêuticos ou para aplicação direta em humanos necessitam de um grau de pureza superior àquelas que tem uma finalidade industrial. Técnicas mais antigas como precipitação, extração com solventes e filtração, em geral, possuem baixa capacidade de purificação e uma alta capacidade de concentração, enquanto técnicas mais recentes como extração em miscela, extração em duas fases aquosas, cromatografia de afinidade ou troca iônica recuperam e purificam até a homogeneidade (Scopes, 1993; Ladisch, 2001; Pessoa Jr e Kilikian, 2005).

Do ponto de vista técnico, a purificação de proteínas é um processo complexo, exigindo um elevado número de etapas. É importante levar em conta ainda a possibilidade de desnaturação da enzima tanto pelo calor como pela diferença do pH aplicado. Além disso, há uma série de limitações envolvidas em cada etapa, como, por exemplo, a remoção dos fragmentos de célula dificultada pela viscosidade da solução ou a limitação da ampliação de escala da purificação por cromatografia pelo custo da resina envolvida no processo (Rabelo, 1999).

Downstream process é a denominação para o processo de separação de bioprodutos, consistindo em diversas etapas de separação que resultam em uma proteína purificada (Wheelwright, 1989). Os quatro principais estágios que compõem o processo de purificação de bioprodutos são: remoção de sólidos insolúveis (clarificação), isolamento do produto ou purificação de baixa resolução, purificação de alta resolução e polimento ou acondicionamento final do produto (Belter *et al.*, 1988). A purificação por downstream process é responsável por 60 – 90% do custo total de produção da enzima (Lightfoot, 1990).

Para a separação da bromelina, o extrato pode ser removido do suco do abacaxi ou outro resíduo por meio de centrifugação, ultra filtração ou liofilização (Corzo *et. al.*, 2011). Passada a etapa de extração, o produto contendo a enzima desejada é submetido a diversos processos de purificação para que se remova quaisquer contaminantes que possam interferir na aplicação desejada da enzima.

2.2 SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS (SAB)

Muitos processos na indústria química resultam em um produto constituído de uma mistura líquida homogênea composta por mais de um componente, sendo necessária a aplicação de algum método para se obter o produto de interesse. No entanto, para cada tipo de mistura há determinadas limitações que restringem os possíveis processos de separação que possam ser empregados, seja pelas características físico-químicas dos componentes da solução, seja pelo custo envolvido no processo ou pelas condições específicas de cada processo.

A extração líquido-líquido é baseada na miscibilidade parcial dos líquidos e na distribuição do soluto entre as fases. A separação do componente de interesse (soluto) ocorre a partir da adição de um constituinte líquido, insolúvel ou parcialmente solúvel, chamado de solvente, onde o soluto é preferencialmente solúvel. O soluto então difunde-se no solvente até

atingir as condições de equilíbrio do sistema. Métodos de extração líquido-líquido são considerados um dos mais competitivos financeiramente e podem, ainda, diminuir o número de etapas de separação necessárias no processo (Rabelo, 1999).

Em sistemas que contam com presença de biomoléculas ou células, a utilização de solventes orgânicos é difícil, uma vez que as características hidrofílicas dos produtos de fermentação exigem uma elevada razão entre a fase orgânica e a fase aquosa, além de sua toxicidade e capacidade de desnaturação das proteínas envolvidas no processo. Um dos mais conhecidos e aplicáveis mecanismos de extração líquido-líquido em processos biotecnológicos é a extração em duas fases aquosas (Matiasson et al., 1987). No entanto, para esse tipo de processo, é necessário que o sistema utilizado tenha semelhanças, em termos de propriedades físico-químicas, com o meio aquoso presente nos seres vivos (Selber et al., 2004).

Sistemas aquosos bifásicos (SAB) são amplamente utilizados para a separação de bioprodutos baseados em suas propriedades físico-químicas. As grandes vantagens da extração por SAB são provenientes da rápida separação dos produtos, redução do volume trabalhado, alta capacidade e a moderação do processo, não sendo aplicados valores extremos de temperatura e pressão. A aplicação de sistemas aquosos bifásicos é altamente aconselhada para a extração e purificação de proteínas que não obtiveram êxito em outros sistemas de separação (Gupta et al., 1999).

Sistemas aquosos bifásicos são conhecidos desde o final do século 19, quando, em 1896, Beijerinck observou a formação de uma mistura turva a partir de soluções de gelatina e ágar ou gelatina e amido solúvel em determinadas temperaturas. Foi observado em seguida que estes sistemas se separavam espontaneamente em duas fases líquidas límpidas, que continham água como o componente majoritário em ambas as fases.

Em 1929, Ostwald e Hertel constataram que a origem do amido (batata, milho, arroz, etc.) interferia no diagrama de fases apresentado, verificando que pequenas mudanças na composição química da matéria-prima afetam de maneira significativa o resultado da partição das fases. Dobry e Boyer-Kawenoki em 1947 realizaram um extenso trabalho sobre a miscibilidade de diversos pares de polímeros dissolvidos em solventes orgânicos e em soluções aquosas e concluíram que a incompatibilidade entre os polímeros era um fenômeno comum.

No entanto, o grande salto nos estudos dos sistemas aquosos bifásicos foi dado pelo bioquímico sueco Per Ake Albertsson no final da década de 50, que constatou o potencial de tal

sistema para a purificação de compostos biológicos. Tal potencial é proveniente da presença da água como componente majoritário em ambas as fases, proporcionando um ambiente ameno para as biomoléculas.

Os sistemas aquosos bifásicos podem ser divididos em quatro grupos de acordo com a sua composição (Albertsson 1986):

- Dois polímeros não iônicos.
Exemplos: PEG/Dextrana, PEG/Polivinil álcool, Polipropilenoglicol/Dextrana.
- Um polieletrólito e um polímero não iônico.
Exemplos: Sulfato dextrana de sódio/Polipropilenoglicol, Carboximetildextrana de sódio/PEG, Carboximetilcelulose de sódio/Metil celulose .
- Dois polieletrólitos.
Exemplos: Sulfato dextrana de sódio/Carboximetildextrana, Carboximetildextrana de sódio/Carboximetilcelulose de sódio.
- Um polímero não iônico e um composto de baixa massa molar.
Exemplos: Polipropilenoglicol/Fosfato de potássio, PEG/Fosfato de potássio, Metilpolietilenoglicol/Fosfato de potássio, PEG/Glicose, PEG/Sulfato de magnésio.

Alguns exemplos de componentes que quando unidos em determinadas condições formam um sistema aquoso bifásico podem ser encontrados na tabela 1.

Tabela 1. Exemplos de componentes que formam sistemas aquosos bifásico.

Componente 1	Componente 2
Poli (óxido de etileno)	Poli (óxido de propileno)
Poli (óxido de etileno)	Dextrana
Poli (óxido de etileno)	Poli (N-vinil-2-pirrolidona)
Poli (óxido de etileno)	Na ₂ SO ₄
Copolímero Poli (óxido de etileno) – Poli (óxido de propileno) – Poli (óxido de etileno)	Maltodextrina
Dextrana sulfonato de sódio	Etil-hidroxietylcelulose-NaCl
Poli (óxido de etileno)	Citrato de sódio
Dextrana sulfonato de sódio	NaCl

Outra vantagem do SAB é a baixa tensão interfacial do sistema, com valores entre 0,0001 e 0,1 dina/cm, ao passo que em soluções que apresentam solventes orgânicos esses valores ficam entre 1-20 dina/cm (Albertsson, 1986). A tensão interfacial é a medida da energia coesiva presente em uma interface, seja ela líquido-líquido, gás-líquido, gás-sólido ou sólido-líquido. Essa tensão é resultado de um desequilíbrio de forças nas moléculas da interface da mistura sendo que valores altos para tensão interfacial minimizam a área de contato da superfície. Dessa forma, baixos valores de energia coesiva facilitam a transferência das biopartículas entre as fases e diminuem a possibilidade de ocorrer algum dano estrutural às biomoléculas (Venancio et al., 1996).

A separação de fases em soluções poliméricas é atribuída à combinação entre o alto peso molecular desses compostos juntamente com interações intermoleculares entre os segmentos de cadeia da molécula (Albertsson, 1986). Termodinamicamente, a separação de fases em sistemas polímero-polímero é governada pela entalpia envolvida nas interações intercomponentes que se opõe à diminuição de entropia proveniente da segregação entre as fases (Flory, 1953).

Um outro fator determinante para a separação de fases em sistemas aquosos bifásicos é a presença de sais. Uma alta concentração de sal em uma solução polímero-água já é capaz de conduzir à separação de fases na mistura, gerando uma fase de fundo rica em sal e pobre em polímero e uma fase de topo pobre em sal e rica em polímero (Abbot et al., 1990; Albertson, 1986; Walter et al., 1985). A capacidade de formação de duas fases de diversos sais segue a progressão de Hofmeister, que classifica os íons por sua capacidade de expulsão de proteínas, sendo este conhecido como efeito “salting-out” (Ananthapadmanabhan e Goddard, 1987).

As interações intermoleculares entre os componentes do sistema aquoso bifásico são os principais responsáveis pela formação das fases do sistema. Essas mesmas interações definem quais serão as propriedades físico-químicas presentes em cada fase, tal como a relação entre os volumes das fases, diferença de potencial elétrico e excesso de energia livre de Gibbs associada à interface. Além disso, as interações também definem a distribuição dos diferentes componentes em cada fase representada pelo coeficiente de partição do soluto, sendo esta propriedade a de maior interesse para a separação de biomoléculas (Silva e Loh, 2006).

Para aplicações em biotecnologia, alguns critérios devem ser levados em consideração na escolha do meio de trabalho, sendo necessária uma especial atenção a:

- Toxicidade do meio, não devendo ele ser tóxico nem ao homem nem ao sistema biológico;
- Facilidade de recuperação do brioproducto no extrator;
- Capacidade de esterilização;
- Miscibilidade – total ou parcial – com soluções aquosas;
- Densidades diferentes entre os solventes;
- Não deve formar emulsões estáveis com materiais biológicos;
- Não deve ser inflamável;
- Baixo custo de operação.

O princípio de separação envolvido nos processos em sistemas aquosos bifásicos é a distribuição seletiva dos componentes entre as duas fases. Essa distribuição é determinada por diversos parâmetros relacionados às propriedades e as interações entre cada fase e o soluto. Geralmente, moléculas menores são distribuídas igualmente entre as fases, enquanto a predição da separação de moléculas maiores é mais difícil (Albertsson, 1986). No entanto, a distribuição pode ser manipulada para se tornar mais seletiva a partir do controle de determinados parâmetros do sistema, fazendo com que determinado tipo de interação entre os compostos seja predominante (Hatti-Kaul, 2001).

A possibilidade de tornar o sistema mais seletivo para determinado soluto de interesse faz com que o processo de separação por sistemas bifásicos ganhe destaque em comparação com outros métodos de purificação mais rígidos, tais como centrifugação e eletroforese. Isto ocorre pois este método permite a separação de moléculas e particulados que possuem propriedades muito semelhantes entre si (Hatti-Kaul, 2001).

Essa sensibilidade de ajuste dos SAB's permite a aplicação dele nas mais diversas áreas como uma ferramenta de estudos analíticos importantes, tais como:

- Análise de carga e propriedades hidrofóbicas de superfície dos compostos.
- Rastreamento de alterações na superfície celular resultante tanto de processos *in vivo* como *in vitro*, tais como diferenciação, maturação e envelhecimento, especialmente úteis para as áreas de biomedicina e bioquímica (Walter e Johansson, 1994).

- Estimativa da carga da superfície e ponto isoelétrico de proteínas, a partir da partição dos componentes do SAB variando-se o pH e quantidade de sais do sistema (Walter e Johansson, 1994).
- Estudo de superfície de proteínas e detecção de alterações nessas superfícies resultante de mutações de resíduos de aminoácidos relacionando a partição das proteínas com a acessibilidade do solvente ao resíduo de aminoácido mutante (Berggren et al., 2000).
- Detecção e quantificação de interações biomoleculares (Backman, 2000; Walter et al., 1985).

Além da aplicação de sistemas aquosos bifásicos como métodos analíticos, uma outra linha de pesquisa utiliza o conceito de partição de fases para remediação e tratamento ambiental, em especial para a remoção de microorganismos e partículas inorgânicas em fluidos de corte (fluidos de lubrificação industrial em processos de corte, perfuração, polimento, etc.), se mostrando mais efetivo que técnicas comumente utilizadas como o tratamento biocida e radiação (Ström et al., 1994). SAB's também possuem a vantagem de não utilizar substâncias tóxicas e inflamáveis. Além disso, sistemas que utilizam PEG podem ser ajustados para coincidir com a hidrofobicidade e o teor de água de um grande número de solventes, sendo utilizados para a remoção e recuperação de uma vasta gama de solutos e partículas (Huddleston et al., 1998; Rogers et al., 1998).

Grande parte dos produtos biotecnológicos são obtidos em soluções muito diluídas. Dessa forma, o primeiro passo para a sua recuperação é a concentração. Apesar do fato de que sua principal aplicação seja uma etapa primária de recuperação de proteínas de matérias-primas brutas, quando planejado da maneira correta, SAB's são aptos a realizar, também, processos de clarificação, com grande parte da substância de interesse se deslocando para a fase com um volume menor do que a solução original (Albertsson, 1986).

Sabe-se que quanto maior o número de etapas em um processo de purificação, maior é a perda de produto. Extração em sistema aquoso bifásico na maioria dos casos oferece uma alternativa melhor comparado a processos de filtração e centrifugação nos primeiros estágios de separação, evitando problemas decorrentes da alta viscosidade e distribuição heterogênea do tamanho das partículas. Além disso, se devidamente otimizada, ela promove a integração das

etapas de clarificação, concentração e separação parcial do processo, reduzindo a quantidade de etapas e diminuindo as perdas no processo (Hatti-Kaul, 2001).

O isolamento de proteínas de membrana, tarefa com um alto grau de dificuldade e a qual consome grande tempo de operação, foi obtido com sucesso em SAB's com o uso de detergentes de polioxietileno (Minuth et al., 1996; Ramelmeier et al., 1991; Sánchez-Ferrer et al., 1989). Tal técnica apresentou resultados promissores, também, para o isolamento de DNA, a partir da utilização de agentes caotrópicos – moléculas capazes de quebrar ligações de hidrogênio – e detergentes em um sistema PEG-sal (Cole, 1991). Um novo sistema com base PEG-sal em altas temperaturas tem se mostrado promissor para o isolamento de produtos de baixo peso molecular, tais como aminoácidos e peptídeos (Chu e Chen, 2000; Johansson et al., 1998; Sikdar et al., 1991).

Além das aplicações já mencionadas, sistemas aquosos bifásicos têm mostrado potencial no aumento de produtividade de biocompostos a partir da integração entre separação do produto de interesse com a bioconversão envolvida em sua produção, um processo conhecido como bioconversão extrativa (Hatti-Kaul, 2000).

Entretanto, mesmo com diversos empregos, poucas indústrias ainda aplicam SAB's. Uma das razões inclui a má compreensão dos mecanismos de partição, o que fez com que o desenvolvimento do método fosse praticamente empírico. Havendo uma predição confiável da partição das fases, a extração em sistema aquoso bifásico poderia ser otimizada somente por cálculos matemáticos. Tentativas de modelagem utilizando modelos mais restritos, expansões viriais, UNIQUAC e outras abordagens obtiveram sucesso em esclarecer alguns dos mecanismos envolvidos na partição das fases e fornecem um bom começo para o entendimento e previsão do comportamento dos componentes do sistema.

Diagrama de Fases

Um obstáculo que surge ao se trabalhar com um sistema envolvendo mais de dois componentes é a forma de representar graficamente o comportamento das fases. As duas principais maneiras de apresentar essas informações são os diagramas de fase ternários e os diagramas retangulares (Albertsson, 1986).

No diagrama de fase ternário a composição de todos os componentes são representadas de maneira gráfica, conforme a Figura 1. Nessa representação, cada um dos lados do triângulo indica uma mistura binária entre os componentes e cada um dos vértices representa uma substância pura.

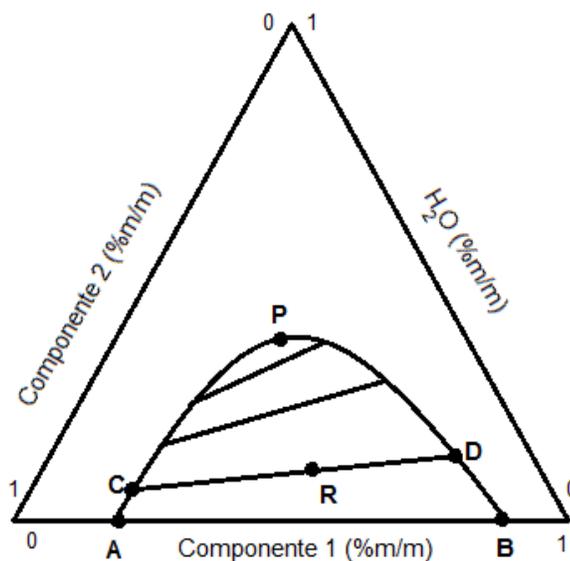


Figura 1: Diagrama de fases ternário.

O diagrama de fases retangular expressa, ao contrário da representação ternária, apenas as concentrações de dois componentes da mistura, sendo o terceiro deles obtido a partir da diferença dos dois primeiros com o todo. A Figura 2 apresenta um exemplo desse diagrama:

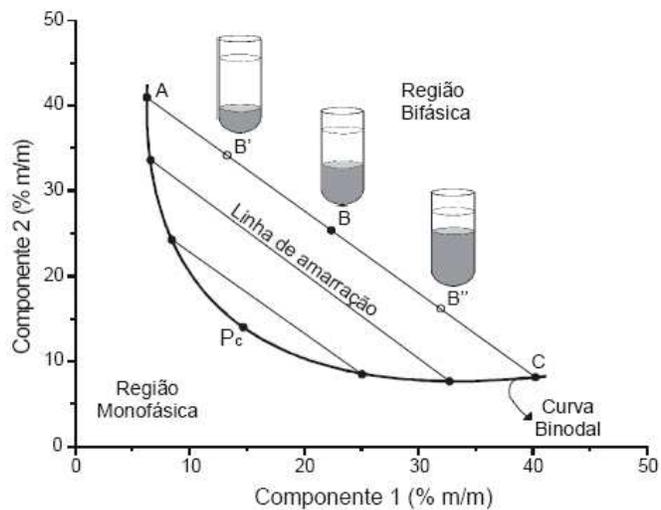


Figura 2: Diagrama de fases retangular (Carvalho, 2007).

Em ambos os gráficos, é possível observar a existência de uma curva que separa o gráfico em duas regiões (pontos A-C-P-D-B no diagrama ternário; e pontos A-Pc-C na representação retangular). Tal curva é denominada de curva binodal ou curva de equilíbrio e indica em qual região a mistura é homogênea e em qual região ela é heterogênea.

As linhas representadas dentro das curvas binodais nos gráficos são chamadas linhas de amarração, em inglês *tie-line*. Todas as misturas representadas dentro da região bifásica situadas em cima da mesma linha de amarração formam fases conjugadas com a mesma composição, e as frações das duas fases podem ser determinadas analiticamente a partir das composições ou graficamente a partir dos segmentos da linha de amarração.

A região bifásica do diagrama deve ser considerada como totalmente preenchida com linhas de amarração. No ponto crítico (P e Pc nas figuras 1 e 2, respectivamente) as linhas de amarração se extinguem e são formadas duas fases de composição e densidade idênticas.

O diagrama ternário representado na Figura 1 corresponde ao tipo mais comum de equilíbrio líquido-líquido, o que possui um par de líquidos parcialmente miscíveis. No entanto existem casos em que pode haver dois, três ou zero pares de líquidos parcialmente miscíveis. Esses sistemas, ilustrados na Figura 3, são classificados como:

- Tipo 0: nenhum par miscível, diagrama em forma de ilha.
- Tipo 1: um par parcialmente miscível.
- Tipo 2: dois pares parcialmente miscíveis.
- Tipo 3: três pares parcialmente miscíveis.

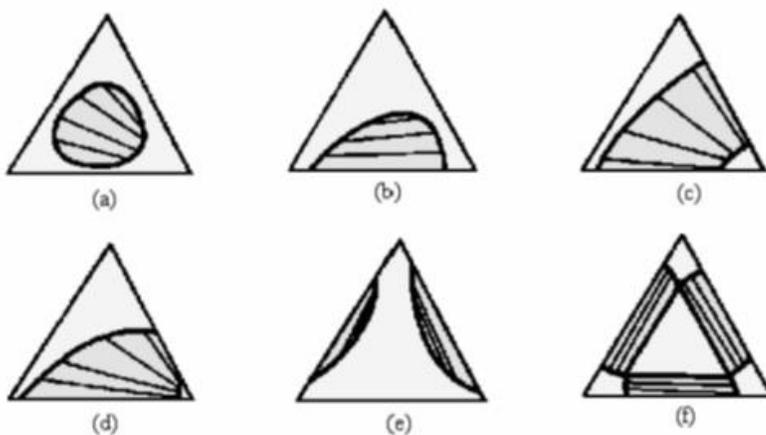


Figura 3: (a) Sistema tipo 0; (b) Sistema tipo 1; (c)-(e) Sistema tipo 2; (f) Sistema tipo 3.

Alguns elementos, como temperatura, pH, tipo de sal e massa do polímero, influenciam fortemente o comportamento das curvas binodais e das linhas de amarração. O efeito da pressão no equilíbrio líquido-líquido pode ser desprezado, entretanto é importante salientar que a pressão a qual o sistema está submetido deve ser superior à pressão de saturação de todos os componentes na temperatura de trabalho. Caso essa pressão seja inferior, haverá a formação de uma fase vapor e a existência de um equilíbrio líquido-líquido-vapor.

O aumento da temperatura do sistema tende a ampliar a solubilidade entre os componentes, aumentando a região monofásica no diagrama de fases até o ponto em que há a miscibilidade total entre os elementos. O aumento da temperatura proporciona também, em um equilíbrio PEG/sal, o aumento da concentração de PEG na fase polimérica.

A massa do polímero está diretamente ligada à formação das fases. Quanto maior ela for, menor é a concentração de polímero necessária para a formação das fases (Kilikian e Pessoa Jr, 2001). Aumentando-se o peso molecular do polímero há um acréscimo, também, no tempo de separação das fases, um inconveniente que pode ser reduzido utilizando-se a centrifugação após a mistura das fases (Albertsson e Tjerneld, 1994). O pH e o tipo de sal, por sua vez, estão associadas à separação da proteína entre as fases aquosas do sistema por efeitos *salting-in* e *salting-out*. Todavia, os fundamentos da partição de biomoléculas entre duas fases ainda não são totalmente claros.

2.3 COMPONENTES DO SISTEMA

Os valores de tensão superficial têm forte influencia no coeficiente de partição dos produtos em sistemas aquosos bifásicos. Um dos principais fatores que determinam tal propriedade é a natureza química dos componentes das fases do sistema e que também afetam outros parâmetros do processo, como a estabilidade cinética e termodinâmica da dispersão, cinética de partição e etc. (Save et al., 1993).

Sistemas aquosos bifásicos são comumente formados por uma solução de polímero-sal por esses últimos organizarem a estrutura do polímero, propiciando a formação das fases. Os sistemas PEG/sal são constituídos em geral por sais inorgânicos, tais como Sulfato de magnésio, Sulfato de sódio, Sulfato de amônia, carbonato de sódio e Fosfato de potássio combinados com

PEG de diversos pesos moleculares. Tais sistemas aparecem como uma alternativa menos custosa quando comparados à sistemas convencionais polímero/dextrana. (Hudleston et al. 1991).

Polietilenoglicol

Polietilenoglicol (PEG) é um polímero de óxido de etileno de peso molecular que varia de 300g/mol a 10^7 g/mol. Sua fórmula molecular é $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$, onde o $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ é o monômero correspondente ao óxido de etileno. Esse polímero é também conhecido como óxido de polietileno (PEO) ou polioxietileno (POE) (Kahovec et al., 2002). Apesar de se apresentar em uma vasta gama de pesos moleculares, suas propriedades químicas são praticamente constantes, ao passo que devido a efeitos de cadeia, suas características físicas, como a viscosidade, apresentam certa variação de acordo com a massa do polímero.

Existem diversas rotas para a produção de PEG, tais como reação de óxido de etileno com água, etilenoglicol ou oligômeros de etilenoglicol, podendo essas reações serem catalisadas por ácidos ou bases. As reações iniciadas por etilenoglicol e seus oligômeros produzem polímeros com uma distribuição de peso mais uniforme, sendo a mais utilizada pela indústria. O polietilenoglicol é solúvel em água, alcoóis de baixo peso molar, acetonitrila, benzeno e diclorometano e é insolúvel em hexano e dietil-éter.

Polietilenoglicol possui uma baixa toxicidade sendo assim utilizado nos mais variados produtos (Andersen, 1999). Entre essas aplicações, destacam-se o seu uso como lubrificante, como fase estacionária em cromatografias a gás, como surfactante, como base para cremes na indústria cosmética e como vetor de diversos medicamentos na indústria farmacêutica, prolongando o tempo de ação de remédios no organismo.

Sulfato de Amônia

Com fórmula molecular $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ o diamônio Sulfato, ou mais popularmente Sulfato de amônio é um sal inorgânico comumente utilizado como fertilizantes e corretor de pH de solo devido a presença de nitrogênio e enxofre na sua fórmula.

Produto proveniente da reação de amônia com ácido sulfúrico, o Sulfato de amônio possui uma massa molar de 132,14 g/mol e um ponto de fusão entre 235°C e 280°C. Este composto é

insolúvel em acetona, éter e álcool e extremamente solúvel em água (70,6g/100mL a 0°C), tornando possível a elaboração de soluções concentradas que provocam o efeito “salt-out” em proteínas.

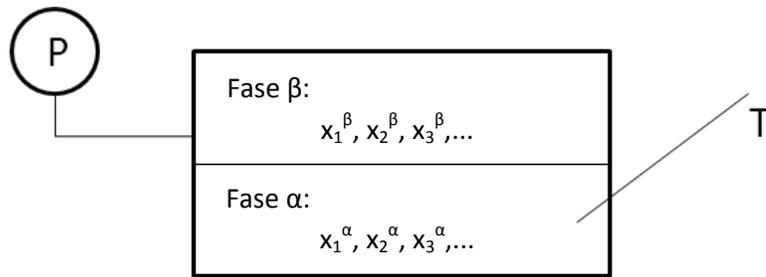
Além de ser bastante utilizado em métodos de precipitação de proteínas, o Sulfato de amônio é empregado em inseticidas, herbicidas e fungicidas além de ser usado como aditivo em plásticos com a função de retardar a propagação de chamas em materiais, é aplicado na indústria alimentícias como regulador de acidez em farinhas e é um produto intermediário para a produção de outros sais de amônio, como o perSulfato, na indústria química.

2.3 MODELAGEM TERMODINÂMICA

Dados confiáveis da composição e das propriedades de sistemas bifásicos aquosos são necessários para o projeto de equipamentos de extração bem como para o desenvolvimento de modelos termodinâmicos e de transferência de massa do processo (Sé e Aznar, 2002). Diversos estudos já foram feitos a respeito de sistemas polímero-polímero (Lei et al., 1990), entretanto, poucos dados experimentais são encontrados para sistemas polímero-sal.

O desenvolvimento de um modelo termodinâmico adequado para o processo permite a predição de resultados do sistema evitando-se um excessivo número de práticas experimentais que demandam tempo e recursos.

Assim, a essência do problema é definir quantitativamente as variáveis do sistema que descrevem o estado de equilíbrio de duas fases homogêneas que são livres para permutar energia e matéria, sendo dadas algumas propriedades do equilíbrio dessas fases e calculando-se as restantes, conforme mostra a Figura 4 (Prausnitz, 1986). Por fase homogênea em equilíbrio entende-se como qualquer região no espaço onde as propriedades intensivas são as mesmas em qualquer ponto da mistura. E variáveis intensivas são aquelas que são independentes da massa, tamanho e forma da fase, tais como temperatura, pressão e composição.



Dados:

Frações molares: $x_1^\beta, x_2^\beta, x_3^\beta, \dots$

E T (ou P)

Calcular:

Frações molares: $x_1^\alpha, x_2^\alpha, x_3^\alpha, \dots$

E P (ou T)

Figura 4: Exemplo de um problema de equilíbrio de fases.

Para a resolução de problemas como o da Figura 4, e como o proposto neste trabalho, é necessário realizar uma transição do que é apresentado por equações termodinâmicas de equilíbrio de fases, para informações de relevância real, ou seja, valores quantitativos de pressão, temperatura e composição das fases. Tal solução envolve três etapas, conforme mostrado na Figura 5 a seguir. Na primeira etapa, o problema real é convertido em um problema matemático abstrato; na segunda etapa é resolvido o problema matemático; e na terceira etapa essa solução matemática é convertida em valores com significado físico.

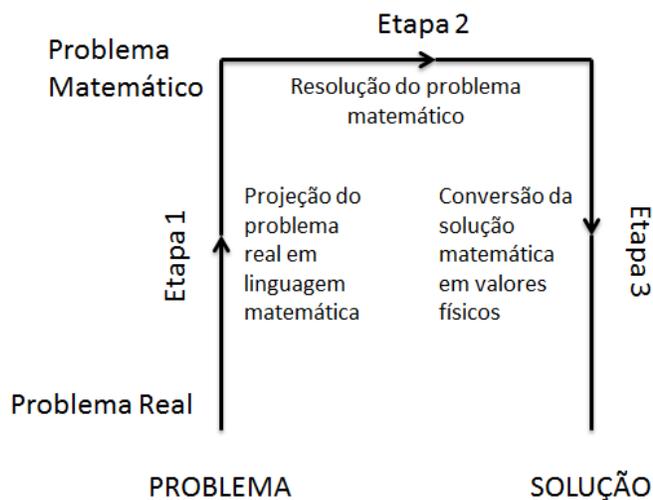


Figura 5: Resolução em três etapas para um sistema em equilíbrio de fases.

Em qualquer problema relacionado com equilíbrio químico e distribuição do componente i em duas fases, α e β , deve-se sempre começar com a relação entre os potenciais químicos de i em cada uma das fases (Prausnitz, 1986):

$$\mu_i^\alpha = \mu_i^\beta \quad (1)$$

Entretanto, o potencial químico não possui nenhum equivalente físico, e assim, é desejável expressá-lo em termos de alguma função auxiliar que pode ser mais facilmente correlacionada com propriedades mais mensuráveis. Dessa forma, Lewis (1961) levou em conta primeiramente o potencial químico para um gás ideal e puro:

$$\left(\frac{\partial \mu_i}{\partial P} \right)_T = \nu_i \quad (2)$$

Pela equação dos gases ideais:

$$\nu_i = \frac{RT}{P} \quad (3)$$

E integrando à temperatura constante:

$$\mu_i - \mu_i^o = RT \ln \frac{P}{P^o} \quad (4)$$

A equação 4 atesta que, para um gás ideal, a mudança no potencial químico, dado de forma isotermicamente variando-se a pressão de P^0 a P , é igual ao produto de RT multiplicado pelo logaritmo natural da razão entre as pressões M/M^0 . Ou seja, à temperatura constante, a mudança no conceito abstrato μ é uma função logarítmica da variável real pressão.

Contudo, a Equação 4 é válida apenas para gases ideais e puros. Lewis (1961) definiu uma função chamada de fugacidade para generalizar a aplicação da proposição acima para a mudança isotérmica de qualquer tipo de componente, seja ele sólido, líquido, gás, puro ou em solução, ideal ou não.

$$\mu_i - \mu_i^o = RT \ln \frac{f_i}{f_i^o} \quad (5)$$

Em termos gerais, fugacidade é uma “pressão corrigida” a qual difere da pressão original devido a não idealidades que podem ser interpretadas por considerações a nível molecular das partículas. Apesar de μ_i^o e f_i^o serem parâmetros arbitrários, a definição de um deles faz com que o outro seja automaticamente fixado. Lewis (1961) também chamou a fração f_i/f_i^o de atividade, definida pelo símbolo a , a qual indica o quão ativa a substância é comparada a seu estado padrão.

Assim, para a fase α e β :

$$\mu_i^\alpha - \mu_i^{o\alpha} = RT \ln \frac{f_i^\alpha}{f_i^{o\alpha}} \quad (6)$$

$$\mu_i^\beta - \mu_i^{o\beta} = RT \ln \frac{f_i^\beta}{f_i^{o\beta}} \quad (7)$$

Combinando-se as equações 6 e 7 na equação 1, tem-se que:

$$\mu_i^{o\alpha} + RT \ln \frac{f_i^\alpha}{f_i^{o\beta}} = \mu_i^{o\beta} + RT \ln \frac{f_i^\beta}{f_i^{o\beta}} \quad (8)$$

Pode-se considerar dois casos a partir da equação 8. Explorando o primeiro deles:

Supondo-se que os estados padrões para as duas fases são os mesmos:

$$\mu_i^{o\alpha} = \mu_i^{o\beta} \quad (9)$$

Então:

$$f_i^{o\alpha} = f_i^{o\beta} \quad (10)$$

Substituindo 9 e 10 em 8 e rearranjando os termos, obtém-se:

$$f_i^\alpha = f_i^\beta \quad (11)$$

Para o segundo caso, considera-se que os estados padrões para as duas fases são para a mesma temperatura, mas não para a mesma pressão e composição, compara-se os dois estados de acordo com a equação 5, o que fornece:

$$\mu_i^{o\alpha} - \mu_i^{o\beta} = RT \ln \frac{f_i^{o\alpha}}{f_i^{o\beta}} \quad (12)$$

Substituindo 12 em 8, obtém-se novamente 11

$$f_i^\alpha = f_i^\beta \quad (11)$$

E em termos de atividade:

$$a_i^\alpha = a_i^\beta \quad (12)$$

Com a Equação 11, pode-se concluir que se pode alterar a equação em termos de potencial químico (μ) por uma equação mais palpável em função da fugacidade (f) sem a perda da generalidade da equação 1.

Aplicando o conceito de coeficiente de atividade, definido como a razão entre a atividade do componente i e sua concentração em fração molar:

$$\gamma_i = \frac{a_i}{x_i} \quad (13)$$

Tem-se, então, uma nova equação que define o equilíbrio líquido-líquido:

$$x_i^\alpha \gamma_i^\alpha = x_i^\beta \gamma_i^\beta \quad (14)$$

Transformando-se o cálculo dos potenciais químicos referentes ao equilíbrio de fases do sistema, em cálculos de coeficiente de atividade que podem ser realizados a partir de modelos que calculam tal coeficiente, como NRTL, UNIQUAC, ASOG e UNIFAC.

2.3.1 Modelo NRTL

O modelo NRTL – Non-Random Two-Liquid – foi desenvolvido em 1968 por Renon e Prausnitz e se baseia no conceito de composição local, o qual afirma que a concentração do sistema na vizinhança de uma certa molécula não é a mesma que a concentração total, devido a forças intermoleculares presentes na solução. O modelo pode ser aplicado tanto para equilíbrio líquido-vapor como para equilíbrio líquido-líquido e em sistemas parcialmente miscíveis.

Devido ao conceito de composição local, o modelo NRTL permite uma redução no número de parâmetros ajustáveis, e a sua aplicação em sistemas multicomponentes requer apenas a utilização de parâmetros binários (Cruz e Renon, 1978).

Frações molares são comumente utilizadas nos cálculos do modelo NRTL, entretanto, para sistemas poliméricos, a utilização de frações mássicas é mais apropriado, pois devido ao alto peso molecular das cadeias dos polímeros, a fração molar dele é extremamente pequena (Oishi e Prausnitz, 1978).

Assim, para um sistema multicomponente e expresso em fração mássica, o modelo NRTL fica:

$$\ln \gamma_i = \frac{\sum_j^c \frac{\tau_{ji} G_{ji} w_j}{M_j}}{\sum_j^c \frac{G_{ji} w_j}{M_j}} + \sum_j^c \left[\frac{G_{ji} w_j}{M_j \sum_k^c \frac{G_{kj} w_k}{M_k}} \left(\tau_{ij} - \frac{\sum_k^c \frac{\tau_{kj} G_{kj} w_k}{M_k}}{\sum_k^c \frac{G_{kj} w_k}{M_k}} \right) \right] \quad (15)$$

Onde:

$$\tau_{ij} = \frac{A_{ij}}{T} \quad (16)$$

E:

$$G_{ij} = \exp(-\alpha_{ij} \tau_{ij}) \quad (17)$$

2.3.2 Modelo UNIQUAC

O modelo UNIQUAC – universal quasi-chemical theory – foi desenvolvido por Abrams como uma alternativa ao método NRTL de cálculo dos coeficientes de atividade a partir da teoria quase-química de Guggenheim de misturas não aleatórias para soluções contendo moléculas de diferentes tamanhos (Abrams e Prausnitz, 1975).

O método UNIQUAC parte da hipótese que o coeficiente de atividade pode ser separado em duas partes, uma parte combinatorial e uma parte residual, como mostrado pela Equação 18.

$$\ln \gamma_i = \ln \gamma_i^C + \ln \gamma_i^R \quad (18)$$

A parte combinatorial é considerada uma contribuição entrópica e nela são levadas em consideração o tamanho e a forma da molécula. Já a parte residual é considerada uma contribuição entálpica e nela se encontra as interações entre os grupos dos componentes da mistura.

Assim, para a parte combinatorial:

$$\ln \gamma_i^C = \ln \frac{\Phi_i}{x_i} + \frac{z}{2} q_i \ln \frac{\theta_i}{\Phi_i} + l_i - \frac{\Phi_i}{x_i} \sum_j x_j l_j \quad (19)$$

Com,

$$\Phi_i = \frac{r_i x_i}{\sum_j r_j x_j} \quad (20)$$

$$\theta_i = \frac{q_i x_i}{\sum_j q_j x_j} \quad (21)$$

$$l_i = \frac{z}{2}(r_i - q_i) - r_i + 1 \quad (22)$$

Onde z é o número de coordenação, definido como 10, Φ é a fração de volume da molécula i e θ é a fração de superfície da molécula i .

Os parâmetros r e q são calculados como a soma dos parâmetros de área e volume dos grupos.

$$r_i = \sum_k v_k^{(i)} R_k \quad (23)$$

$$q_i = \sum_k v_k^{(i)} Q_k \quad (24)$$

$v_k^{(i)}$ é o número de grupos do tipo k na molécula i

Onde, por Bondi (1968):

$$R_k = \frac{V_{wk}}{15,17} \quad (25)$$

$$Q_k = \frac{A_{wk}}{2,5 \times 10^9} \quad (26)$$

Os fatores de normalização 15,17 e $2,5 \times 10^9$ correspondem ao volume e à área superficial externa de uma unidade CH_2 em polietileno determinados por Abrams e Prausnitz (1975).

Para a parte residual:

$$\ln \gamma_i^R = q_i \left[1 - \ln \left(\sum_j \theta_j \tau_{ij} \right) - \sum_j \frac{\theta_j \tau_{ij}}{\sum_k \theta_k \tau_{kj}} \right] \quad (27)$$

Onde τ representa as interações entre os componentes i e j do sistema.

2.3.3 Modelo UNIFAC

O modelo UNIFAC – UNIQUAC Functional-group Activity Coefficients – desenvolvido por Prausnitz e colaboradores (Fredenslund et al., 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). A metodologia de cálculo por contribuição de grupos comparativamente a outros métodos, como composição local, 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).

O método UNIFAC, assim como o método UNIQUAC considera para o cálculo dos coeficientes de atividade uma parte combinatorial, de contribuição entrópica, e uma parte residual de contribuição entálpica. A etapa combinatorial é a mesma em ambos os modelos, sendo a diferença entre eles o cálculo da contribuição residual:

$$\ln \gamma_i^R = \sum_k^{grupos} v_k^{(i)} [\ln \Gamma_k - \ln \Gamma_k^{(i)}] \quad (28)$$

Com:

$$\ln \Gamma_k = Q_k \left[1 - \ln \left(\sum_m \Theta_m \Psi_{mk} \right) - \sum_m \frac{\Theta_m \Psi_{km}}{\sum_n \Theta_n \Psi_{nm}} \right] \quad (29)$$

E, $\ln \Gamma_k^{(i)}$ é a atividade de determinado grupo em uma solução composta apenas por moléculas do tipo i .

Onde Θ_m é a fração de área do grupo m , definido por:

$$\Theta_m = \frac{Q_m X_m}{\sum_n Q_n X_n} \quad (30)$$

Com X_m sendo a fração molar do grupo m na mistura

$$X_m = \frac{\sum_i^M v_m^{(i)} x_i}{\sum_i^M \sum_j^N v_j^{(i)} x_i} \quad (31)$$

E Ψ_{mn} são os parâmetros de interação entre os grupos m e n , definidos por:

$$\Psi_{mn} = \exp\left[-\frac{U_{mn} - U_{nm}}{RT}\right] = \exp\left[-\frac{a_{mn}}{RT}\right] \quad (32)$$

No qual U_{mn} é a medida da energia de interação entre os grupos m e n . Os parâmetros de interação de grupos a_{mn} têm sido reportados por vários autores e são mantidos por uma grande quantidade de grupos de pesquisa, tais como J.M Prausnitz (1986), Dortmund Databank® e Aspen Technology®.

2.3.3 Modelo ASOG

O método ASOG – Analytical Solution of Groups – bem como o método UNIFAC, possui uma vasta gama de aplicação, com temperaturas podendo variar de 2°C a 150°C e pressão de até 10 atm (Perumalsamy e Murugesan, 2009).

Outra semelhança com o método UNIFAC é o fato do coeficiente de atividade calculado também é dividido em duas partes, uma combinatorial e uma residual. Entretanto, no método ASOG a etapa combinatorial é calculada pela equação de Flory-Huggins e a equação de Wilson é utilizada para o cálculo do coeficiente de atividade residual de grupos.

Da equação 18, têm-se:

$$\ln \gamma_i = \ln \gamma_i^{FH} + \ln \gamma_i^G \quad (33)$$

Onde para cada termo:

$$\ln \gamma_i^{FH} = 1 + \ln \left(\frac{v_i^{FH}}{\sum_j^{comp} x_j v_j^{FH}} \right) - \frac{v_i^{FH}}{\sum_j^{comp} x_j v_j^{FH}} \quad (34)$$

$$\ln \gamma_i^G = \sum_k^{grupos} v_{k,i} (\ln \Gamma_k - \ln \Gamma_k^{(i)}) \quad (35)$$

Sendo v_i^{FH} o tamanho da molécula definido como a quantidade de átomos que a formam, excluindo-se os de hidrogênio e $v_{k,i}$ o número de átomos, exceto os de hidrogênio, do grupo k presente na molécula i. O coeficiente de atividade residual do grupo k na mistura é definido por Γ_k e $\Gamma_k^{(i)}$ corresponde ao valor do coeficiente de atividade residual do grupo k no componente puro i, dados por:

$$\ln \Gamma_k = 1 - \ln \left(\sum_l^{grupos} X_l a_{k/l} \right) - \sum_l^{grupos} \left(\frac{X_l a_{l/k}}{\sum_m^{grupos} X_m a_{l/m}} \right) \quad (36)$$

Onde X_l é a fração do grupo l na solução, definido como:

$$X_l = \frac{\sum_i^{comp} x_i v_{l,i}}{\sum_i^{comp} x_i \sum_k^{grupos} v_{k,i}} \quad (37)$$

E $a_{l/k}$ é o parâmetro de interação entre os grupos na mistura:

$$a_{k/l} = \exp \left(m_{k/l} + \frac{n_{k/l}}{T} \right) \quad (38)$$

3. METODOLOGIA

3.1 Obtenção dos Dados Experimentais

3.1.1 Determinação das Curvas Binodais dos S DFA

As curvas binodais foram estabelecidas segundo a metodologia descrita por (Albertsson, 1971), pelo método da turbidez, que é a observação direta do ponto anterior ao aparecimento de uma segunda fase.

Uma quantidade definida da solução rica em Sulfato de amônio foi colocada em tubos de ensaio, onde foi gotejada uma solução de PEG. Após cada gota, a solução foi homogeneizada em um agitador vortex, e quando o sistema apresentou-se turbido, foi pesado e calculado a quantidade de PEG e Sal do sistema. O mesmo procedimento foi utilizado para obtenção dos pontos com alta concentração de PEG.

Soluções estoque de PEG 2000, 4000 e 6000 (50% m/m) e de Sulfato de amônio (35% m/m) foram preparadas previamente. As binodais foram obtidas para as temperaturas de 5°C e 25°C.

3.1.2 Obtenção das Linhas de Amarração do S DFA PEG/Sulfato de Amônio

As linhas de amarração foram obtidas a partir do preparo de uma série de sistemas, onde foram adicionadas quantidades definidas, baseadas nas curvas binodais determinadas previamente, de soluções estoque de PEG 2000, 4000 e 6000 (50% m/m) e Sulfato de amônio (35% m/m), bem como da análise da composição das fases de cada sistema.

Uma curva padrão para a condutividade do Sulfato de amônio foi construída para relacionar sua condutividade à concentração (em e % de saturação). Os sistemas possuíam massa total de 10 gramas e a concentração de Sulfato de amônio foi calculada através da condutividade da fase em análise. A concentração de PEG foi determinada gravimetricamente por criodessecação, subtraindo-se ainda a massa do sal calculada anteriormente.

3.2 Obtenção dos Dados Modelados

3.2.1 Algoritmo Geral

Para a obtenção dos dados modelados pelos modelos foi escrito uma série de linhas de código computacional no software Matlab®. Tal algoritmo pode ser separado em três partes principais como visto a seguir.



Figura 6: Algoritmo desenvolvido separado em blocos.

A primeira parte diz respeito ao cálculo dos coeficientes de atividade a partir dos modelos termodinâmicos apresentados na revisão bibliográfica, sendo eles NRTL, UNIQUAC, UNIFAC e ASOG. Essa etapa é a principal diferença entre os diversos documentos produzidos.

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, sendo uma das principais equações utilizadas para tal cálculo a equação de Rachford-Rice.

A última etapa corresponde ao ajuste dos parâmetros de cada modelo termodinâmico de modo a se ajustar tais modelos à realidade da solução trabalhada. Nessa fase utiliza-se um algoritmo computacional de minimização de uma função objetivo definida para realizar o acerto dos parâmetros.

3.2.2 Cálculo dos Coeficientes de Atividade

O cálculo dos coeficientes de atividade foi realizado conforme os modelos descritos na revisão bibliográfica. Para os modelos de contribuição de grupos, os seguintes parâmetros foram utilizados nos cálculos de cada grupo (Gao et al., 1991):

Tabela 2. Parâmetros R_k e Q_k dos grupos para os modelos UNIFAC e UNIQUAC

Grupos	R_k	Q_k
H ₂ O	0,92	1,40
CH ₂ OH	1,674	1,740
CH ₂ OCH ₂	1,593	1,320
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,33	1,310

3.2.3 Equação de Rachford-Rice

A conversão dos valores dos coeficientes de atividade para frações mássicas dos componentes se dá pela resolução das equações de equilíbrio do sistema e pelas equações de conservação de massa.

Dado o sistema:

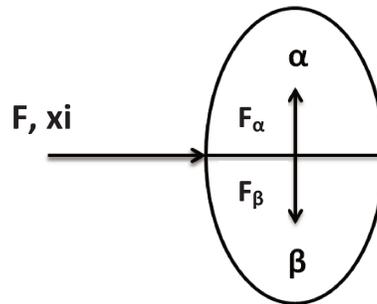


Figura 7: Representação do sistema aquoso bifásico.

Das condições de equilíbrio químico, igualdade de pressão e de temperatura:

$$P_\alpha = P_\beta \quad (39)$$

$$T_\alpha = T_\beta \quad (40)$$

E sabendo-se que o somatório das frações molares de cada composto resulta em 1:

$$\sum x_i^\alpha = \sum x_i^\beta = 1 \quad (41)$$

Com a conservação de massa:

$$F = F_\alpha + F_\beta \quad (40)$$

$$Fx_i = F_\alpha x_i^\alpha + F_\beta x_i^\beta \quad (41)$$

A partir da equação 40:

$$F_\beta = F - F_\alpha \quad (42)$$

Substituindo na equação 41:

$$Fx_i = Fx_i^\beta - F_\alpha x_i^\beta + F_\alpha x_i^\alpha \quad (43)$$

Isolando x_i^α :

$$x_i^\alpha = \frac{Fx_i - Fx_i^\beta + F_\alpha x_i^\beta}{F_\alpha} \quad (44)$$

Que rearranjando:

$$x_i^\alpha = \frac{F}{F_\alpha} x_i + \left(1 - \frac{F}{F_\alpha}\right) x_i^\beta \quad (45)$$

Chamando de R a razão F/F_α :

$$R = \frac{F_\alpha}{F} \quad (46)$$

E das condições de equilíbrio químico:

$$x_i^\alpha \gamma_i^\alpha = x_i^\beta \gamma_i^\beta \quad (14)$$

$$K_i = \frac{x_i^\alpha}{x_i^\beta} = \frac{\gamma_i^\beta}{\gamma_i^\alpha} \quad (47)$$

Substituindo na equação 45, obtém-se:

$$x_i^\alpha = \frac{x_i K_i}{1 + R(K_i - 1)} \quad (48)$$

E analogamente:

$$x_i^\beta = \frac{x_i}{1 + R(K_i - 1)} \quad (49)$$

Assim, a partir da equação 41:

$$\sum x_i^\alpha - \sum x_i^\beta = 0 \quad (50)$$

Substituindo-se os valores de x_i^α e x_i^β :

$$\sum \frac{x_i K_i}{1 + R(K_i - 1)} - \sum \frac{x_i}{1 + R(K_i - 1)} = 0 \quad (51)$$

Obtém-se:

$$\sum \frac{x_i (1 - K_i)}{1 + R(K_i - 1)} = 0 \quad (52)$$

Que também é conhecida como equação de Rachford-Rice, a qual também é aplicada em cálculos de destilação em flash. Sua solução se inicia com os cálculos dos coeficientes de atividade, a partir de valores de pressão e temperaturas conhecidos, para se encontrar K_i . Em seguida principia-se um processo iterativo para a resolução da equação testando-se valores para R e verificando se a igualdade 52 é verdadeira. Caso não seja, testa-se outro valor para R , caso seja alcançou-se a solução da equação.

Com os valores de R , conhecendo-se F , é possível calcular F_α e F_β a partir da equação 46. E com tais valores, sabendo-se a composição de entrada x_i , determina-se $x_{i\alpha}$ e $x_{i\beta}$, resolvendo-se

assim todas as incógnitas do sistema, podendo partir para o próximo bloco de cálculos, conforme ilustrado a seguir.

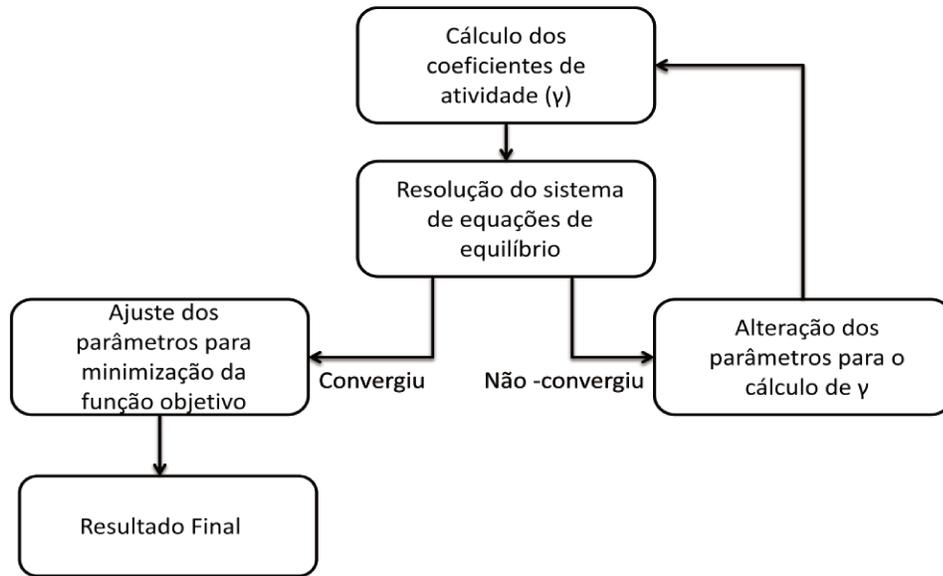


Figura 8: Representação do algoritmo utilizado na segunda etapa de cálculos.

3.2.4 Minimização da Função Objetivo

Os dados experimentais de equilíbrio líquido-líquido são utilizados para os cálculos dos parâmetros dos modelos utilizados a partir da minimização da seguinte função objetivo:

$$F.O. = \sum_{i=1} \sum_{j=1} (|w_{j\text{-calculado}} - w_{j\text{-experimental}}|) \quad (53)$$

Para a minimização de tal função foi utilizado o método de busca dourada (Golden search method). Esse método é baseado na busca bissecional e inicialmente foi planejado para uma operação unidimensional, ou seja, para um único parâmetro.

No método da bissecção, têm-se dois pontos, a e b , e inicia-se analisando a função no ponto intermediário x , para em seguida ser obtido um intervalo menor do que o inicial, sendo ele $a-x$ ou $x-b$. Esse processo continua até que o intervalo obtido seja aceitavelmente pequeno, i.e. a distância entre os pontos é significante menor que a diferença dos valores obtido pela função.

Para um problema de minimização dos valores de uma determinada função, é necessário um *triplet* de pontos (a, b, c) , tal que $f(b)$ seja menor que $f(c)$ e $f(a)$. Sendo garantido assim que há um mínimo para a função no intervalo entre a e c . Assim, analogamente ao método da bissecção, escolhe-se um valor x , tal que x esteja entre a e b ou entre b e c . E em seguida avalia-se o valor de $f(x)$. Considerando-se que tenha sido escolhido um valor de x entre b e c , se $f(b) < f(x)$, então o novo triplet será (a, b, x) , figura 9(a), no entanto, se $f(b) > f(x)$ o novo triplet será (b, x, c) , figura 9(b). Para os valores de x escolhidos entre a e b , analogamente, se $f(b) < f(x)$ o novo triplet será (x, b, c) , figura 9(c), e se $f(b) > f(x)$ o novo triplet é (a, x, c) , figura 9(d) (Leephakpreeda, 2000).

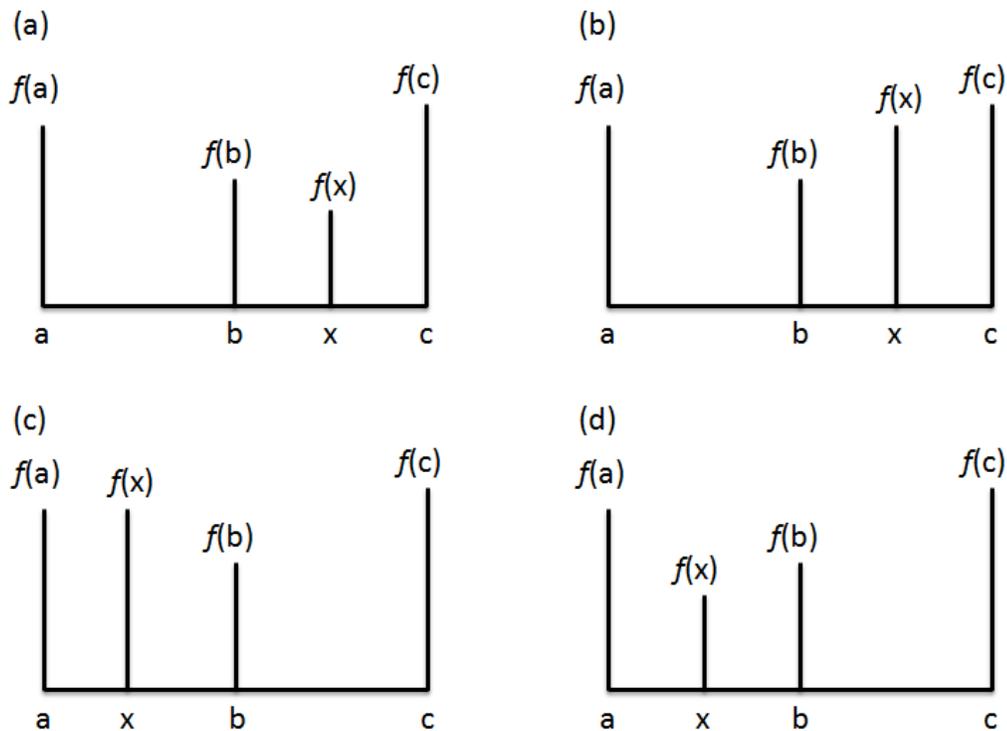


Figura 9: Representação dos pontos do triplet (a,b,c) e suas respectivas funções $f(a)$, $f(b)$ e $f(c)$, bem como o valor de teste x sua função $f(x)$.

Uma maneira simples de se memorizar qual triplet deve-se adotar em seguida, é manter em mente que o ponto intermediário do triplet é sempre o valor mínimo da função. Assim, segue-se dividindo os intervalos até se obter um valor tolerável entre as distâncias dos extremos do sistema.

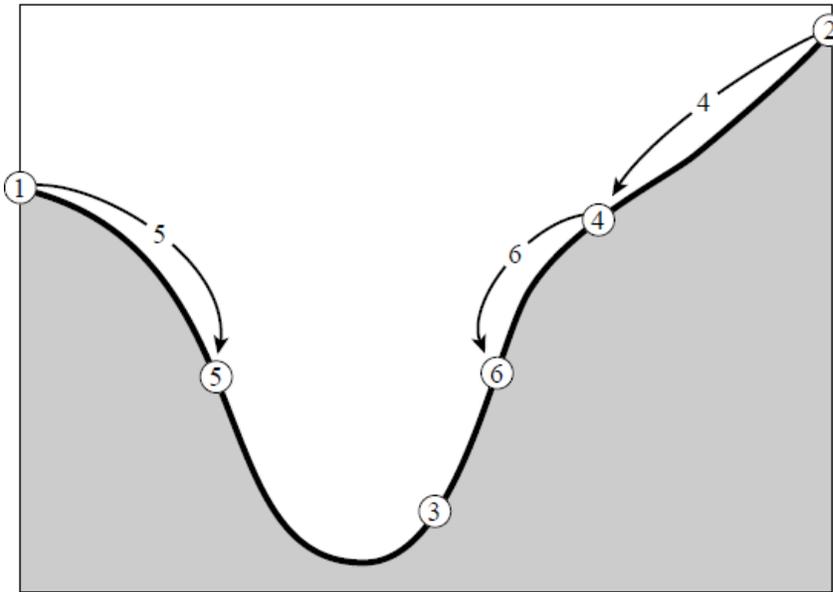


Figura 10: Representação da busca de mínimos pelo método Golden Search.

Uma estratégia para se selecionar o novo ponto x a ser testado como mínimo da função, dados (a, b, c) . Supondo que b está a uma fração w de a e c :

$$\frac{b-a}{c-a} = w \quad (54)$$

Ou seja,

$$\frac{c-b}{c-a} = 1-w \quad (55)$$

Supondo também que o novo ponto a ser testado x está a uma fração z de b :

$$\frac{x-b}{c-a} = z \quad (56)$$

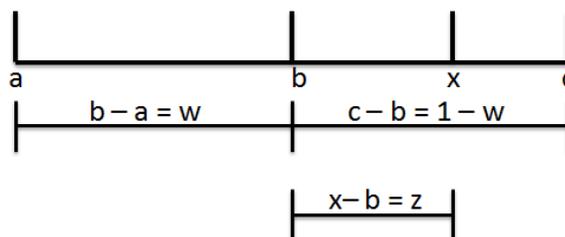


Figura 11: Ilustração de w e z . Quando $c - a$ possui o valor de uma unidade, $b - a = w$ e $x - b = z$.

O próximo comprimento do intervalo será ou $w + z$ ou $1 - w$. Para se minimizar o pior cenário (que se propaga o maior intervalo), escolhe-se z conforme a igualdade abaixo:

$$z = 1 - 2w \quad (57)$$

Dado a escolha de z como ponto de ótimo para minimização do esforço computacional para localizar o mínimo de determinada função, w também deve ser escolhido para minimizar tal esforço, assim a distância de x para b e c deve estar na mesma fração que a distância de b para a e c , ou seja:

$$\frac{z}{1 - w} = w \quad (58)$$

Substituindo as duas equações acima, obtém-se:

$$w^2 - 3w + 1 = 0 \quad (59)$$

Que resolvendo:

$$w = \frac{3 - \sqrt{5}}{2} \approx 0,38197 \quad (60)$$

Em suma, o intervalo ótimo (a , b , c) tem o ponto intermediário b a uma fração de 0,38197 de um dos extremos e a 0,61803 do outro extremo. Essa fração é popularmente conhecida como a proporção dourada ou proporção áurea, cujas propriedades estéticas datam dos primeiros discípulos de Pitágoras e são constantemente utilizadas como modelos artísticos e encontradas na natureza (proporção entre abelhas fêmeas e machos em colmeias, a proporção das espirais das sementes de girassol e das conchas de caramujos, por exemplo) (Lipovetsky e Lootsma, 2000).

Até agora foi analisado o caso para um único parâmetro. Para a minimização da função real, esta composta por múltiplas variáveis, foi utilizada uma abordagem linear, de forma que dada a seguinte função, sendo P os parâmetros desta:

$$f(P_1, P_2, P_3, \dots, P_n) \quad (61)$$

O passo inicial é estimar os valores de $P_1, P_2, P_3, \dots, P_n$, para em seguida minimizar a função conforme o algoritmo da busca dourada para os parâmetros em ordem $P_1, P_2, P_3, \dots, P_n$ obtendo-se novos parâmetros do sistema $P'_1, P'_2, P'_3, \dots, P'_n$.

$$f'(P'_1, P'_2, P'_3, \dots, P'_n) \quad (62)$$

A próxima etapa é minimizar a função com os parâmetros já calculados e encontrando-se novos valores para estes. Repete-se o processo até que a função encontre o seu mínimo. Conforme ilustrado na figura 12 abaixo.

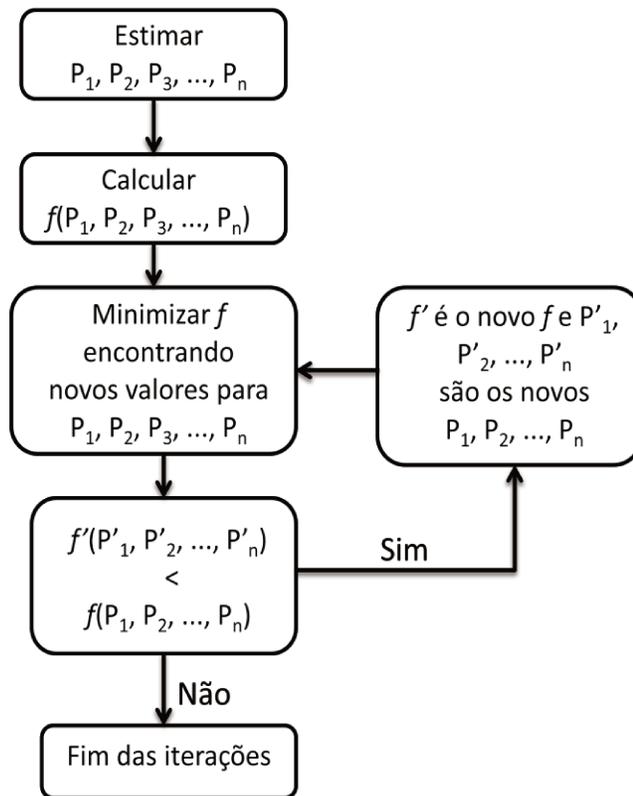


Figura 12: Representação do método iterativo de minimização da função objetivo com múltiplos parâmetros.

É importante ressaltar a influência da escolha do ponto inicial b para que se atinjam valores mínimos da função objetivo uma vez que o método encontra com facilidade mínimos locais da equação. Dessa forma, dada à complexidade que envolve os cálculos dos coeficientes de atividade com operações que abrangem múltiplos parâmetros e expressões logarítmicas é

fundamental a estimativa de diversos pontos de partida para os cálculos, garantindo-se que, ainda que não se possa assegurar matematicamente que foi atingido o mínimo global da função, obtve-se uma boa aproximação do que seria este valor.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Curvas Binodais

Foram estudados os equilíbrios de fase líquido-líquido do sistema PEG-Sulfato de Amônio a diferentes temperaturas e a diferentes massas molares do polímero, obtendo-se os conjuntos de dados mostrados pelas tabelas presentes em anexo, A1, A2, A3, A4, A5 e A6:

Assim, pode-se analisar a influência da temperatura e da massa do polímero nesses sistemas observando-se as figuras 13 e 14:

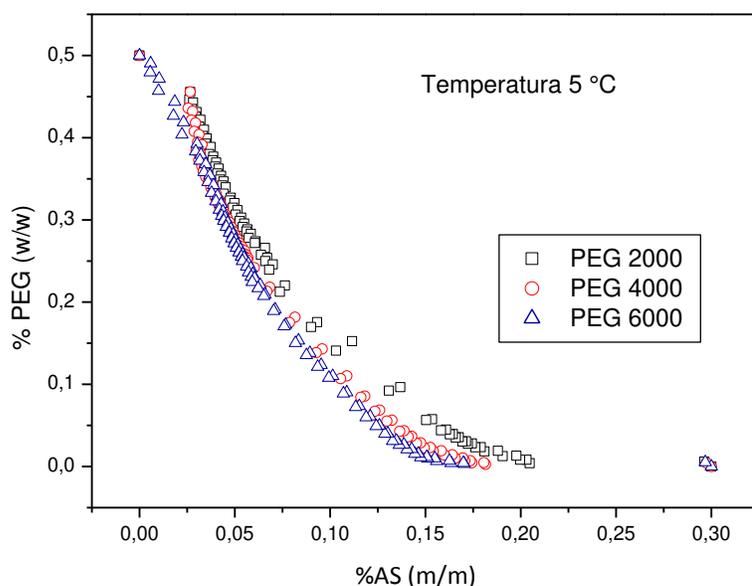


Figura 13: Comparação entre as curvas binodais de PEG 2000, PEG 4000 e PEG 6000 a 5°C.

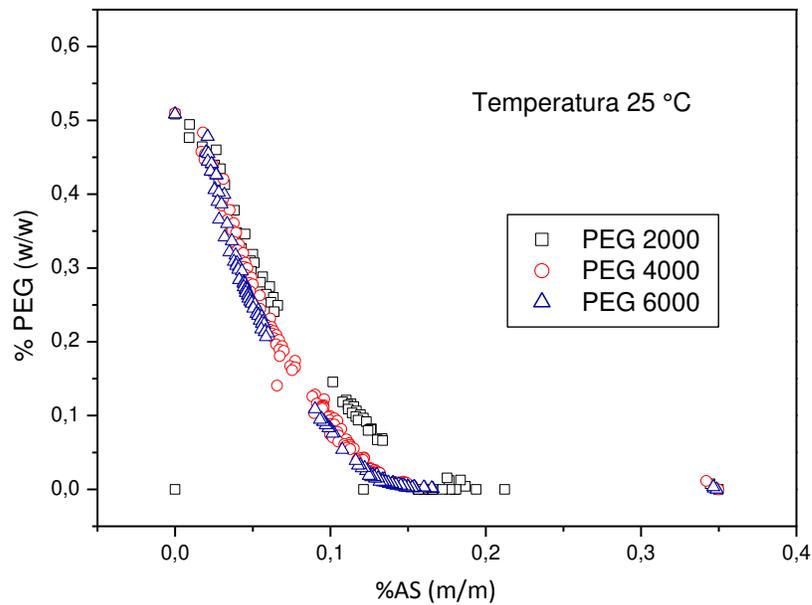


Figura 14: Comparação entre as curvas binodais de PEG 2000, PEG 4000 e PEG 6000 a 25°C.

A partir das figuras apresentadas pode-se observar que há um pequeno aumento na separação das fases quanto maior a massa de polietilenoglicol pois a curva binodal se aproxima mais do ponto 0,0. Entretanto, não foi observada uma grande diferença entre as curvas quando se comparada as curvas de 5°C e 25°C como pode ser observado nas figuras 15, 16 e 17.

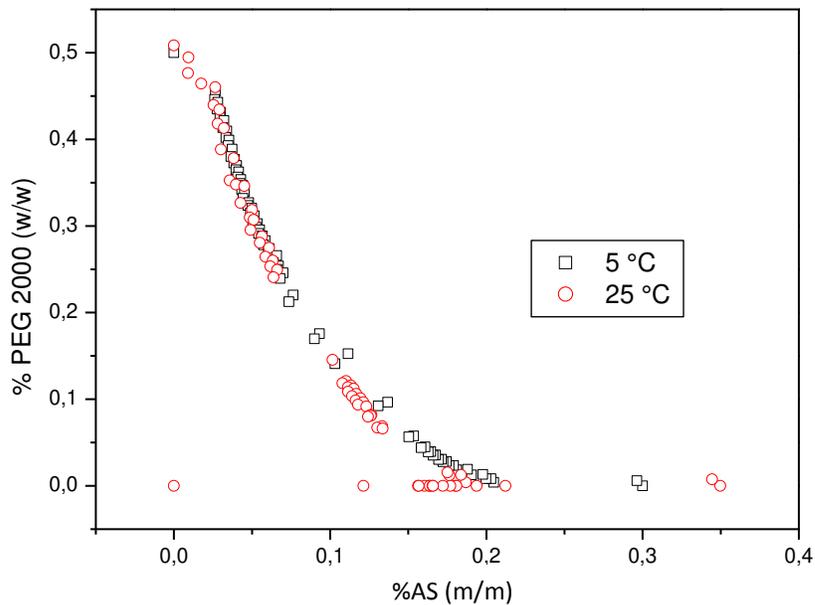


Figura 15: Comparação entre as curvas binodais de PEG 2000 a 5°C e a 25°C.

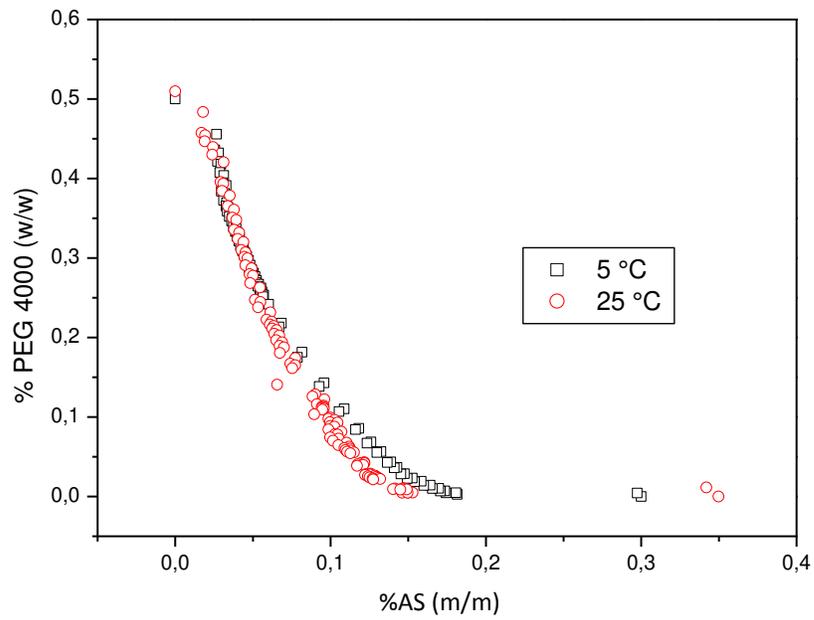


Figura 16: Comparação entre as curvas binodais de PEG 4000 a 5°C e a 25°C.

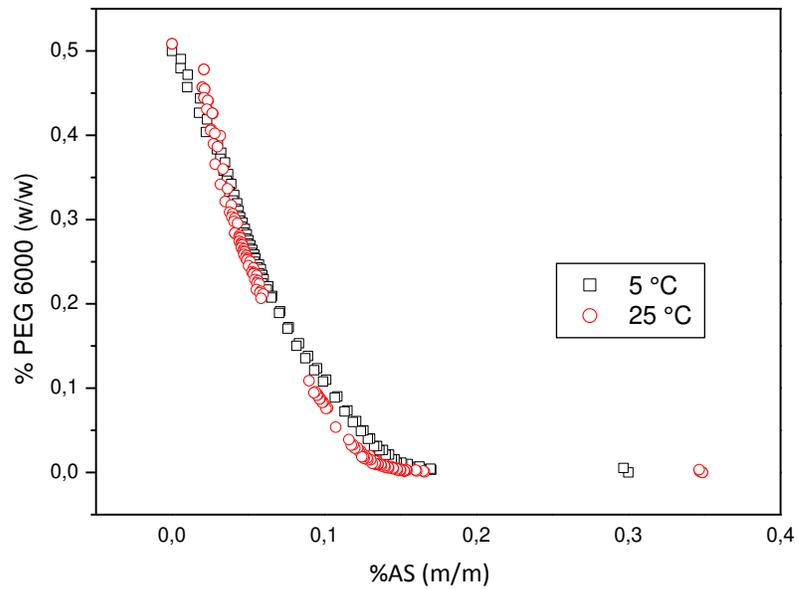


Figura 17: Comparação entre as curvas binodais de PEG 6000 a 5°C e a 25°C.

4.2 Validação do Modelo

Para a validação dos modelos utilizados foram utilizados dados experimentais de Sé e Aznar (2002) que realizaram experimentos utilizando PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C, conforme visto na tabela 2.

Tabela 3. Dados experimentais para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.

Global(w)			Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0148	0,0005	0,9846	0,0370	0,1855	0,7775	0,1480	0,0013	0,8507
0,0159	0,0005	0,9836	0,0387	0,1887	0,7726	0,1578	0,0023	0,8399
0,0168	0,0005	0,9826	0,0359	0,2068	0,7573	0,1692	0,0013	0,8295
0,0174	0,0006	0,9819	0,0344	0,2169	0,7487	0,1758	0,0010	0,8232
0,0184	0,0006	0,9808	0,0322	0,2339	0,7339	0,1872	0,0006	0,8122
0,0186	0,0006	0,9807	0,0320	0,2360	0,7320	0,1886	0,0006	0,8108
0,0187	0,0006	0,9805	0,0316	0,2390	0,7294	0,1907	0,0005	0,8088
0,0211	0,0007	0,9781	0,0298	0,2502	0,7200	0,2156	0,0008	0,7836
0,0199	0,0007	0,9792	0,0286	0,2530	0,7184	0,2037	0,0005	0,7913
0,0196	0,0007	0,9795	0,0301	0,2560	0,7139	0,2000	0,0003	0,7997
0,0202	0,0007	0,9790	0,0293	0,2604	0,7103	0,2054	0,0003	0,7943
0,0212	0,0007	0,9779	0,0303	0,2685	0,7012	0,2135	0,0003	0,7862
0,0214	0,0008	0,9776	0,0276	0,2770	0,6954	0,2176	0,0002	0,7822
0,0243	0,0009	0,9747	0,0247	0,3128	0,6625	0,2426	0,0008	0,7566
0,0264	0,0010	0,9725	0,0245	0,3178	0,6577	0,2615	0,0041	0,7344
0,0251	0,0010	0,9739	0,0241	0,3216	0,6543	0,2490	0,0010	0,7500
0,0276	0,0011	0,9711	0,0224	0,3501	0,6275	0,2694	0,0019	0,7287
0,0295	0,0012	0,9692	0,0214	0,3703	0,6083	0,2838	0,0001	0,7161
0,0325	0,0013	0,9661	0,0201	0,3986	0,5813	0,3041	0,0012	0,6947
0,0329	0,0013	0,9656	0,0199	0,4034	0,5767	0,3075	0,0005	0,6920
0,0355	0,0014	0,9630	0,0210	0,4106	0,5684	0,3240	0,0054	0,6706
0,0407	0,0016	0,9575	0,0198	0,4563	0,5239	0,3547	0,0024	0,6429
0,0438	0,0018	0,9543	0,0193	0,4811	0,4996	0,3717	0,0012	0,6271

Tais dados foram comparados com os obtidos pelos modelos implementados nos algoritmos desenvolvidos. Os resultados foram então comparados, conforme pode ser visto a seguir.

Para o modelo NRTL os dados obtidos estão apresentados na tabela 3 e podem ser visualizados na figura 18 em comparação com os dados experimentais. Os parâmetros ajustados foram alfa, parâmetro de aleatoriedade do sistema, e A, parâmetro de interação entre os

componentes do sistema, que juntos totalizam 12 parâmetros e podem ser observados nas tabela 4.

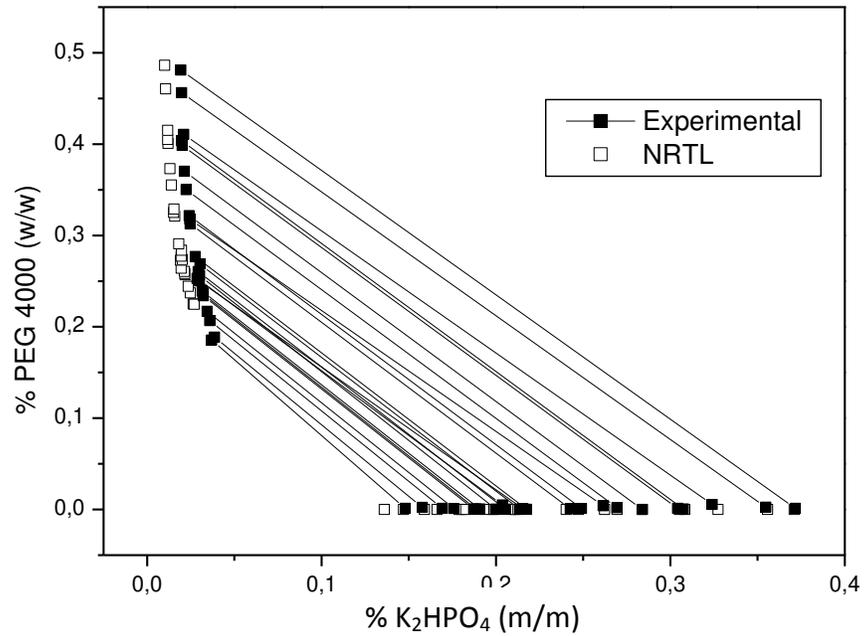


Figura 18: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo NRTL.

É possível observar uma boa aproximação entre os dados experimentais e os calculados pelo modelo, o que indica uma boa adequação da modelagem aos dados experimentais.

Tabela 4. Dados obtidos pelo modelo NRTL para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.

NRTL					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0265	0,2249	0,7486	0,1355	1,68.10 ⁻³³	0,8645
0,0270	0,2246	0,7484	0,1467	9,75E-36	0,8533
0,0247	0,2370	0,7382	0,1590	7,97E-40	0,8410
0,0236	0,2444	0,7320	0,1663	3,68E-42	0,8337
0,0218	0,2569	0,7213	0,1788	4,88E-46	0,8212
0,0217	0,2584	0,7199	0,1804	1,74E-46	0,8196
0,0214	0,2606	0,7181	0,1827	3,38E-47	0,8173
0,0195	0,2642	0,7163	0,2109	7,23E-55	0,7891
0,0192	0,2729	0,7079	0,1982	3,34E-52	0,8018
0,0202	0,2736	0,7062	0,1930	3,62E-50	0,8070
0,0195	0,2773	0,7032	0,1991	5,73E-52	0,8009
0,0197	0,2838	0,6965	0,2086	1,18E-53	0,7914
0,0182	0,2907	0,6911	0,2126	7,71E-56	0,7874
0,0158	0,3212	0,6630	0,2403	1,89E-63	0,7597
0,0152	0,3252	0,6596	0,2623	8,45E-69	0,7377
0,0153	0,3290	0,6557	0,2473	2,51E-65	0,7527
0,0139	0,3553	0,6308	0,2695	3,71E-71	0,7305
0,0131	0,3730	0,6139	0,2840	6,08E-75	0,7160
0,0119	0,4008	0,5872	0,3051	2,08E-80	0,6949
0,0118	0,4050	0,5832	0,3083	3,09E-81	0,6917
0,0118	0,4150	0,5732	0,3273	4,65E-85	0,6727
0,0106	0,4604	0,5289	0,3557	4,67E-92	0,6443
0,0101	0,4863	0,5036	0,3710	9,56E-96	0,6290

Tabela 5. Parâmetros estimados para o modelo NRTL.

<i>i-j</i>	A_{ij}	A_{ji}	α_{ij}
K ₂ HPO ₄ - PEG 4000	-1651,98	5226,21	0,313
K ₂ HPO ₄ - Água	1054,15	1469,27	0,47
PEG 4000 - Água	8262,78	6029,41	0,2

Para o modelo UNIQUAC foram ajustados 6 parâmetros, τ , que podem ser observados na tabela 6, e contribuem para o cálculo da parte residual do modelo, representando as influências entálpicas no sistema. Os dados obtidos podem ser visualizados na tabela 5 e uma comparação com os dados experimentais é feito na figura 19.

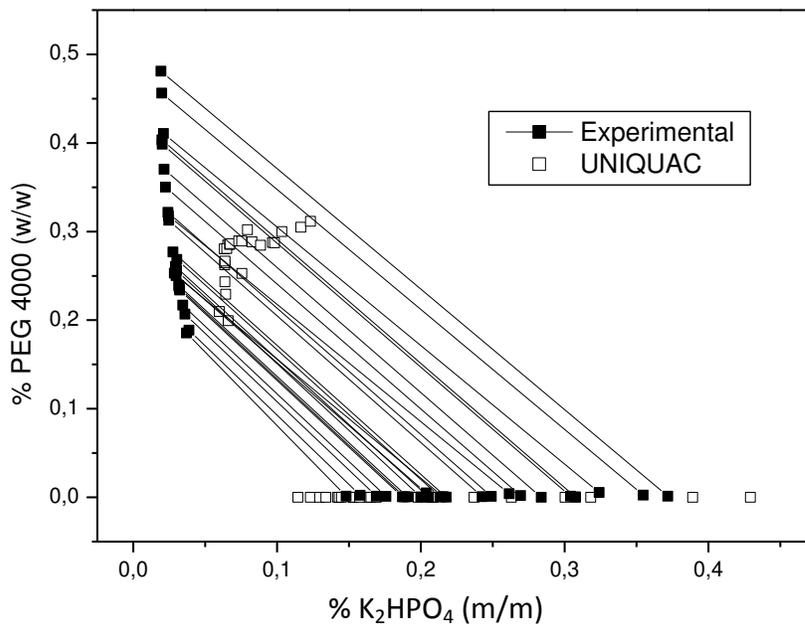


Figura 19: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.

Nota-se que para valores de PEG de até 0,3 m/m os dados apresentaram um bom comportamento em comparação com os dados experimentais. A partir desse ponto no entanto há um comportamento anômalo proveniente, muito possivelmente, dos efeitos dos íons potássio e Fosfato nos cálculos do modelo.

Segundo Gao et al. (1991) para o sistema PEG/Sulfato de Amônio/Água a divisão de grupos Sulfato e Amônio não interfere nos cálculos da contribuição combinatorial dos coeficientes de atividade nos modelos UNIFAC e UNIQUAC. Tal fato não foi observado em um sistema PEG/Fosfato de potássio/Água, como pode ser observado acima, entretanto, para menores concentrações de PEG o sistema apresentou resultados satisfatórios e tais dados são a grande maioria dos pontos experimentais a serem trabalhados mais adiante.

Tabela 6. Dados obtidos pelo modelo UNIQUAC para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.

UNIQUAC					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0598	0,2098	0,7304	0,1145	8,64E-16	0,8855
0,0660	0,1993	0,7347	0,1231	4,83E-16	0,8769
0,0642	0,2292	0,7066	0,1297	8,93E-17	0,8703
0,0638	0,2433	0,6929	0,1340	4,01E-17	0,8660
0,0637	0,2623	0,6741	0,1421	1,23E-17	0,8579
0,0637	0,2645	0,6719	0,1432	1,09E-17	0,8568
0,0638	0,2665	0,6696	0,1448	8,88E-18	0,8552
0,0756	0,2526	0,6718	0,1634	1,04E-18	0,8366
0,0657	0,2849	0,6494	0,1529	1,03E-17	0,8471
0,0633	0,2805	0,6562	0,1529	4,55E-18	0,8471
0,0651	0,2808	0,6542	0,1573	2,94E-18	0,8427
0,0670	0,2853	0,6477	0,1653	2,00E-18	0,8347
0,0673	0,2862	0,6465	0,1690	1,40E-18	0,8310
0,0734	0,2894	0,6372	0,1982	7,07E-19	0,8018
0,0795	0,3020	0,6186	0,2086	4,67E-19	0,7914
0,0754	0,2892	0,6354	0,2066	6,62E-19	0,7934
0,0826	0,2883	0,6291	0,2370	7,86E-19	0,7630
0,0886	0,2844	0,6270	0,2630	5,55E-19	0,7370
0,0968	0,2876	0,6156	0,3004	1,36E-18	0,6996
0,0983	0,2872	0,6145	0,3076	1,26E-18	0,6924
0,1033	0,2999	0,5968	0,3182	2,84E-18	0,6818
0,1166	0,3048	0,5787	0,3891	9,31E-18	0,6109
0,1233	0,3115	0,5652	0,4292	2,66E-17	0,5708

Tabela 7. Parâmetros estimados para o modelo UNIQUAC.

$i-j$	τ_{ij}	τ_{ji}
K ₂ HPO ₄ - PEG 4000	1243,88	-27,62
K ₂ HPO ₄ - Água	-2114,95	-1449,39
PEG 4000 - Água	-120,04	-140,352

Para o método UNIFAC, foram ajustados os parâmetros de interação entre os grupos, conforme observado na tabela 8 e os dados do equilíbrio de fases podem ser verificados na tabela 7. A representação gráfica do comparativo entre os dados calculados e os experimentais é observada na figura 20.

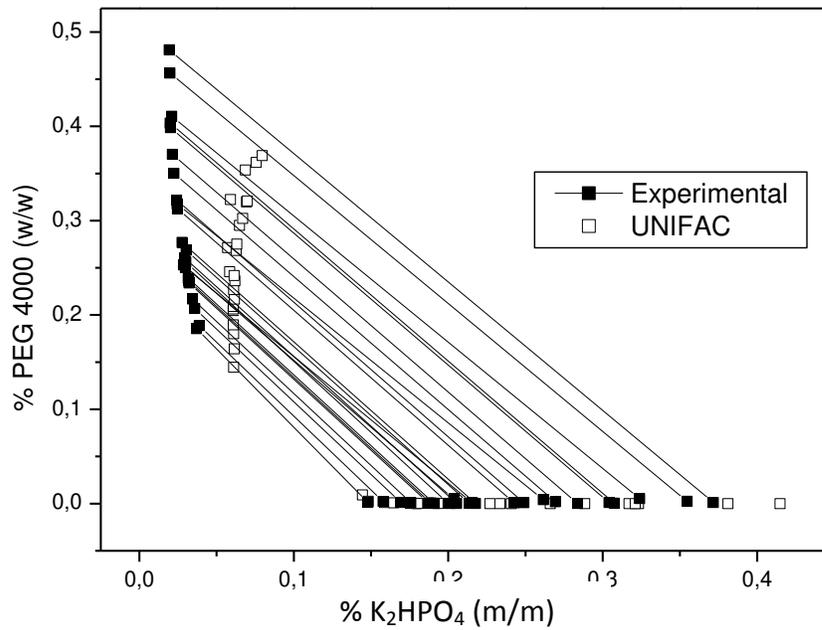


Figura 20: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo UNIFAC.

Assim como o modelo UNIQUAC, os cálculos do modelo UNIFAC não levaram em consideração a influência da separação entre os íons potássio e Fosfato, daí a distância entre os dados da curva experimental e da modelada. Apresentando entretanto, um menor desvio, devido aos cálculos mais precisos das contribuições de grupo na parte residual do coeficiente de atividade.

Tabela 8. Dados obtidos pelo modelo UNIFAC para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.

UNIFAC					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0611	0,1446	0,7944	0,1445	9,17E-03	0,8464
0,0615	0,1642	0,7743	0,1482	2,43E-03	0,8494
0,0611	0,1801	0,7588	0,1588	1,20E-03	0,8400
0,0609	0,1896	0,7496	0,1647	7,63E-04	0,8345
0,0608	0,2047	0,7346	0,1754	3,47E-04	0,8242
0,0608	0,2063	0,7328	0,1768	3,18E-04	0,8229
0,0608	0,2090	0,7302	0,1788	2,71E-04	0,8210
0,0571	0,2715	0,6714	0,1793	5,05E-06	0,8207
0,0585	0,2458	0,6958	0,1802	4,99E-05	0,8198
0,0616	0,2168	0,7217	0,1917	2,00E-04	0,8081
0,0611	0,2269	0,7120	0,1934	9,74E-05	0,8065
0,0619	0,2363	0,7018	0,2013	5,06E-05	0,7987
0,0613	0,2418	0,6969	0,2052	3,77E-05	0,7947
0,0627	0,2684	0,6689	0,2334	6,73E-06	0,7666
0,0590	0,3223	0,6187	0,2270	2,22E-07	0,7730
0,0632	0,2750	0,6618	0,2408	4,24E-06	0,7592
0,0649	0,2949	0,6402	0,2661	1,05E-06	0,7339
0,0669	0,3024	0,6308	0,2884	4,21E-07	0,7116
0,0694	0,3198	0,6109	0,3171	1,12E-07	0,6829
0,0699	0,3208	0,6093	0,3232	9,05E-08	0,6768
0,0687	0,3536	0,5777	0,3211	6,78E-09	0,6789
0,0757	0,3616	0,5627	0,3811	1,39E-09	0,6189
0,0796	0,3689	0,5515	0,4148	5,67E-10	0,5852

Tabela 9. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC.

$i-j$	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	K ₂ HPO ₄
Água	0	-1790,86	2081,205	-2822,19
CH ₂ OH	2493,306	0	-2460,46	-2195,24
CH ₂ OCH ₂	646,7142	800,7595	0	-2489,26
K ₂ HPO ₄	450,014	-2035,57	1348,047	0

Para o método ASOG, foram ajustados os parâmetros de contribuição de grupos Ψ , como pode ser observado na tabela 11. Com tais parâmetros foi calculada a fração mássica de cada um dos componentes das fases do sistema, como pode ser visto na tabela 10 e que estão representados graficamente na figura 21.

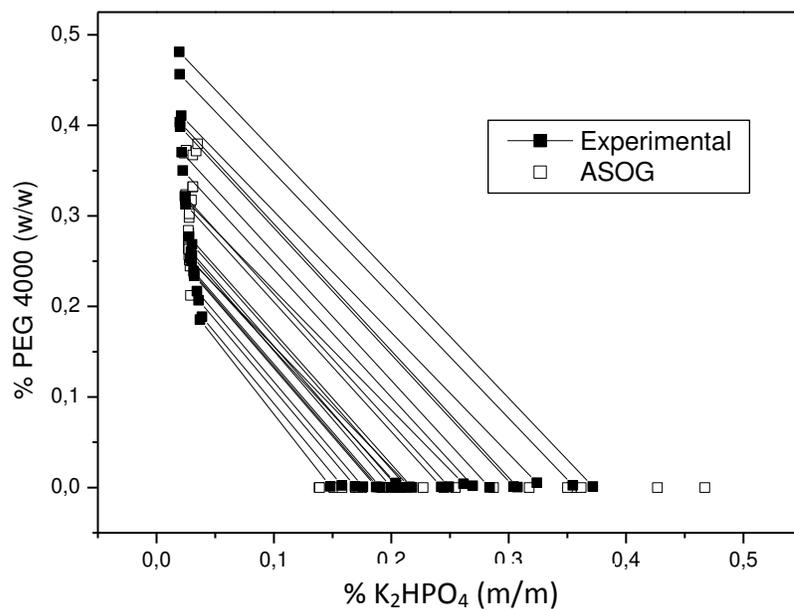


Figura 21: Comparação entre os dados experimentais e os obtidos pelo modelo ASOG.

Tal modelo apresenta a contribuição de grupos a partir da quantidade de átomos presente em cada um destes grupos. O método ASOG é ainda pouco utilizado em publicações científicas quando se comparado a outros métodos, como NRTL, UNIQUAC e UNIFAC, entretanto, como pode ser visto pela figura 21, esse modelo descreveu bem o comportamento do sistema.

Tabela 10. Dados obtidos pelo modelo ASOG para PEG 4000 e Fosfato de potássio a 20°C.

ASOG					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0290	0,2122	0,7589	0,1384	8,01E-11	0,8616
0,0286	0,2444	0,7270	0,1389	5,32E-12	0,8611
0,0279	0,2513	0,7209	0,1511	4,70E-13	0,8489
0,0275	0,2566	0,7159	0,1580	1,19E-13	0,8420
0,0272	0,2642	0,7086	0,1709	1,19E-14	0,8291
0,0272	0,2649	0,7079	0,1727	9,24E-15	0,8273
0,0271	0,2663	0,7066	0,1750	5,94E-15	0,8250
0,0236	0,3693	0,6072	0,1693	1,38E-18	0,8307
0,0249	0,3236	0,6516	0,1722	3,06E-16	0,8278
0,0275	0,2632	0,7093	0,1923	1,77E-15	0,8077
0,0271	0,2750	0,6979	0,1935	3,59E-16	0,8065
0,0275	0,2811	0,6914	0,2031	7,15E-17	0,7969
0,0271	0,2839	0,6890	0,2084	3,14E-17	0,7916
0,0278	0,2982	0,6741	0,2450	4,07E-19	0,7550
0,0252	0,3724	0,6024	0,2271	6,61E-22	0,7729
0,0280	0,3023	0,6697	0,2545	1,32E-19	0,7455
0,0288	0,3153	0,6559	0,2871	4,52E-21	0,7129
0,0297	0,3175	0,6528	0,3176	2,73E-22	0,6824
0,0308	0,3319	0,6373	0,3534	1,05E-23	0,6466
0,0310	0,3322	0,6368	0,3618	5,00E-24	0,6382
0,0309	0,3673	0,6018	0,3501	5,87E-26	0,6499
0,0337	0,3716	0,5947	0,4268	2,26E-28	0,5732
0,0351	0,3795	0,5854	0,4671	9,05E-30	0,5329

Tabela 11. Parâmetros estimados para o modelo ASOG.

<i>i-j</i>	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	K ₂ HPO ₄
Água	1	18,01062	1,776184	3,397682
CH ₂ OH	5,112459	1	4812,495	1,503449
CH ₂ OCH ₂	7462,434	2375,406	1	1,314237
K ₂ HPO ₄	10680,16	2075,717	40,75406	1

4.3 Modelagem das Linhas de Amarração

Foram realizados estudos dos dados experimentais para se identificar o comportamento das linhas de amarração do PEG 2000, 4000 e 6000 para 5°C e 25°C. Tais dados foram representados nas tabelas 11, 12, 13, 14, 15 e 16 abaixo.

Tabela 12. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C.

PEG 2000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0659	0,2218	0,7123	0,1546	0,0391	0,8063
0,0461	0,2658	0,6881	0,1631	0,0277	0,8092
0,055	0,2932	0,6518	0,2497	0,0047	0,7456
0,0427	0,2816	0,6757	0,1774	0,0380	0,7846

Tabela 13. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C.

PEG 2000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0197	0,4683	0,5120	0,2333	0,0421	0,7246
0,0469	0,3148	0,6383	0,1867	0,0249	0,7884
0,0588	0,2480	0,6932	0,1658	0,0281	0,8061
0,0260	0,4044	0,5696	0,2156	0,0324	0,7520
0,0136	0,5289	0,4575	0,2601	0,0444	0,6955

Tabela 14. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C.

PEG 4000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0388	0,3004	0,6608	0,1714	0,0212	0,8074
0,0470	0,2651	0,6879	0,1472	0,0321	0,8207
0,0442	0,2843	0,6715	0,1539	0,0396	0,8065
0,0318	0,3593	0,6089	0,1933	0,0284	0,7783

Tabela 15. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C.

PEG 4000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0367	0,3274	0,6359	0,1669	0,0135	0,8196
0,0192	0,4340	0,5468	0,2214	0,0211	0,7575
0,0434	0,2590	0,6976	0,1442	0,0091	0,8467
0,0231	0,4061	0,5708	0,1991	0,0143	0,7866
0,0604	0,1958	0,7438	0,1262	0,0133	0,8605

Tabela 16. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C.

PEG 6000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0286	0,3803	0,5911	0,2798	0,0144	0,7058
0,0229	0,3587	0,6184	0,2153	0,0013	0,7834
0,0368	0,2726	0,6906	0,1803	0,0024	0,8173
0,0524	0,1891	0,7585	0,1384	0,0018	0,8598
0,0292	0,3417	0,6291	0,2534	0,0218	0,7248

Tabela 17. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C.

PEG 6000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0659	0,2218	0,7123	0,1546	0,0391	0,8063
0,0461	0,2658	0,6881	0,1631	0,0277	0,8092
0,0550	0,2932	0,6518	0,2497	0,0047	0,7456
0,0427	0,2816	0,6757	0,1774	0,0380	0,7846

Após realizada a validação dos modelos estudados, as linhas de amarração foram calculadas por tais métodos e comparadas com os dados experimentais conforme observado a seguir.

Os dados referentes aos pontos calculados pelos modelos para a construção das figuras 22 – 45 estão presentes nas tabelas A7 – A30 expostas em anexo.

4.3.1 Linhas de Amarração - NRTL

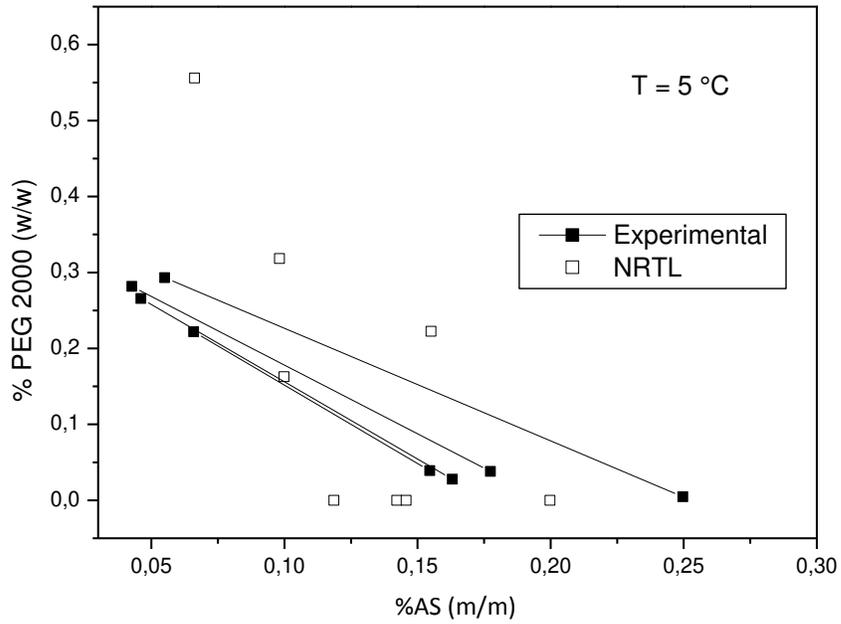


Figura 22: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo NRTL.

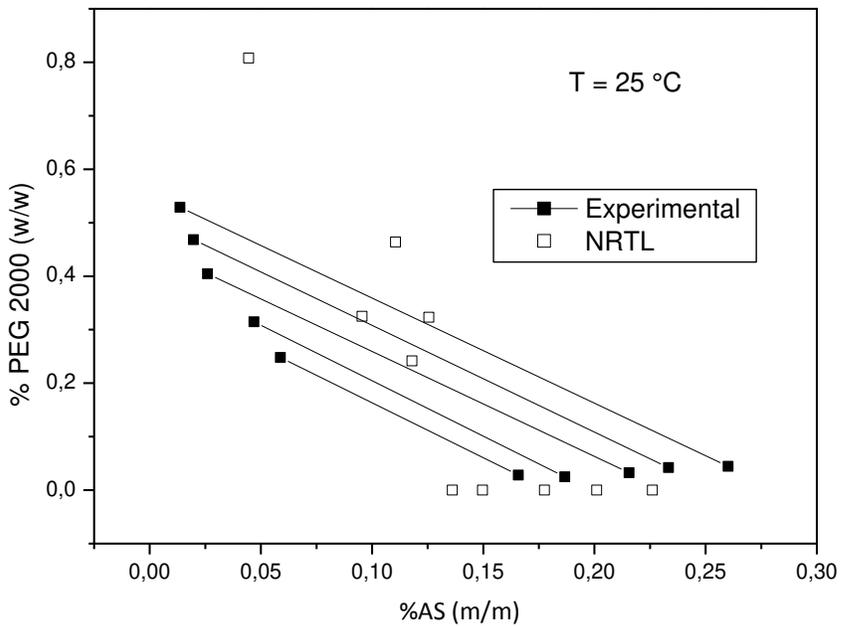


Figura 23: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo NRTL.

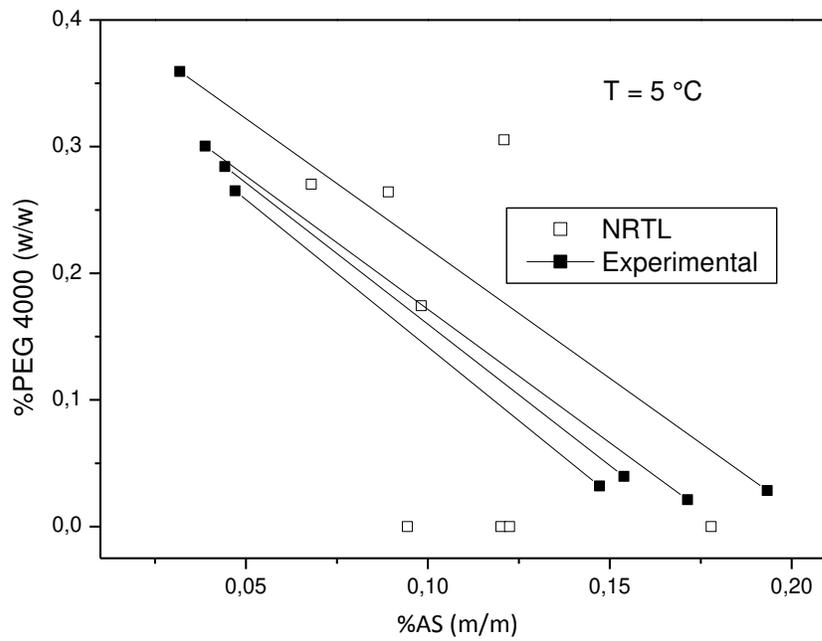


Figura 24: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo NRTL.

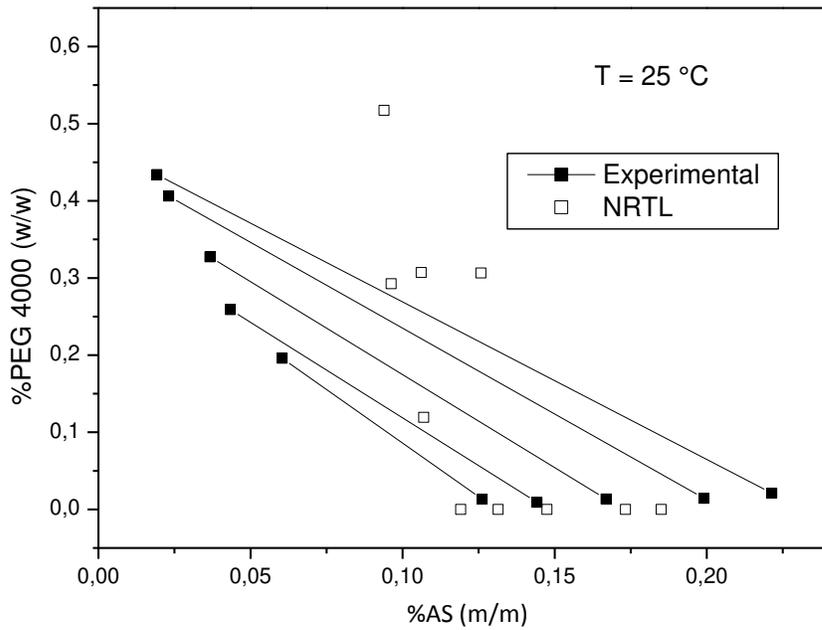


Figura 25: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo NRTL.

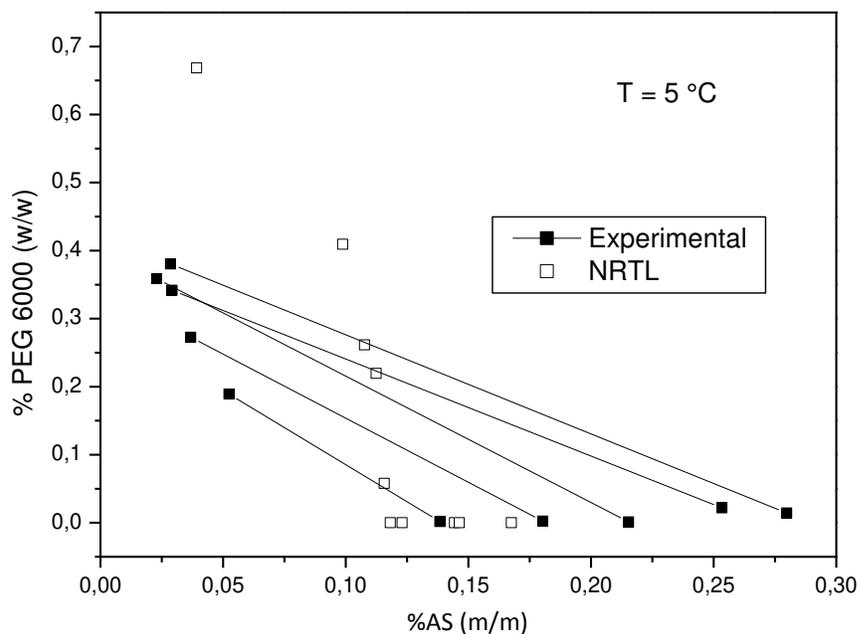


Figura 26: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo NRTL.

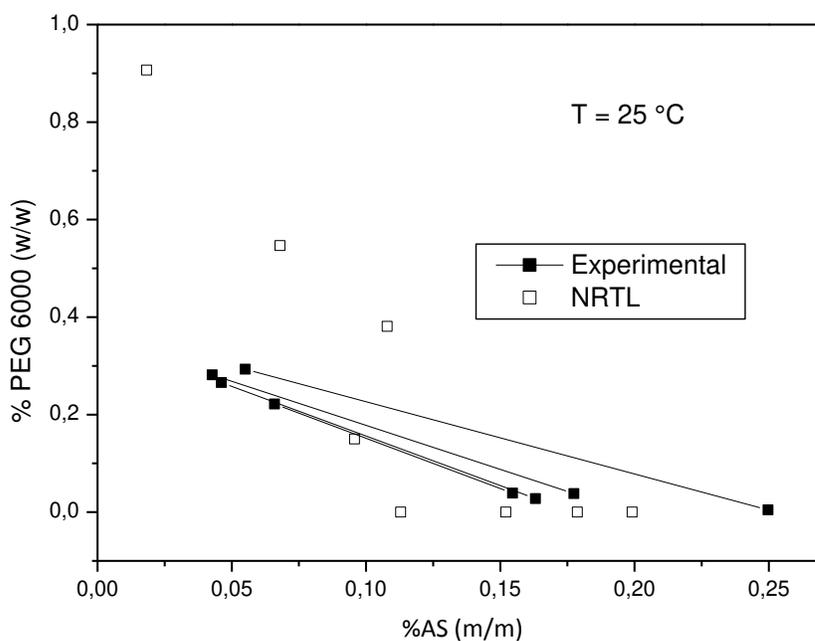


Figura 27: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo NRTL.

4.3.2 Linhas de Amarração - UNIQUAC

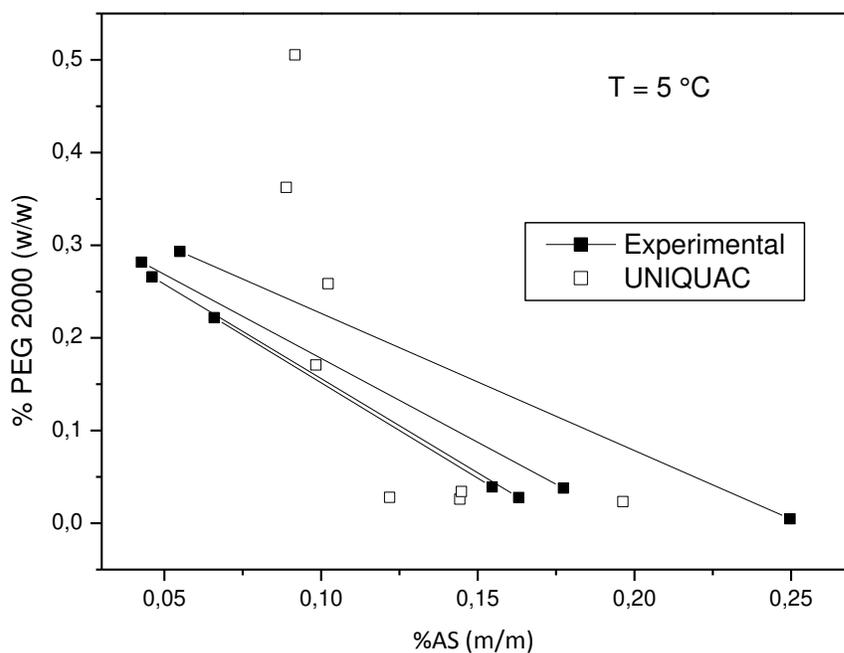


Figura 28: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.

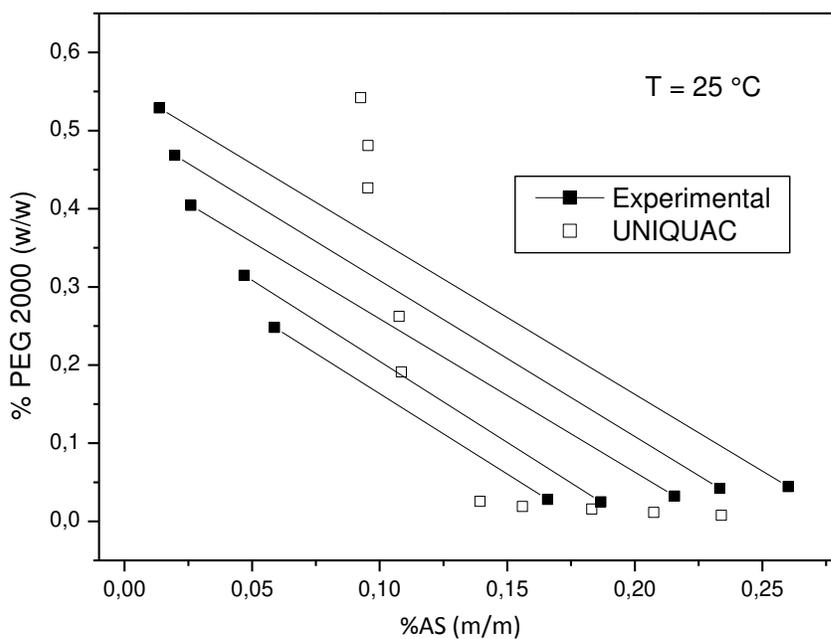


Figura 29: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.

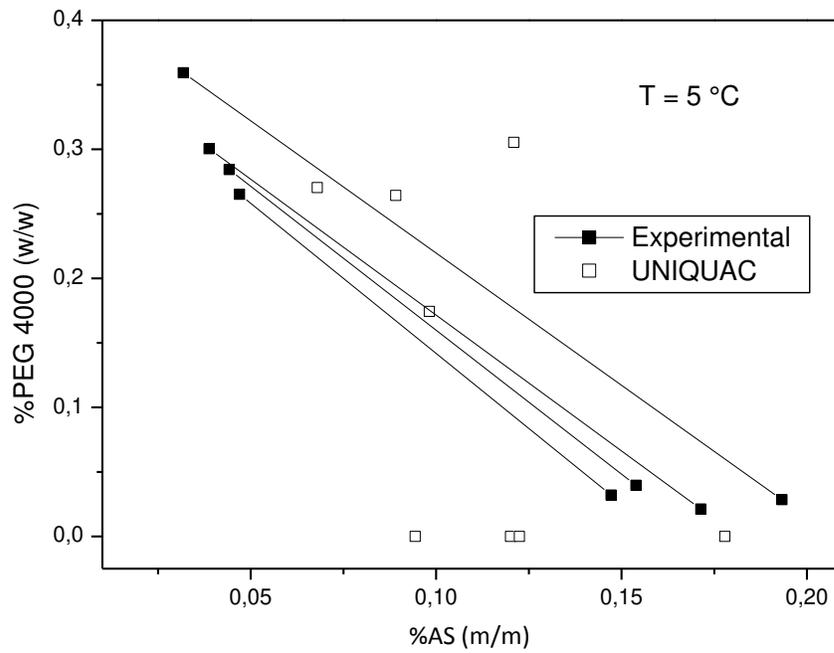


Figura 30: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.

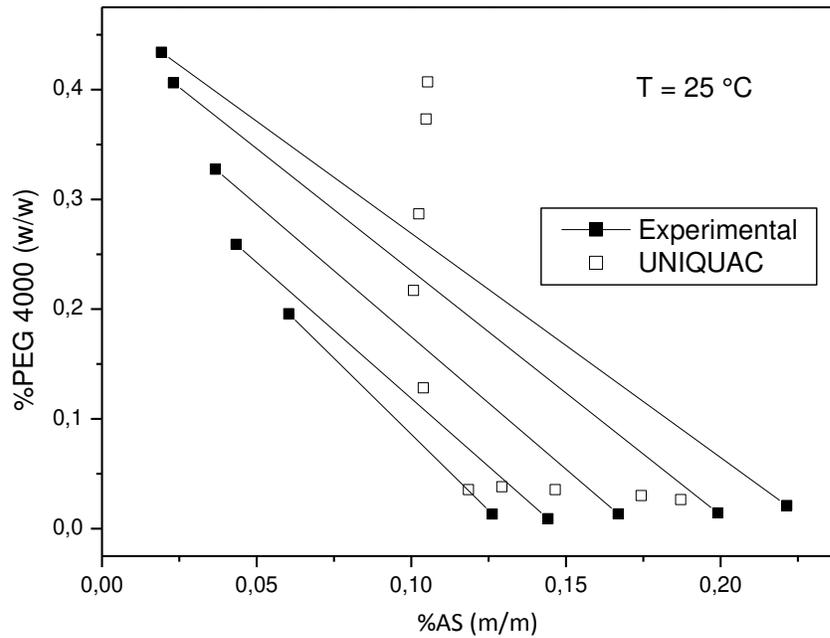


Figura 31: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.

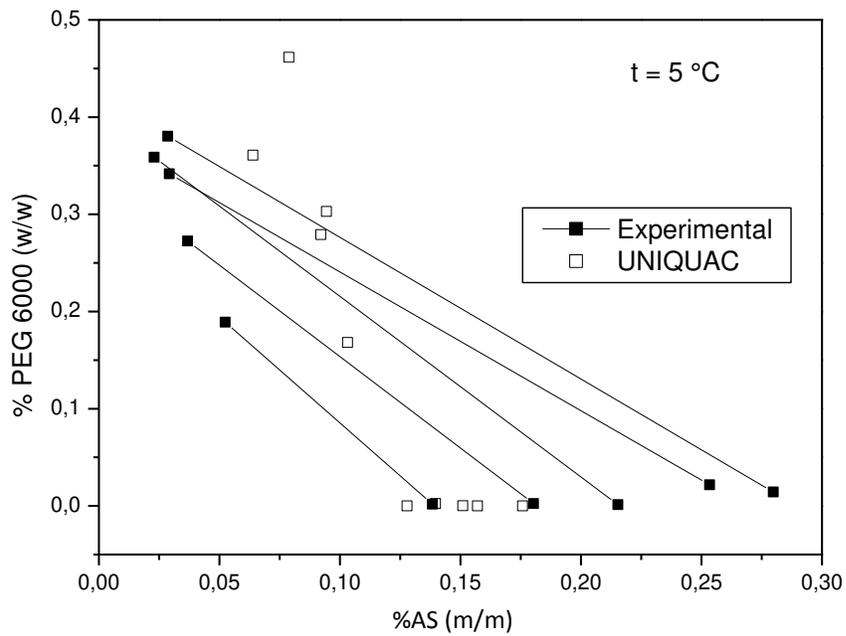


Figura 32: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.

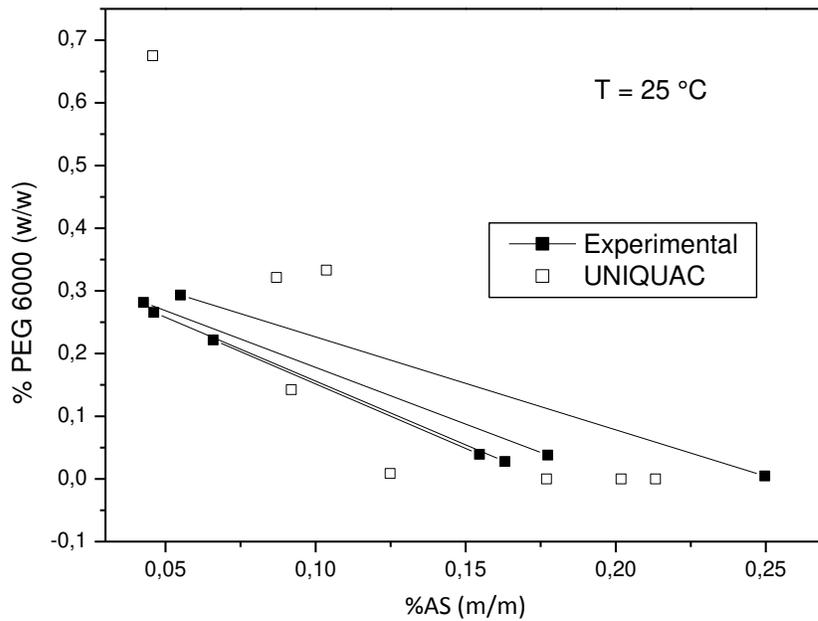


Figura 33: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIQUAC.

4.3.3 Linhas de Amarração – UNIFAC

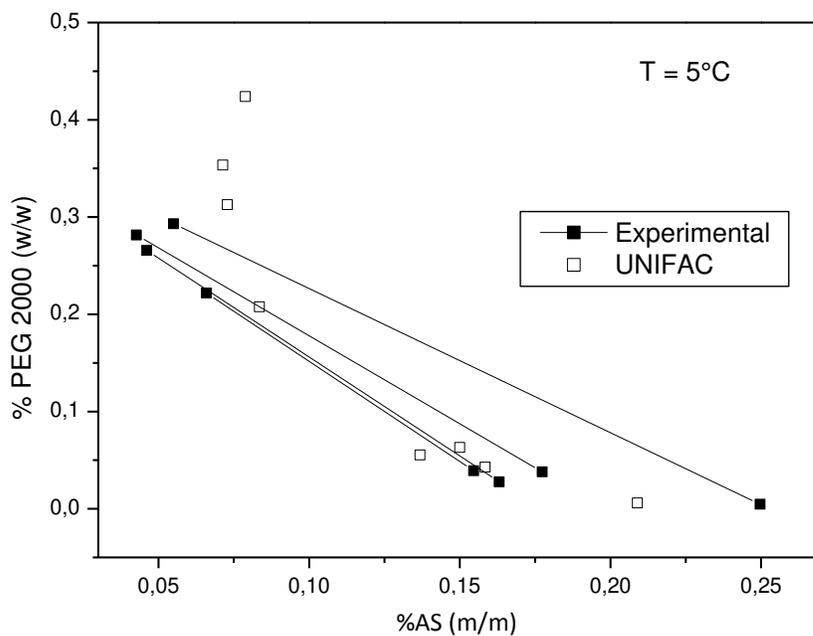


Figura 34: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.

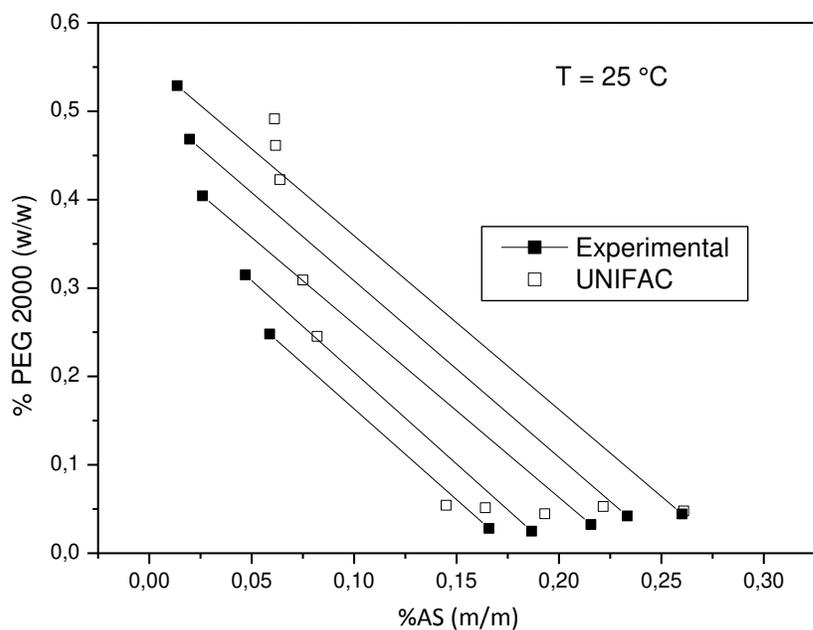


Figura 35: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.

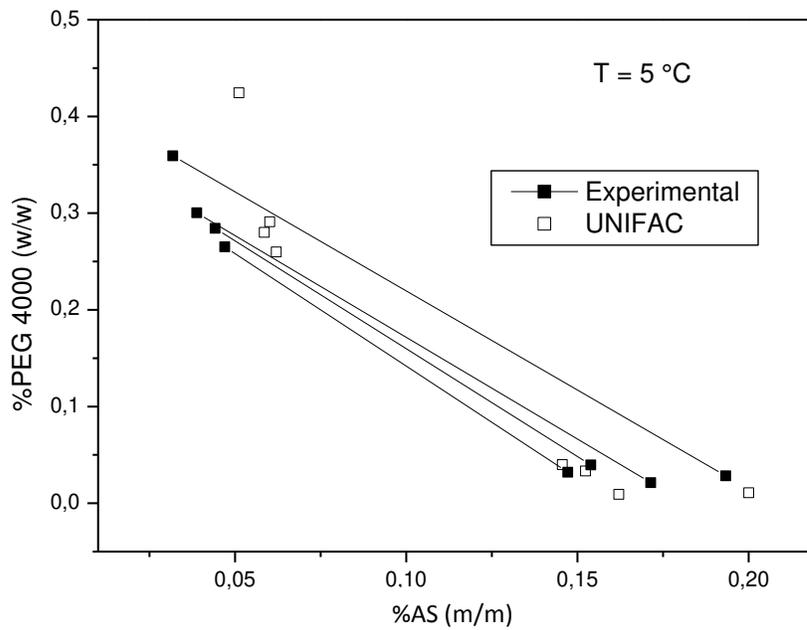


Figura 36: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.

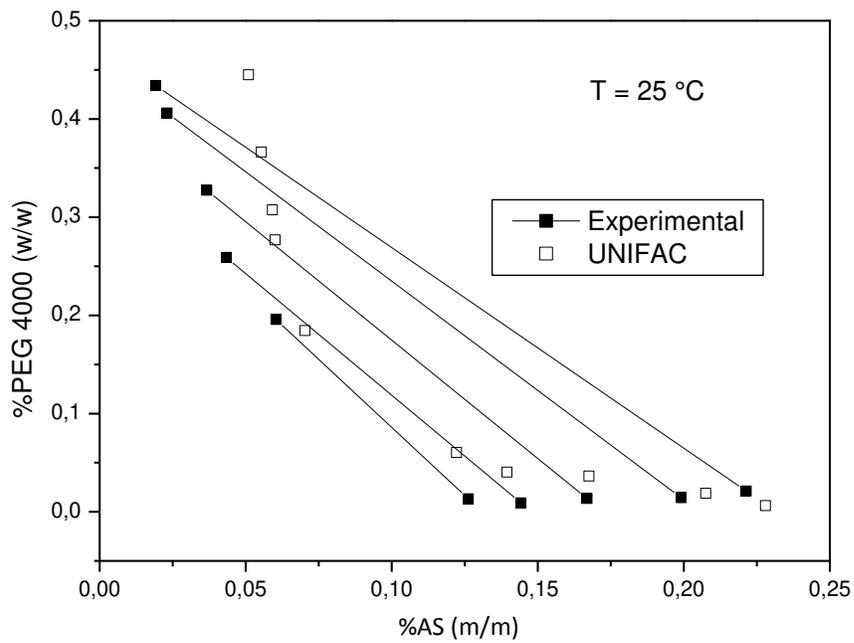


Figura 37: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.

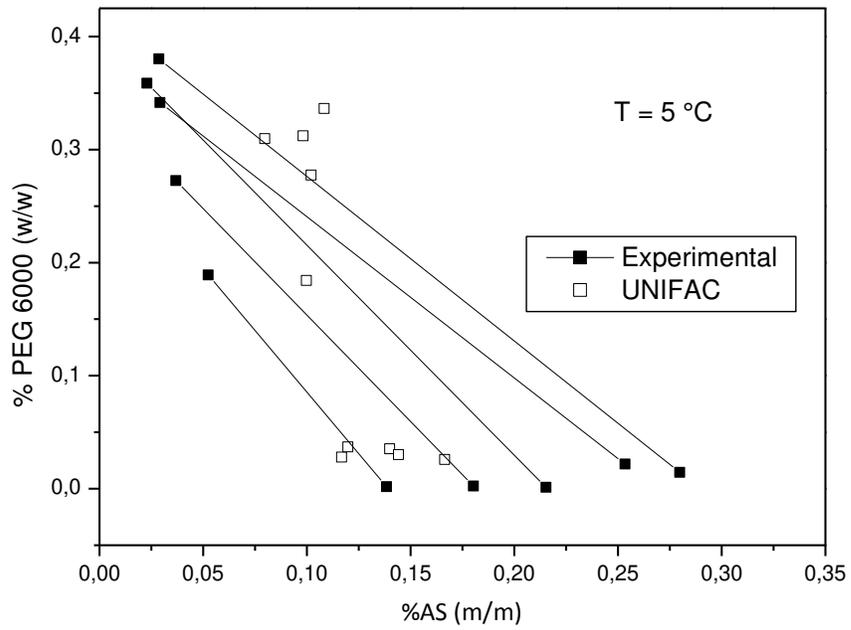


Figura 38: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.

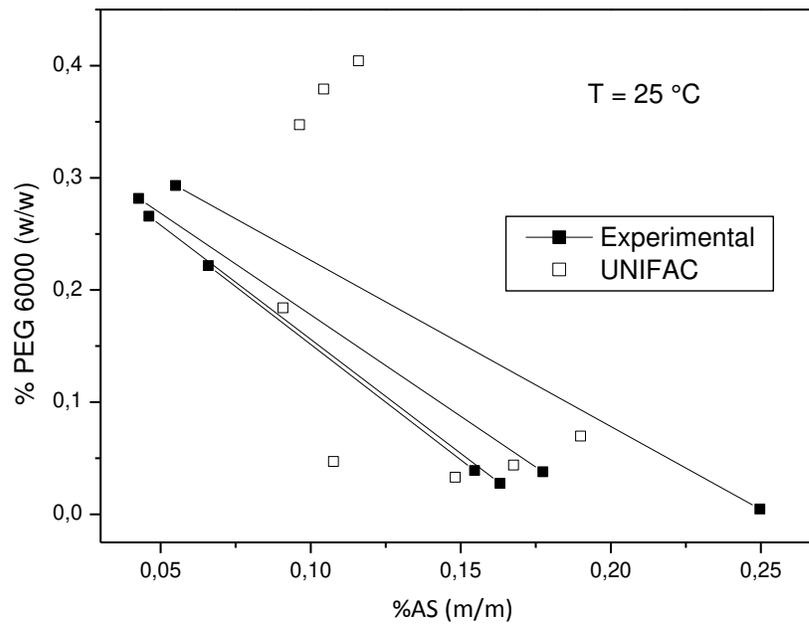


Figura 39: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo UNIFAC.

4.3.4 Linhas de Amarração - ASOG

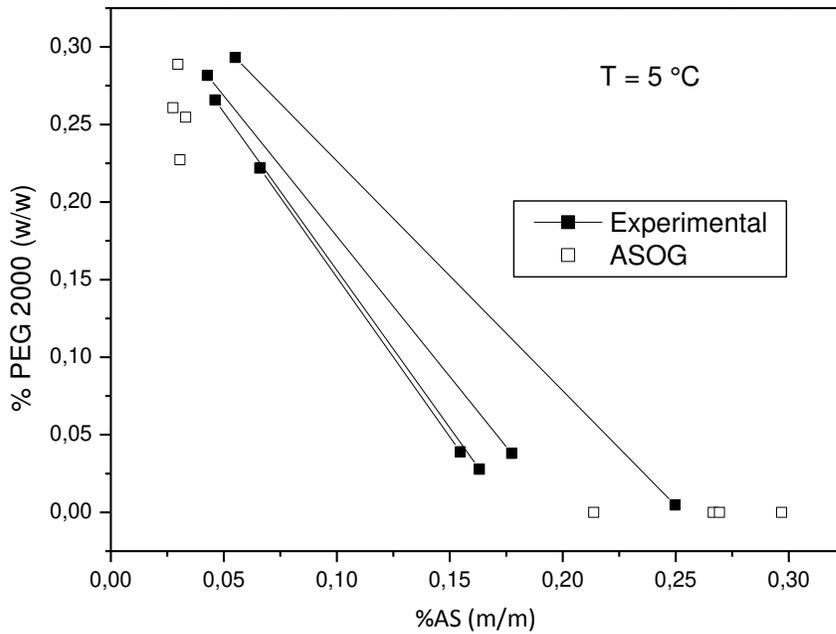


Figura 40: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 5°C e os obtidos pelo modelo ASOG.

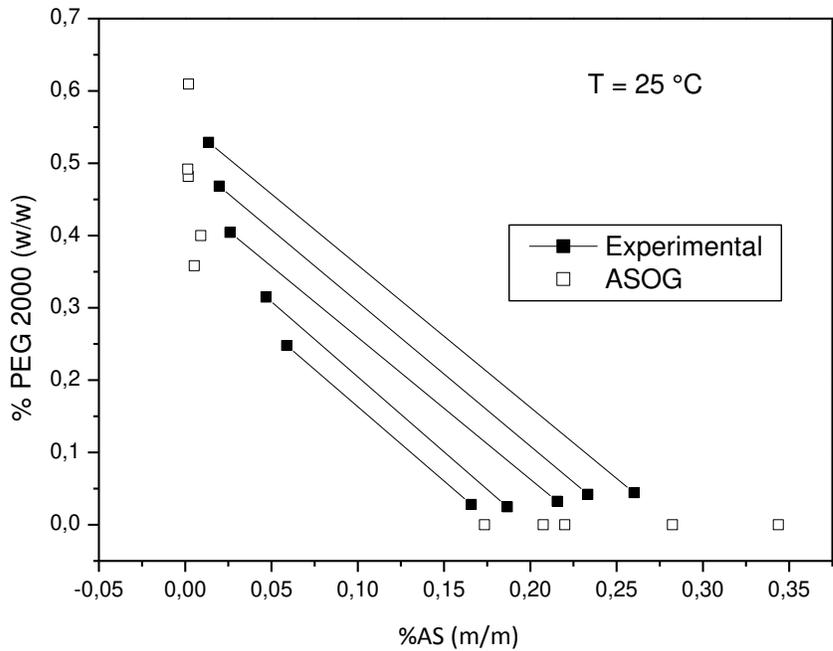


Figura 41: Comparação entre os dados experimentais para PEG 2000 a 25°C e os obtidos pelo modelo ASOG.

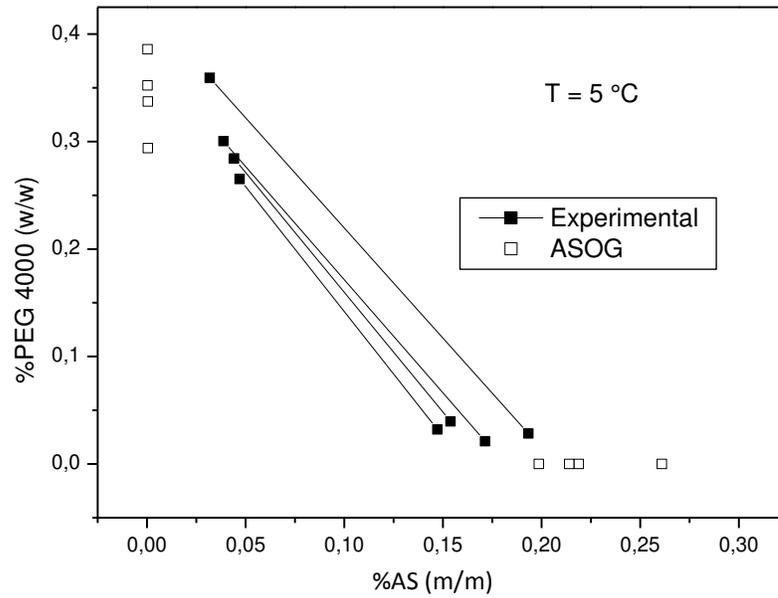


Figura 42: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 5°C e os obtidos pelo modelo ASOG.

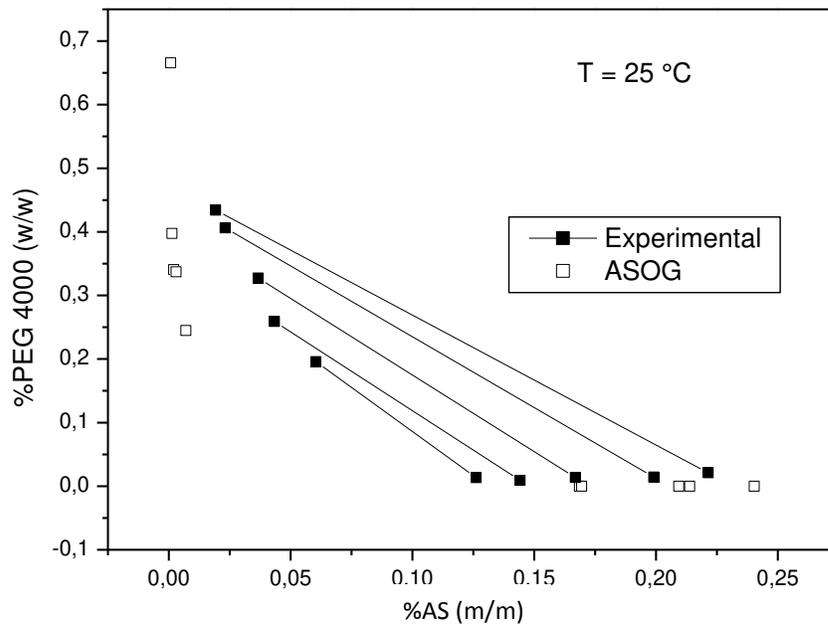


Figura 43: Comparação entre os dados experimentais para PEG 4000 a 25°C e os obtidos pelo modelo ASOG.

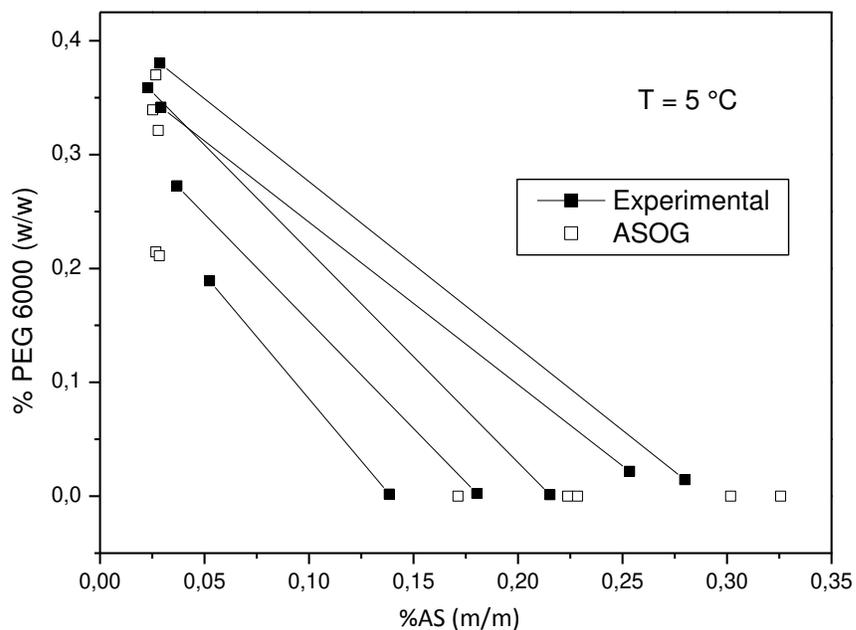


Figura 44: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C e os obtidos pelo modelo ASOG.

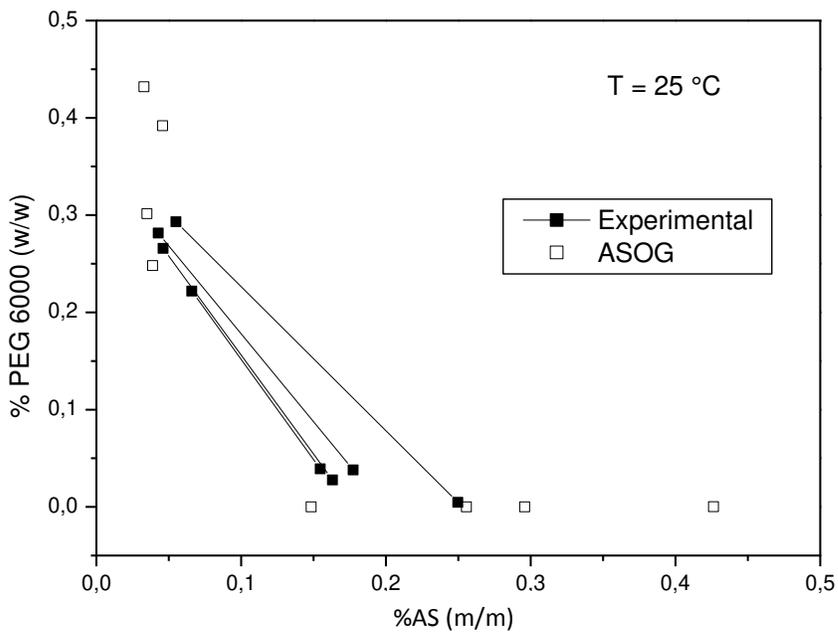


Figura 45: Comparação entre os dados experimentais para PEG 6000 a 25°C e os obtidos pelo modelo ASOG.

4.3.5 Análise das Linhas de Amarração

Analisando-se as figuras 22 a 45 pode-se chegar a algumas observações interessantes sobre a modelagem do sistema PEG/Sulfato de Amônio. A primeira delas é que apesar de terem apresentados resultados satisfatórios na validação com os dados obtidos por Sé e Aznar, nenhum dos modelos descreveu com grande precisão o comportamento dos dados experimentais trabalhados. O que é confirmado pelo cálculo dos erros mostrados na tabela 18 a seguir.

Tabela 18. Erros calculados para os modelos NRTL, UNIQUAC, UNIFAC e ASOG.

	NRTL	UNIQUAC	UNIFAC	ASOG
PEG 2000	9,22%	6,15%	2,63%	5,63%
PEG 4000	5,33%	3,86%	2,32%	5,19%
PEG 6000	14,68%	9,16%	7,21%	8,77%

Pode-se constatar um grande erro nos resultados obtidos para o PEG 6000 e observando as figuras 26, 27, 32, 33, 38, 39, 44 e 45, nota-se que com exceção do modelo ASOG para PEG 6000 a 5°C todos os outros apresentaram resultados bem abaixo do esperado.

Uma das razões deve-se ao fato do pouco número de dados trabalhados para cada modelo, enquanto para os dados validados havia 23 linhas de amarração, para os dados experimentais foram utilizadas apenas 5 linhas de amarração para alguns modelos, o que pode dificultar a obtenção de parâmetros confiáveis para tais cálculos. Além disso, Sé e Aznar contaram com uma célula de equilíbrio líquido-líquido para a obtenção dos dados experimentais, diminuindo a perturbação causada pela retirada de pontos no sistema em equilíbrio.

Na contramão, foram atingidos resultados razoáveis para os dados modelados com PEG 4000, além disso o trabalho assinalou uma clara indicação que os métodos de cálculo dos coeficientes de atividade por contribuição de grupos são os mais indicados para o sistema PEG/Sal, com uma ênfase nos modelos UNIFAC e ASOG, que representaram as melhores aproximações do conjunto de dados experimentais.

É interessante ressaltar ainda a capacidade de maior detalhamento desses tipos de modelo, uma vez que é possível dividir os componentes do sistema em grupos ainda menores, tornando possível a melhoria dos resultados obtidos.

5. CONCLUSÕES

Com os dados experimentais do equilíbrio líquido-líquido de polietilenoglicol de massa molar 2000, 4000 e 6000 foram correlacionados com os modelos termodinâmicos NRTL, UNIQUAC, UNIFAC e ASOG à temperaturas de 5°C e 25°C

Tais modelos foram validados com dados experimentais de Sé e Aznar (2002) e foi observado uma grande correspondência para os modelos NRTL e ASOG, entretanto, ao se utilizar os modelos de contribuição de grupos que necessitavam de uma separação entre os grupos funcionais do sal Fosfato de potássio trabalhado por Sé e Aznar não foi obtida uma aproximação satisfatória entre os dados experimentais e aqueles calculados.

No entanto, ao se utilizar os modelos UNIFAC e UNIQUAC para a caracterização do sistema utilizado para a purificação de bromelina, estes obtiveram um resultado satisfatório quando comparados aos dados obtidos experimentalmente. Foi observado também, que os modelos descreveram de forma mais precisa o PEG de massa molar 4000. Vale destacar o modelo ASOG que foi o que melhor descreveu os dados experimentais para PEG 6000 a 5°C.

5.1 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Analisar dados de linhas de amarração para mais temperaturas para se obter um melhor entendimento do comportamento dos parâmetros de cada modelo.

Estudar o efeito da separação dos grupos do Sulfato de amônio nos modelos UNIFAC e UNIQUAC.

Avaliar a influência de outros métodos de minimização da função objetivo no resultado final dos modelos.

Testar sais de citrato em substituição aos sais de Sulfato, por esses primeiros serem ecologicamente mais seguros.

Estudar a viabilidade da utilização de certos tipos de compostos que aumentam a seletividade da extração, diminuindo a quantidade de sal que permanece na fase de topo do sistema.

Utilização de uma célula de equilíbrio líquido-líquido específica para a coleta dos dados do equilíbrio evitando-se distúrbios na estabilidade do sistema e promovendo-se uma leitura de dados mais precisas de cada fase.

REFERÊNCIAS

- ABBOT, N. L.; BLANKSCHTEIN, D.; HATTON, T. A. On protein partitioning in two-phase aqueous polymer systems. **Bioseparation**, v. 1, p. 191–225, 1990.
- ABRAMS, D. S.; PRAUSNITZ, J. M. Statistical Thermodynamics of Liquid Mixtures: A New Expression for the Excess Gibbs Energy of Partly or Completely Miscible Systems. **AIChE Journal**, v. 21, p. 116-128, 1975.
- ALBERTSSON, P. A. Particle fractionation in liquid two-phase systems. The composition of some phase systems and the behaviour of some model particles in them. Application to the isolation of cell walls from microorganisms. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 27, 1958.
- ALBERTSSON, P. A. **Partition of Cell Particles and Macromolecules**. 3 ed. New York: John Wiley, 1986.
- ALBERTSSON, P.A.; TJERNELD, F. [1] Phase diagrams. **Methods in Enzymology**, v. 228, p. 3-13, 1994.
- ANANTHAPADMANABHAN, K. P.; GODDARD, E. D. Aqueous biphasic formation in polyethylene oxide-inorganic salt systems. **Langmuir**, v. 3, p. 25–31, 1987.
- ANDERSEN, F. A. Special report: reproductive and developmental toxicity of ethylene glycol and its ethers. **International Journal of Toxicology**, v 18, 1999.
- BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E.; ROHRBACH, K. G. **The pineapple: botany, production and uses**. Wallingford: CABI Publishing, 2003.
- BAUMANN, L. S. Less-known botanical cosmeceuticals. **Dermatologic Therapy**, v. 20, n. 5, p. 330-342, 2007.
- BACKMAN, L. Detection and analysis of interactions by two-phase partition. In: **Methods Biotechnol. Vol. 11, Aqueous Two-Phase Systems. Methods and Protocols**, (Hatti-Kaul, R., ed.), Humana Press, NJ, pp. 219–228., 2000.
- BEIJERINCK, M. W.; **Zentralblatt fur bakteriologie-international journal of medical microbiology virology parasitology and infectious diseases**, p. 627, 698, 1896.
- BELTER, P. A.; CUSSLEY, E. L.; HU, W. S. **Bioseparations: Downstream Processing for Biotechnology**. 1 ed. New York: John Wiley & Sons, p.385, 1988.

BERGGREN, K.; EGMOND, M. R.; TJERNELD, F. Substitutions of surface amino acid residues of cutinase probed by aqueous two-phase partitioning. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1481, p. 317–327, 2000.

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

BRESOLIN, I. R. A. P. **Purificação da enzima bromelina de resíduos de abacaxi para estudo de estabilidade em bases dermatológicas**. 2013. Tese de Doutorado Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP.

CARVALHO, M. M. **Estudo de equilíbrio de fases para sistemas aquosos bifásicos compostos por poli(etileno glicol) 6000, Sulfato de cobre ou Sulfato de zinco e água, em função da temperatura**. 2007. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, MG.

CHITTENDEN, R. H.; JOSLIN, E. P.; MEARA, F. S. On the Ferments Contained in the Juice of the Pineapple [*Ananassa sativa*], together with Some Observations on The Composition and Proteolytic Action of the Juice. **Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences**, v. 8, p. 27, 1892.

CHOBOTOVA, K.; VERNALLIS, A. B.; MAJID, F. A. A. Bromelain's activity and potential as an anti-cancer agent: Current evidence and perspectives. **Cancer Letters**, v. 290, n. 2, p. 148-156, 2010.

CHU, I.-M.; CHEN, W.-Y. (2000) Partition of amino acids and peptides in aqueous two-phase systems. In: **Methods Biotechnol. Vol. 11, Aqueous Two-Phase Systems. Methods and Protocols**, (Hatti-Kaul, R., ed.), Humana Press, NJ, pp. 95–105.

COLE, K.D. Preparation of plasmid and high molecular weight DNA by the use of salt-polymer two-phase extraction. **Biotechniques**, v. 11, p. 18–24, 1991.

COIMBRA, J. S. R. **Desempenho de um extrator tipo Graesser na separação de proteínas por soro de queijo usando sistemas aquosos bifásicos**. 1995. Tese de Doutorado Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP.

CORZO, C.A.; WALISZEWSKI, K.N.; WELTI-CHANES, J. Pineapple fruit bromelain affinity to different protein substrates. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 631–635, 2011.

CRUZ, J. L.; RENON, H. A new thermodynamic representation of binary electrolyte solutions nonideality in the whole range of concentration. **AIChE Journal**, v.24, n. 5, p.817-830, 1978.

CUNHA, E. V. C. **Equilíbrio líquido-líquido em sistemas aquosos bifásicos água + PEG 8000 + sal: determinação experimental e modelagem termodinâmica**. 2008. Dissertação de mestrado Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP.

DOBRY, A.; BOYER-KAWENOKI, F.; J. Phase separation in polymer solution. **Journal of Polymer Science** v. 2, p. 90-100, 1947.

DOKO, M. B.; BASSANI, V.; CASADEBAIG, J.; CAVAILLES, L.; JACOB, M. Preparation of proteolytic enzyme extracts from Ananas comosus L. Merr. fruit using semi permeable membrane, ammonium sulphate extraction, centrifugation and freeze-drying processes. **International Journal of Pharmaceutics**, v.76, p. 199-206, 1991.

FAOSTAT data 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations

FLORY, P. J. **Principles of Polymer Chemistry**. Ithaca: Cornell University Press, 1953.

FREDENSLUND, A.; JONES, R. L.; PRAUSNITZ J. M. Group-contribution estimation of activity coefficients in non-ideal liquid mixtures. **AIChE Journal**, v. 21, n. 6, p 1086-1099, 1975.

FREIMANN, L. O.; SABAA SRUR, A. U. O. Determinação de proteína total e escore de aminoácidos de bromelinas extraídas dos resíduos do abacaxizeiro (Ananas comosus, (L.) Merril.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 2, p.170-173, 1999.

GAO, Y.; PENG, Q.; LI, Z.; LI, Y. Thermodynamics of ammonium sulfate-polyethylene glycol aqueous two-phase systems. Part 2. Correlation and prediction using extended UNIFAC equation. **Fluid Phase Equilibria**, v. 63, p. 173-182, 1991.

GONZÁLEZ-RÁBADE, N.; BADILLO-CORONA, J. A.; ARANDA-BARRADAS, J. S.; OLIVER-SALVADOR, M. C. Production of plant proteases in vivo and in vitro — A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 983-996, 2011.

GUPTA, R.; BRADDOO, S.; SAXENA, R.K. Aqueous two-phase systems: an attractive technology for downstream processing of biomolecules. **Current Science**, v. 77, p. 520–523, 1999.

HARRACH, T.; ECKERT, K.; MAURER, H. R.; MACHLEIDT, I.; MACHLEIDT, W.; NUCK, R. Isolation and Characterization of Two Forms of an Acidic Bromelain Stem Proteinase. **Journal of Protein Chemistry**, v. 17, n. 4, p. 351-361, 1998.

HATTI-KAUL, R. (2000) Extractive bioconversions in aqueous two-phase systems. In: **Methods Biotechnol. Vol. 11, Aqueous Two-Phase Systems. Methods and Protocols**, (Hatti-Kaul, R., ed.), Humana Press, NJ, pp. 411–417.

HATTI-Kaul, R. Aqueous two-phase systems: a general overview. **Molecular Biotechnology**, Vol 10, 2001.

HEINECKE, R.M.; GORTNER, W.A. Stem bromelain, a new protease preparation from pineapple plants. **Economic Botany**, v. 11, p. 225-234, 1957.

HUDLESTON J.; VEIDE A.; KOHLER K.; FLANAGAN J.; ENFORS S.; LYDDIAT A. The molecular basis of partitioning in aqueous two-phase systems. **Trends in Biotechnology**, v. 9, p. 381-388, 1991.

HUDDLESTON, J. G.; WILLAUER, H. D.; BOAZ, K. R.; ROGERS, R. D. Separation and recovery of food coloring dyes using aqueous biphasic extraction chromatographic resins. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 711, p. 237–244, 1998.

JOHANSSON, H. O.; KARLSTRÖM, G.; TJERNELD, F. (1998) Separation of amino acids and peptides by temperature induced phase partitioning: Theoretical model for partitioning and experimental data. **Bioseparation**, v. 7, p. 259–267, 1998.

JUTAMONGKON, R.; CHAROENREIN, S. Effect of Temperature on the Stability of Fruit Bromelain from Smooth Cayenne Pineapple. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 44 p. 943 – 948, 2010.

KAHOVEC, J.; FOX B.; HATADA K. Nomenclature of regular single-strand organic polymers. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, pag 1921-1956, 2002.

KALISZ, H. M. Microbial proteinases. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 36, p. 1-65, 1988.

KETNAWA, S.; CHAIWUT, P.; RAWDKUEN, S. Extraction of bromelain from pineapple peels. **Food Science and Technology International**, v. 4, n. 17, p. 395-402, 2011.

KILIKIAN, B. V.; PESSOA JR, A. **Purificação de produtos biotecnológicos. In: Biotecnologia industrial.** Volume II. Engenharia Bioquímica. Cood: SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. 1. ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 2001.

KUMAR, S.; HEMAVATHI, A. B.; HEBBAR, H. U. Affinity based reverse micellar extraction and purification of bromelain from pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) waste. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 1216–1220, 2011.

LADISCH, M. R. **Bioseparations Engineering: Principles, practice and economics.** New York: Wiley, 2001. 735 p.

LAYMAN, P. L. Industrial enzymes: battling to remain specialties. **Chemical and Engineering News**, v. 64, p. 11-14, 1986.

LEARY, D.; VIERROS, M.; HAMON, G.; ARICO, S.; MONAGLE, C. Marine genetic resources: a review of scientific and commercial interest. **Marine Policy**, v. 33, p. 183–94, 2009.

LEEPHAKPREEDA T. **Optimization: Principles and Algorithm**, Thammasat University Press, Bangkok, 2000.

LEI, X.; DIAMOND, A. D.; HSU, J. T. Equilibrium Phase Behavior of the Poly(ethylene glycol)/Potassium Phosphate/Water Two-Phase System at 4 °C. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 35, n. 4, p. 420-423, 1990.

LEWIS, G. N.; RANDALL E. M, **Thermodynamics.** New York: McGraw-Hill Book Company, 1961.

LIANG, H.Y.; LI, M.; SHI, M.; LIAO, A. P.; WU, S. R. C. Study on the Stability of Fruit Bromelain. **Advanced Materials Research**, v. 421, p. 19-22, 2011.

LIGHTFOOT, E.N. Protein purification from molecular mechanisms to large scale processes. In: **Separation in biotechnology—the key role of adsorptive separations** (Ladisch MR, Willson RC, Panton CC, Builder SE, editors.), ACS Publications; vol. 427. pp. 35–51, 1990.

LIPOVETSKY, T.; LOOTSMA F. A. Theory and methodology: generalized golden sections, repeated bisections and aesthetic pleasure, **European Journal of Operational Research**, v. 121, 2000.

LOPES, F. L. G.; JUNIOR, J. B. S.; SOUZA, R. R.; EHRHARDT, D. D.; SANTANA, J. C. C.; TAMBOURGI, E. B. Concentration by Membrane Separation Processes of a Medicinal Product

Obtained from Pineapple Pulp. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52 n. 2, p. 457-464, 2009.

MATTIASSON, B.; LING, T. G. I. Extraction in aqueous two-phase systems for biotechnology. In: **Separations for biotechnology**. VERRALL, M.S.; HUDSON, M.J. (Eds.). Chichester: Ellis Horwood, p. 270-292, 1987.

MAURER, H. R. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 58, n. 9, p. 1234-1245, 2001.

MINUTH, T.; THÖMMES, J.; KULA, M. R. A closed concept for purification of the membrane bound cholesterol oxidase from *Nocardia rhodochrous* by surfactant-based cloud-point extraction, organic solvent extraction and anion exchange chromatography. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 23, p. 107–116, 1996.

MOSBY MEDICAL DICTIONARY, 8th ed., Elsevier, 2009

NAPPER, A. D. ; BENNETT, S. P.; BOROWSKI, M. ; HOLDRIDGE, M. B.; LEONARD, M. J.; ROGERS, E. E.; DUAN, Y.; LAURSEN, R. A.; REINHOLD, B.; SHAMES, S. L. Purification and characterization of multiple forms of the pineapple-stem-derived cysteine proteinases ananain and comosain. **Biochemistry Journal**, v. 301, p. 727-35, 1994.

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

OSTWALD, W.; Hertel, R. H.; **Kolloid-zeitschrift and zeitschrift fur polymere**, v.47, 1929.

PERUMALSAMY, M.; MURUGESAN, T. Prediction of Liquid–Liquid Equilibria for Polyethylene Glycol Based Aqueous Two-Phase System by ASOG and UNIFAC Method. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 26, p. 171-180, 2009.

PESSOA JR, A.; KILIKIAN, B. V. **Purificação de Produtos Biotecnológicos**. 1 ed. Barueri: Editora Manole Ltda., 2005. 444 p.

PRAUSNITZ J. M. **Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria**. 2 ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1986.

RABELO, A. P. B. **Estudo e desenvolvimento de uma micro-coluna de campânulas pulsantes para a purificação de proteínas**. 1999. Tese de Doutorado Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP.

RAMELMEIER, R. A.; TERSTAPPEN, G. C.; KULA, M.R. The partitioning of cholesterol oxidase in Triton X-114-based aqueous two-phase systems. **Bioseparation**, v. 2, p. 315–324, 1991.

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

ROCHEFORT, C. **Histoire naturelle et morale des iles Antilles de l’Amerique**. A.Leers, Rotterdam, 1605.

ROGERS, R. D.; WILLAUER, H. D.; GRIFFIN, S. T.; HUDDLESTON, J. G. (1998) Partitioning of small organic molecules in aqueous biphasic systems. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 711, p. 255–263, 1998.

SÁNCHEZ-FERRER, A.; BRU, R.; GARCIA-CARMONA, F. Novel procedure for extraction of a latent grape polyphenoloxidase using temperature-induced phase separation in Triton X-114. **Plant Physiology**, v. 91, p. 1481–1487, 1989.

SAVE, S. V.; PANGARKAR, V. G.; KUMAR, S. V. Intensification of mass transfer in aqueous two-phase systems. **Biotechnology Bioengineering**, v. 41, p. 72-78, 1993.

SCOPES, R. K. **Protein purification: Principles and practice**. 3 ed. New York: Springer-Verlag, 1993. 442 p.

SÉ, R. G. A.; AZNAR, M.; Liquid-liquid equilibrium of the aqueous two-phase system water + peg 4000 + potassium phosphate at four temperatures: Experimental determination and thermodynamic modeling. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 47, p. 1401-1405, 2002.

SELBER, K.; TJERNELD, F.; COLLEN, A.; HYYTIA, T.; NAKARI-SETALA, T.; BAILEY, M.; FAGERSTROM, R.; KAN, J.; VAN DER LAAN, J.; PENTTILA, M.; KULA, M. R. Large-scale separation and production of engineered proteins, designed for facilitated recovery in detergent-based aqueous two-phase extraction systems. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 889-896, 2004.

SELIGMAN B. Bromelain: an anti-inflammatory agent. **Angiology**, v. 13, p. 508-510, 1962.

SIKDAR, S. K.; COLE, K. D.; STEWART, R. M.; SZLAG, D. C.; TODD, P.; CABEZAS JR., H. Aqueous two-phase extractions in bioseparations: an assessment. **Bio/Technology**, v. 9, p. 253–256, 1991.

SILVA L. H. M.; LOH W. Sistemas aquosos bifásicos: fundamentos e aplicações para partição/purificação de proteínas. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1345-1352, 2006.

SILVEIRA, E.; SOUZA JR., M. E.; SANTANA, J. C. C.; CHAVES, A. C.; PORTO, A. L. F.; TAMBOURGI, E. B. Expanded bed adsorption of bromelain (E.C. 3.4.22.33) from Ananas comosus crude extract. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 26, p. 149-157, 2009.

SMITH, A. L. **Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology**. Oxford: Oxford University Press, 1997.

STRÖM, G. B.; MÄLARSTIG, B.; BLOMQUIST, G. Purification of water-based cutting fluids. **Methods in Enzymology**, v. 228, p. 672–678, 1994.

SUH, H. J.; LEE, H.; CHO, H. Y.; YANG, H. C. Purification and characterization of bromelain isolated from pineapple. **Journal of the Korean Chemical Society**, v. 35, n. 4, p. 300-307, 1992.

TAUSSIG, S. J.; BATKIN, S. Bromelain, the enzyme complex of pineapple (ananas comosus) and its clinical application. An update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, p. 191- 303, 1988.

TESTER J. W.; MODELL M. **Thermodynamics and Its Applications**. 3 ed. Upper Saddle River: Prentice Hall editor, 1996. 557 p.

TOCHI, B. N.; ZHANG, W.; YING, X.; WENBIN, Z. Therapeutic Application of Pineapple Protease(Bromelain): A review. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 7, n. 4, p. 513-520, 2008.

VENANCIO, A.; ALMEIDA, C.; TEIXEIRA, J. A. Enzyme purification with aqueous two-phase systems: comparison between systems composed of pure polymers and systems composed of crude polymers. **Journal of Chromatography B**, v. 680, 1996, p. 131-136, 1996.

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

WALTER, H.; JOHANSSON, G. **Methods in Enzymology: Aqueous Two-Phase Systems**. San Diego: Academic Press, 1994.

WHEELWRIGHT, S. M. The design of downstream processes for large-scale protein purification. **Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 89-102, 1989.

WHITE, R. R.; CRAWLEY, F. E. ; VELLINI, M. ; ROVALTI, L. A. Bioavailability of bromelain after oral administration to rats. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 9, n. 4, p. 397-403, 1988.

XUE, Y.; WU, C.; BRANFORD-WHITE, C. J.; NING, X.; NIE, H.; ZHU, L. Chemical modification of stem bromelain with anhydride groups to enhance its stability and catalytic activity. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 63, p. 188–193, 2010

ANEXOS

Tabela A 1. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de Amônio a 5°C.

PEG 2000 – 5°C					
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,3000	0,0000	0,7000	0,0339	0,4096	0,5565
0,2964	0,0059	0,6976	0,0333	0,4020	0,5648
0,2047	0,0041	0,7912	0,0352	0,3990	0,5658
0,2030	0,0083	0,7887	0,0347	0,3927	0,5727
0,1997	0,0082	0,7921	0,0373	0,3887	0,5739
0,1977	0,0132	0,7892	0,0365	0,3801	0,5834
0,1905	0,0127	0,7968	0,0387	0,3769	0,5844
0,1880	0,0191	0,7929	0,0383	0,3726	0,5892
0,1810	0,0184	0,8007	0,0402	0,3697	0,5900
0,1790	0,0236	0,7974	0,0397	0,3649	0,5954
0,1762	0,0233	0,8005	0,0415	0,3624	0,5961
0,1744	0,0281	0,7975	0,0408	0,3564	0,6028
0,1723	0,0277	0,7999	0,0428	0,3536	0,6036
0,1713	0,0307	0,7981	0,0423	0,3491	0,6086
0,1694	0,0303	0,8002	0,0441	0,3468	0,6092
0,1675	0,0357	0,7968	0,0434	0,3418	0,6148
0,1659	0,0353	0,7988	0,0452	0,3395	0,6154
0,1644	0,0395	0,7961	0,0442	0,3319	0,6239
0,1628	0,0392	0,7980	0,0479	0,3270	0,6250
0,1608	0,0449	0,7943	0,0474	0,3236	0,6290
0,1582	0,0441	0,7977	0,0474	0,3236	0,6290
0,1582	0,0441	0,7977	0,0498	0,3205	0,6297
0,1535	0,0576	0,7889	0,0490	0,3149	0,6361
0,1504	0,0565	0,7931	0,0514	0,3119	0,6367
0,1368	0,0966	0,7666	0,0504	0,3064	0,6432
0,1308	0,0924	0,7768	0,0533	0,3028	0,6438
0,1115	0,1525	0,7360	0,0526	0,2985	0,6489
0,1031	0,1410	0,7559	0,0549	0,2956	0,6494
0,0932	0,1756	0,7312	0,0542	0,2914	0,6544
0,0900	0,1697	0,7403	0,0566	0,2885	0,6549
0,0763	0,2202	0,7035	0,0561	0,2858	0,6581
0,0736	0,2126	0,7138	0,0584	0,2831	0,6585
0,0000	0,5000	0,5000	0,0573	0,2781	0,6646
0,0266	0,4556	0,5178	0,0609	0,2739	0,6651
0,0261	0,4461	0,5278	0,0605	0,2719	0,6676
0,0281	0,4427	0,5291	0,0658	0,2659	0,6683
0,0276	0,4348	0,5376	0,0637	0,2574	0,6789
0,0299	0,4312	0,5389	0,0670	0,2538	0,6792
0,0295	0,4256	0,5449	0,0660	0,2500	0,6840
0,0320	0,4217	0,5463	0,0699	0,2458	0,6843
0,0313	0,4135	0,5551	0,0680	0,2393	0,6926

Tabela A 2. Dados experimentais para PEG 2000 e Sulfato de Amônio a 25°C.

PEG 2000 – 25°C					
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0000	0,5084	0,4916	0,1079	0,1185	0,7737
0,0093	0,4945	0,4961	0,1132	0,1158	0,7710
0,0090	0,4765	0,5145	0,1114	0,1139	0,7747
0,0175	0,4644	0,5181	0,1151	0,1121	0,7728
0,0265	0,4601	0,5134	0,1115	0,1086	0,7799
0,0254	0,4396	0,5350	0,1114	0,1139	0,7747
0,0291	0,4344	0,5365	0,1168	0,1062	0,7770
0,0280	0,4181	0,5539	0,1140	0,1036	0,7825
0,0320	0,4129	0,5552	0,1194	0,1011	0,7794
0,0301	0,3883	0,5816	0,1164	0,0986	0,7850
0,0382	0,3782	0,5836	0,1212	0,0965	0,7823
0,0357	0,3525	0,6118	0,1178	0,0938	0,7884
0,0397	0,3479	0,6124	0,1232	0,0916	0,7852
0,0451	0,3460	0,6089	0,1264	0,0820	0,7916
0,0426	0,3266	0,6308	0,1253	0,0813	0,7935
0,0500	0,3186	0,6314	0,1260	0,0810	0,7930
0,0486	0,3097	0,6417	0,1243	0,0799	0,7959
0,0510	0,3071	0,6419	0,1333	0,0688	0,7979
0,0491	0,2954	0,6555	0,1302	0,0672	0,8026
0,0564	0,2880	0,6556	0,1336	0,0661	0,8003
0,0550	0,2806	0,6644	0,0000	0,0000	1,0000
0,0609	0,2748	0,6643	0,2122	0,0000	0,7878
0,0586	0,2645	0,6769	0,1213	0,0000	0,8787
0,0633	0,2601	0,6766	0,1938	0,0000	0,8062
0,0617	0,2534	0,6849	0,1634	0,0000	0,8366
0,0661	0,2494	0,6845	0,1803	0,0000	0,8197
0,0638	0,2408	0,6954	0,1563	0,0000	0,8437
0,3497	0,0000	0,6503	0,1808	0,0000	0,8192
0,3445	0,0076	0,6479	0,1604	0,0000	0,8396
0,1869	0,0041	0,8090	0,1769	0,0000	0,8231
0,1838	0,0126	0,8036	0,1637	0,0000	0,8363
0,1764	0,0121	0,8116	0,1722	0,0000	0,8278
0,1751	0,0155	0,8094	0,1567	0,0000	0,8433
0,1016	0,1455	0,7529	0,1656	0,0000	0,8344
0,1102	0,1210	0,7688	0,1658	0,0000	0,8342

Tabela A 3. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de Amônio a 5°C.

PEG 4000 – 5°C					
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0000	0,5000	0,5000	0,0508	0,2734	0,6758
0,0266	0,4557	0,5177	0,0524	0,2716	0,6759
0,0255	0,4360	0,5385	0,0520	0,2691	0,6789
0,0279	0,4322	0,5400	0,0537	0,2672	0,6791
0,0272	0,4214	0,5514	0,0532	0,2645	0,6823
0,0294	0,4180	0,5526	0,0552	0,2624	0,6825
0,0287	0,4076	0,5637	0,0545	0,2590	0,6865
0,0312	0,4038	0,5650	0,0559	0,2575	0,6866
0,0305	0,3946	0,5749	0,0554	0,2551	0,6895
0,0328	0,3913	0,5759	0,0569	0,2535	0,6896
0,0297	0,3841	0,5862	0,0565	0,2513	0,6922
0,0318	0,3811	0,5871	0,3000	0,0000	0,7000
0,0311	0,3727	0,5962	0,2974	0,0044	0,6982
0,0331	0,3698	0,5970	0,1815	0,0027	0,8159
0,0327	0,3654	0,6019	0,1807	0,0048	0,8145
0,0340	0,3637	0,6023	0,1744	0,0046	0,8210
0,0335	0,3589	0,6076	0,1735	0,0070	0,8194
0,0352	0,3566	0,6082	0,1707	0,0069	0,8223
0,0348	0,3523	0,6129	0,1696	0,0103	0,8202
0,0366	0,3499	0,6135	0,1656	0,0100	0,8244
0,0363	0,3465	0,6173	0,1641	0,0143	0,8216
0,0380	0,3441	0,6178	0,1600	0,0139	0,8261
0,0375	0,3392	0,6233	0,1583	0,0192	0,8225
0,0392	0,3371	0,6238	0,1541	0,0187	0,8273
0,0387	0,3335	0,6278	0,1526	0,0232	0,8242
0,0402	0,3317	0,6282	0,1494	0,0227	0,8279
0,0397	0,3276	0,6328	0,1475	0,0288	0,8237
0,0415	0,3252	0,6332	0,1453	0,0283	0,8263
0,0410	0,3213	0,6377	0,1428	0,0367	0,8206
0,0425	0,3195	0,6381	0,1428	0,0367	0,8206
0,0420	0,3158	0,6423	0,1410	0,0362	0,8227
0,0439	0,3134	0,6427	0,1388	0,0435	0,8177
0,0433	0,3090	0,6478	0,1365	0,0428	0,8207
0,0448	0,3071	0,6481	0,1324	0,0564	0,8112
0,0444	0,3041	0,6515	0,1298	0,0553	0,8149
0,0460	0,3022	0,6518	0,1260	0,0686	0,8055
0,0455	0,2993	0,6552	0,1235	0,0672	0,8093
0,0455	0,2993	0,6552	0,1182	0,0857	0,7961
0,0472	0,2972	0,6555	0,1161	0,0842	0,7997
0,0466	0,2930	0,6605	0,1088	0,1102	0,7809
0,0482	0,2911	0,6607	0,1055	0,1069	0,7877
0,0476	0,2874	0,6650	0,0958	0,1430	0,7612
0,0493	0,2855	0,6652	0,0927	0,1384	0,7689
0,0488	0,2828	0,6684	0,0816	0,1816	0,7368
0,0504	0,2810	0,6686	0,0787	0,1751	0,7462
0,0499	0,2783	0,6719	0,0683	0,2181	0,7136

Tabela A 4. Dados experimentais para PEG 4000 e Sulfato de Amônio a 25°C.

PEG 4000 – 25°C								
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,3497	0,0000	0,6503	0,0588	0,2225	0,7188	0,1045	0,0780	0,8175
0,3419	0,0115	0,6467	0,0620	0,2200	0,7180	0,0997	0,0744	0,8258
0,1500	0,0050	0,8450	0,0609	0,2164	0,7227	0,1053	0,0728	0,8219
0,1528	0,0050	0,8422	0,0634	0,2145	0,7221	0,1016	0,0702	0,8282
0,1462	0,0047	0,8491	0,0624	0,2113	0,7262	0,1103	0,0677	0,8220
0,1496	0,0047	0,8457	0,0652	0,2093	0,7255	0,1051	0,0646	0,8303
0,0000	0,5097	0,4903	0,0638	0,2048	0,7314	0,1120	0,0627	0,8252
0,0179	0,4836	0,4985	0,0670	0,2025	0,7305	0,1090	0,0611	0,8299
0,0169	0,4575	0,5255	0,0650	0,1966	0,7384	0,1126	0,0602	0,8273
0,0193	0,4543	0,5264	0,0688	0,1940	0,7372	0,1096	0,0586	0,8317
0,0190	0,4467	0,5343	0,0672	0,1895	0,7433	0,1131	0,0578	0,8291
0,0243	0,4396	0,5361	0,0700	0,1876	0,7424	0,1107	0,0565	0,8327
0,0238	0,4301	0,5461	0,0674	0,1806	0,7521	0,1151	0,0555	0,8294
0,0311	0,4205	0,5484	0,0773	0,1742	0,7485	0,1128	0,0544	0,8328
0,0292	0,3956	0,5752	0,0741	0,1671	0,7587	0,1217	0,0431	0,8353
0,0309	0,3935	0,5756	0,0772	0,1653	0,7575	0,1197	0,0423	0,8380
0,0302	0,3844	0,5854	0,0754	0,1614	0,7632	0,1218	0,0420	0,8362
0,0351	0,3785	0,5864	0,0656	0,1406	0,7937	0,1174	0,0404	0,8422
0,0339	0,3654	0,6007	0,0902	0,1285	0,7813	0,1210	0,0398	0,8392
0,0378	0,3608	0,6013	0,0884	0,1259	0,7857	0,1170	0,0385	0,8445
0,0368	0,3508	0,6125	0,0960	0,1222	0,7818	0,1257	0,0288	0,8455
0,0393	0,3479	0,6128	0,0912	0,1162	0,7926	0,1228	0,0281	0,8491
0,0379	0,3355	0,6267	0,0955	0,1143	0,7902	0,1253	0,0278	0,8469
0,0412	0,3319	0,6269	0,0944	0,1129	0,7928	0,1222	0,0271	0,8508
0,0402	0,3240	0,6358	0,0953	0,1125	0,7922	0,1286	0,0263	0,8450
0,0439	0,3201	0,6360	0,0943	0,1112	0,7945	0,1241	0,0254	0,8505
0,0425	0,3100	0,6475	0,0957	0,1106	0,7937	0,1296	0,0248	0,8456
0,0453	0,3071	0,6476	0,0947	0,1094	0,7960	0,1251	0,0239	0,8511
0,0445	0,3016	0,6539	0,0895	0,1034	0,8071	0,1309	0,0233	0,8458
0,0465	0,2996	0,6539	0,0999	0,0992	0,8009	0,1271	0,0226	0,8503
0,0452	0,2908	0,6640	0,0986	0,0980	0,8034	0,1319	0,0221	0,8460
0,0492	0,2870	0,6638	0,1025	0,0964	0,8010	0,1275	0,0214	0,8511
0,0479	0,2796	0,6724	0,0996	0,0936	0,8068	0,1469	0,0104	0,8427
0,0500	0,2778	0,6723	0,1042	0,0919	0,8039	0,1416	0,0100	0,8484
0,0483	0,2684	0,6833	0,1045	0,0930	0,8025	0,1463	0,0098	0,8439
0,0545	0,2629	0,6827	0,0998	0,0887	0,8115	0,1402	0,0094	0,8505
0,0513	0,2476	0,7011	0,1025	0,0878	0,8097	0,1491	0,0090	0,8419
0,0548	0,2447	0,7005	0,0986	0,0844	0,8170	0,1449	0,0087	0,8463
0,0533	0,2380	0,7087	0,1070	0,0816	0,8114	0,1016	0,0702	0,8282
0,0612	0,2316	0,7072	0,1029	0,0785	0,8186			

Tabela A 5. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de Amônio a 5°C.

PEG 6000 – 5°C								
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0000	0,5000	0,5000	0,0522	0,2604	0,6875	0,1189	0,0599	0,8212
0,0058	0,4904	0,5038	0,0541	0,2583	0,6875	0,1153	0,0735	0,8112
0,0056	0,4794	0,5150	0,0535	0,2551	0,6915	0,1134	0,0724	0,8142
0,0103	0,4718	0,5179	0,0548	0,2537	0,6915	0,1087	0,0903	0,8011
0,0100	0,4570	0,5331	0,0540	0,2500	0,6960	0,1070	0,0889	0,8042
0,0185	0,4436	0,5379	0,0571	0,2468	0,6961	0,1014	0,1101	0,7884
0,0178	0,4267	0,5555	0,0562	0,2432	0,7005	0,0993	0,1079	0,7928
0,0231	0,4187	0,5582	0,0584	0,2411	0,7005	0,0953	0,1236	0,7811
0,0223	0,4039	0,5738	0,0572	0,2363	0,7065	0,0935	0,1212	0,7852
0,0223	0,4039	0,5738	0,0594	0,2341	0,7064	0,0894	0,1381	0,7725
0,0302	0,3924	0,5774	0,0586	0,2307	0,7107	0,0876	0,1355	0,7769
0,0295	0,3833	0,5872	0,0603	0,2290	0,7106	0,0834	0,1532	0,7634
0,0295	0,3833	0,5872	0,0592	0,2245	0,7163	0,0818	0,1503	0,7678
0,0323	0,3793	0,5884	0,0633	0,2207	0,7160	0,0767	0,1724	0,7509
0,0317	0,3720	0,5963	0,0623	0,2170	0,7207	0,0759	0,1706	0,7535
0,0348	0,3677	0,5975	0,3000	0,0000	0,7000	0,0711	0,1912	0,7376
0,0339	0,3580	0,6081	0,2968	0,0053	0,6979	0,0704	0,1892	0,7404
0,0369	0,3540	0,6091	0,1704	0,0031	0,8265	0,0658	0,2093	0,7249
0,0360	0,3460	0,6179	0,1699	0,0044	0,8256	0,0652	0,2074	0,7274
0,0389	0,3423	0,6188	0,1635	0,0043	0,8322			
0,0378	0,3330	0,6292	0,1626	0,0070	0,8304			
0,0409	0,3290	0,6301	0,1559	0,0067	0,8374			
0,0401	0,3226	0,6373	0,1549	0,0100	0,8352			
0,0428	0,3193	0,6379	0,1512	0,0097	0,8390			
0,0419	0,3124	0,6457	0,1507	0,0116	0,8378			
0,0438	0,3101	0,6461	0,1476	0,0113	0,8411			
0,0431	0,3048	0,6521	0,1463	0,0156	0,8381			
0,0448	0,3028	0,6524	0,1444	0,0154	0,8402			
0,0442	0,2988	0,6570	0,1427	0,0213	0,8361			
0,0463	0,2964	0,6573	0,1404	0,0209	0,8386			
0,0455	0,2915	0,6629	0,1387	0,0267	0,8345			
0,0479	0,2888	0,6633	0,1363	0,0263	0,8374			
0,0472	0,2845	0,6683	0,1348	0,0315	0,8337			
0,0492	0,2823	0,6685	0,1328	0,0310	0,8362			
0,0484	0,2775	0,6742	0,1302	0,0402	0,8296			
0,0503	0,2753	0,6744	0,1302	0,0402	0,8296			
0,0496	0,2715	0,6788	0,1287	0,0398	0,8316			
0,0515	0,2695	0,6790	0,1258	0,0499	0,8243			
0,0508	0,2661	0,6831	0,1242	0,0492	0,8266			
0,0529	0,2639	0,6832	0,1210	0,0609	0,8181			

Tabela A 6. Dados experimentais para PEG 6000 e Sulfato de Amônio a 25°C.

PEG 6000 – 25°C								
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,3487	0,0000	0,6513	0,1478	0,0042	0,8480	0,0234	0,4412	0,5354
0,3468	0,0014	0,6518	0,1456	0,0042	0,8503	0,0229	0,4309	0,5462
0,1659	0,0007	0,8334	0,1453	0,0053	0,8495	0,0266	0,4260	0,5474
0,1652	0,0018	0,8330	0,1425	0,0052	0,8524	0,0265	0,4261	0,5474
0,1608	0,0017	0,8375	0,1421	0,0063	0,8515	0,0253	0,4058	0,5689
0,1601	0,0028	0,8371	0,1400	0,0062	0,8537	0,0281	0,4023	0,5696
0,1544	0,0027	0,8430	0,1396	0,0078	0,8526	0,0272	0,3897	0,5830
0,1539	0,0034	0,8427	0,1377	0,0077	0,8546	0,0299	0,3865	0,5836
0,1504	0,0033	0,8463	0,1372	0,0094	0,8534	0,0283	0,3658	0,6059
0,1497	0,0045	0,8458	0,1355	0,0093	0,8553	0,0335	0,3599	0,6067
0,1475	0,0044	0,8481	0,1353	0,0099	0,8548	0,0318	0,3417	0,6265
0,1468	0,0056	0,8476	0,1337	0,0097	0,8565	0,0365	0,3366	0,6268
0,1449	0,0055	0,8496	0,1334	0,0108	0,8557	0,0349	0,3214	0,6437
0,1440	0,0071	0,8489	0,1317	0,0107	0,8576	0,0389	0,3172	0,6438
0,1413	0,0070	0,8517	0,1306	0,0151	0,8543	0,0379	0,3087	0,6534
0,1402	0,0090	0,8508	0,1287	0,0149	0,8564	0,0398	0,3068	0,6534
0,1374	0,0089	0,8538	0,1282	0,0169	0,8549	0,0393	0,3031	0,6576
0,1346	0,0138	0,8516	0,1263	0,0167	0,8570	0,0412	0,3013	0,6576
0,1334	0,0137	0,8529	0,1258	0,0187	0,8555	0,0407	0,2978	0,6615
0,1299	0,0200	0,8501	0,1247	0,0186	0,8568	0,0430	0,2956	0,6615
0,1272	0,0196	0,8531	0,1220	0,0292	0,8488	0,0413	0,2837	0,6750
0,1241	0,0254	0,8505	0,1202	0,0288	0,8511	0,0413	0,2839	0,6748
0,1230	0,0252	0,8518	0,1191	0,0329	0,8480	0,0443	0,2811	0,6746
0,1076	0,0538	0,8385	0,1178	0,0325	0,8496	0,0440	0,2791	0,6770
0,1022	0,0765	0,8212	0,1163	0,0389	0,8449	0,0449	0,2782	0,6769
0,1013	0,0758	0,8229	0,0000	0,5084	0,4916	0,0442	0,2741	0,6817
0,0994	0,0836	0,8169	0,0209	0,4780	0,5012	0,0457	0,2727	0,6815
0,0987	0,0830	0,8183	0,0199	0,4568	0,5233	0,0454	0,2707	0,6839
0,0976	0,0877	0,8147	0,0214	0,4547	0,5239	0,0462	0,2700	0,6838
0,0970	0,0871	0,8159	0,0210	0,4445	0,5345	0,0456	0,2665	0,6879
0,0959	0,0921	0,8120	0,0237	0,4408	0,5355	0,0472	0,2651	0,6877
0,0953	0,0916	0,8131	0,0232	0,4305	0,5463	0,0468	0,2628	0,6904
0,0943	0,0957	0,8100	0,0268	0,4257	0,5475	0,0478	0,2619	0,6903
0,0933	0,0946	0,8121	0,0257	0,4070	0,5673	0,0472	0,2587	0,6941
0,0901	0,1088	0,8012	0,0317	0,3994	0,5689	0,0489	0,2573	0,6938
0,1528	0,0015	0,8457	0,0000	0,5084	0,4916	0,0484	0,2546	0,6970
0,1526	0,0023	0,8451	0,0209	0,4780	0,5012	0,0496	0,2536	0,6968
0,1503	0,0023	0,8475	0,0199	0,4568	0,5233	0,0493	0,2520	0,6987
0,1501	0,0030	0,8470	0,0214	0,4547	0,5239	0,0513	0,2503	0,6983
0,1481	0,0029	0,8489	0,0210	0,4445	0,5345	0,0503	0,2452	0,7045
0,0535	0,2426	0,7040	0,0545	0,2289	0,7166	0,0582	0,2150	0,7268
0,0525	0,2380	0,7095	0,0565	0,2274	0,7161	0,0577	0,2133	0,7289
0,0537	0,2370	0,7092	0,0559	0,2248	0,7193	0,0599	0,2117	0,7284
0,0534	0,2355	0,7111	0,0573	0,2238	0,7190	0,0585	0,2066	0,7350
0,0557	0,2337	0,7107	0,0555	0,2170	0,7275			

Tabela A 7. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo NRTL.

PEG 2000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0998	0,1626	0,7375	0,1186	4,1E-35	0,8814
0,0982	0,3183	0,5835	0,1422	1,6E-47	0,8578
0,1551	0,2226	0,6223	0,1998	1,0E-76	0,8002
0,0663	0,5561	0,3777	0,1457	8,3E-56	0,8543

Tabela A 8. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo NRTL.

PEG 2000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,1105	0,4639	0,4255	0,2010	6,7E-62	0,7990
0,1179	0,2415	0,6406	0,1496	1,6E-37	0,8504
0,0955	0,3250	0,5795	0,1361	2,8E-28	0,8639
0,1255	0,3233	0,5512	0,1775	5,8E-54	0,8225
0,0445	0,8078	0,1477	0,2260	2,6E-72	0,7740

Tabela A 9. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo NRTL.

PEG 4000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0680	0,2703	0,6617	0,0944	2,5E-50	0,9056
0,0982	0,1744	0,7274	0,1201	1,1E-37	0,8799
0,0891	0,2642	0,6466	0,1224	1,1E-41	0,8776
0,1210	0,3054	0,5736	0,1779	2,3E-62	0,8221

Tabela A 10. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo NRTL.

PEG 4000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,1061	0,3071	0,5867	0,1475	3,7E-28	0,8525
0,0939	0,5174	0,3887	0,1850	3,5E-46	0,8150
0,0962	0,2925	0,6113	0,1314	1,2E-21	0,8686
0,1258	0,3064	0,5678	0,1733	1,1E-39	0,8267
0,1070	0,1194	0,7736	0,1191	4,6E-14	0,8809

Tabela A 11. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo NRTL.

PEG 6000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0988	0,4093	0,4920	0,1675	4,5E-22	0,8325
0,0393	0,6686	0,2921	0,1182	1,4E-16	0,8818
0,1124	0,2196	0,6680	0,1443	6,8E-13	0,8557
0,1157	0,0578	0,8265	0,1230	1,5E-08	0,8770
0,1077	0,2614	0,6310	0,1463	2,6E-20	0,8537

Tabela A 12. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo NRTL.

PEG 6000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,1079	0,3809	0,5112	0,1787	1,9E-72	0,8213
0,0680	0,5466	0,3854	0,1520	4,1E-55	0,8480
0,0957	0,1498	0,7545	0,1129	9,4E-20	0,8871
0,0183	0,9068	0,0749	0,1991	6,6E-76	0,8009

Tabela A 13. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIQUAC.

PEG 2000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0983	0,1708	0,7308	0,1219	0,0279	0,8501
0,1023	0,2586	0,6392	0,1443	0,0259	0,8298
0,0917	0,5055	0,4029	0,1963	0,0234	0,7803
0,0889	0,3623	0,5488	0,1448	0,0343	0,8209

Tabela A 14. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIQUAC.

PEG 2000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0954	0,4809	0,4237	0,2074	0,0115	0,7811
0,1076	0,2623	0,6301	0,1560	0,0190	0,8250
0,1085	0,1912	0,7003	0,1393	0,0256	0,8351
0,0954	0,4266	0,4781	0,1831	0,0158	0,8011
0,0926	0,5422	0,3653	0,2339	0,0078	0,7583

Tabela A 15. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIQUAC.

PEG 4000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0687	0,2603	0,6709	0,0961	0,0247	0,8791
0,0887	0,2390	0,6723	0,1175	0,0372	0,8454
0,0871	0,2681	0,6448	0,1202	0,0380	0,8418
0,1020	0,3918	0,5063	0,1740	0,0285	0,7974

Tabela A 16. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIQUAC.

PEG 4000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,1025	0,2868	0,6108	0,1466	0,0356	0,8179
0,1053	0,4070	0,4877	0,1871	0,0265	0,7863
0,1007	0,2170	0,6823	0,1293	0,0381	0,8326
0,1048	0,3733	0,5220	0,1743	0,0301	0,7955
0,1039	0,1283	0,7678	0,1185	0,0355	0,8459

Tabela A 17. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIQUAC.

PEG 6000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0788	0,4615	0,4597	0,1758	5,5E-07	0,8242
0,0639	0,3609	0,5753	0,1278	2,4E-05	0,8721
0,0921	0,2792	0,6287	0,1510	2,1E-04	0,8488
0,1032	0,1681	0,7287	0,1397	2,4E-03	0,8579
0,0944	0,3030	0,6026	0,1571	1,4E-06	0,8429

Tabela A 18. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIQUAC.

PEG 6000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,1036	0,3330	0,5634	0,2018	1,5E-06	0,7982
0,0870	0,3214	0,5917	0,1770	5,4E-05	0,8230
0,0919	0,1423	0,7657	0,1248	8,7E-03	0,8665
0,0457	0,6753	0,2790	0,2133	2,3E-05	0,7867

Tabela A 19. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIFAC.

PEG 2000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0835	0,2076	0,7089	0,1368	0,0554	0,8078
0,0729	0,3127	0,6144	0,1500	0,0631	0,7869
0,0788	0,4239	0,4972	0,2090	0,0060	0,7850
0,0714	0,3534	0,5753	0,1584	0,0429	0,7987

Tabela A 20. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIFAC.

PEG 2000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0617	0,4614	0,4770	0,2216	0,0529	0,7256
0,0750	0,3091	0,6159	0,1641	0,0515	0,7844
0,0820	0,2454	0,6727	0,1449	0,0543	0,8008
0,0638	0,4226	0,5136	0,1931	0,0445	0,7624
0,0611	0,4915	0,4474	0,2609	0,0477	0,6914

Tabela A 21. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIFAC.

PEG 4000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0586	0,2801	0,6614	0,1621	0,0093	0,8287
0,0620	0,2598	0,6782	0,1456	0,0400	0,8144
0,0601	0,2910	0,6488	0,1524	0,0334	0,8143
0,0511	0,4244	0,5244	0,2000	0,0109	0,7891

Tabela A 22. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIFAC.

PEG 4000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0592	0,3074	0,6335	0,1676	0,0364	0,7961
0,0510	0,4450	0,5040	0,2280	0,0064	0,7657
0,0601	0,2768	0,6631	0,1395	0,0404	0,8202
0,0553	0,3664	0,5783	0,2075	0,0188	0,7737
0,0703	0,1846	0,7451	0,1222	0,0604	0,8174

Tabela A 23. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo UNIFAC.

PEG 6000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,1083	0,3364	0,5553	0,1665	0,0258	0,8077
0,0797	0,3097	0,6106	0,1167	0,0279	0,8554
0,1020	0,2774	0,6206	0,1399	0,0353	0,8248
0,0998	0,1842	0,7160	0,1198	0,0370	0,8432
0,0982	0,3123	0,5895	0,1441	0,0302	0,8257

Tabela A 24. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo UNIFAC.

PEG 6000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,1043	0,3792	0,5164	0,1676	0,0439	0,7884
0,0963	0,3473	0,5564	0,1482	0,0330	0,8188
0,0908	0,1841	0,7251	0,1076	0,0471	0,8453
0,1159	0,4043	0,4798	0,1900	0,0698	0,7402

Tabela A 25. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo ASOG.

PEG 2000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0332	0,2546	0,7122	0,2137	2,2E-06	0,7863
0,0275	0,2608	0,7117	0,2666	3,3E-07	0,7334
0,0306	0,2272	0,7422	0,2969	7,7E-18	0,7031
0,0297	0,2887	0,6816	0,2693	7,2E-07	0,7307

Tabela A 26. Dados calculados para PEG 2000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo ASOG.

PEG 2000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0018	0,4816	0,5165	0,2823	5,3E-15	0,7177
0,0053	0,3582	0,6365	0,2200	1,5E-12	0,7800
0,0091	0,3999	0,5910	0,1734	9,3E-11	0,8266
0,0020	0,6094	0,3886	0,2075	4,1E-15	0,7925
0,0015	0,4918	0,5067	0,3437	2,9E-16	0,6563

Tabela A 27. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo ASOG.

PEG 4000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0003	0,3858	0,6139	0,1987	1,4E-87	0,8013
0,0004	0,2938	0,7057	0,2189	2,7E-66	0,7811
0,0005	0,3372	0,6624	0,2140	2,2E-61	0,7860
0,0003	0,3522	0,6475	0,2610	3,0E-82	0,7390

Tabela A 28. Dados calculados para PEG 4000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo ASOG.

PEG 4000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0020	0,3405	0,6575	0,2094	3,8E-34	0,7906
0,0008	0,6658	0,3334	0,2138	2,6E-44	0,7862
0,0030	0,3370	0,6600	0,1686	2,2E-30	0,8314
0,0013	0,3975	0,6012	0,2403	1,2E-40	0,7597
0,0070	0,2447	0,7482	0,1695	4,0E-23	0,8305

Tabela A 29. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 5°C pelo modelo ASOG.

PEG 6000 5°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0279	0,3212	0,6510	0,3017	2,7E-28	0,6983
0,0267	0,2146	0,7587	0,3256	1,5E-16	0,6744
0,0284	0,2112	0,7604	0,2238	9,3E-16	0,7762
0,0268	0,3700	0,6033	0,1713	5,3E-11	0,8287
0,0252	0,3393	0,6355	0,2285	1,0E-25	0,7715

Tabela A 30. Dados calculados para PEG 6000 e Sulfato de amônio a 25°C pelo modelo ASOG.

PEG 6000 25°C					
Fase de topo(w)			Fase de fundo(w)		
Sal	PEG	Água	Sal	PEG	Água
0,0329	0,4319	0,5352	0,2557	4,6E-15	0,7443
0,0349	0,3015	0,6636	0,2959	9,0E-12	0,7041
0,0389	0,2481	0,7130	0,1484	1,4E-05	0,8516
0,0457	0,3918	0,5624	0,4263	1,8E-04	0,5736

Tabela A 31. Parâmetros estimados para o modelo NRTL.

<i>i-j</i>	PEG 2000		PEG 4000		PEG 6000	
	A_{ij}	A_{ji}	A_{ij}	A_{ji}	A_{ij}	A_{ji}
AS - PEG 4000	4448,9	7950,7	6660,1	6241,1	9922,4	1761,2
AS - Água	5669,5	-904,3	4646,8	-861,1	3827,2	-452,4
PEG 4000 - Água	-1191,6	7517,3	7950,8	7990,4	9248,8	9540,1

Tabela A 32. Parâmetros estimados para o modelo UNIQUAC.

<i>i-j</i>	PEG 2000		PEG 4000		PEG 6000	
	τ_{ij}	τ_{ji}	τ_{ij}	τ_{ji}	τ_{ij}	τ_{ji}
AS - PEG 4000	1679,4	2622,8	1352,2	2094,4	956,5	1390,4
AS - Água	331,7	-543,0	737,3	616,2	-2225,7	-2016,0
PEG 4000 - Água	348,7	196,6	186,3	177,2	93,4	140,5

Tabela A 33. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC para PEG 2000.

<i>i-j</i>	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	AS
Água	0	856,5983	2677,657	-2330,99
CH ₂ OH	-109,849	0	1180,485	-2245,08
CH ₂ OCH ₂	2360,211	1717,034	0	-1568,52
AS	-459,498	2962,15	2094,591	0

Tabela A 34. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC para PEG 4000.

<i>i-j</i>	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	AS
Água	0	1638,113	2840,578	-2817,84
CH ₂ OH	1985,373	0	-2401,53	-435,459
CH ₂ OCH ₂	2678,715	2015,029	0	-2090,08
AS	1857,94	1396,973	2600,178	0

Tabela A 35. Parâmetros estimados para o modelo UNIFAC para PEG 6000.

<i>i-j</i>	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	AS
Água	0	1316,175	745,4001	-1676,36
CH ₂ OH	-259,286	0	525,9948	2887,45
CH ₂ OCH ₂	1949,765	-2151,03	0	1864,404
AS	2553,485	2167,444	-925,337	0

Tabela A 36. Parâmetros estimados para o modelo ASOG para PEG 2000.

<i>i-j</i>	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	AS
Água	1	16863,32	3,172755	3,533464
CH ₂ OH	32,3302	1	313,536	5,311856
CH ₂ OCH ₂	2816,214	54,65071	1	2,239205
AS	11242,34	6383,816	2,278995	1

Tabela A 37. Parâmetros estimados para o modelo ASOG para PEG 4000.

<i>i-j</i>	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	AS
Água	1	18295,27	331,4208	29,64811
CH ₂ OH	114,5887	1	12838,85	29,33222
CH ₂ OCH ₂	4122,186	514,1333	1	3,39771
AS	13554,12	1451,257	11,45585	1

Tabela A 38. Parâmetros estimados para o modelo ASOG para PEG 6000.

<i>i-j</i>	Água	CH ₂ OH	CH ₂ OCH ₂	AS
Água	1	865,8132	1,362186	1,589063
CH ₂ OH	1627,118	1	125,5565	3,548871
CH ₂ OCH ₂	15,1999	2011,949	1	1,034508
AS	211,9989	1404,975	1,481203	1