

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DANIELA DE ARAUJO SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DA PARTIÇÃO DA CAFEÍNA EM SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS
CONVENCIONAL (SDFA) E COMPOSTO POR LÍQUIDO IÔNICO (LI-SDFA)**



CURITIBA

2016

DANIELA DE ARAUJO SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DA PARTIÇÃO DA CAFEÍNA EM SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS
CONVENCIONAL (SDFA) E COMPOSTO POR LÍQUIDO IÔNICO (LI-SDFA)**

Tese apresentada ao curso de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fernanda de Castilhos
Coorientador: Prof. Dr. Marcos R. Mafra

CURITIBA
2016

Sampaio, Daniela de Araujo

Avaliação da participação da cafeína em sistema de duas fases aquosas convencional (SDFA) e composto por líquido iônico (LI-SDFA) / Daniela de Araújo Sampaio. – Curitiba, 2016.

129 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos

Orientadora: Fernanda de Castilhos

Coorientador: Marcos R. Mafra

Bibliografia: p. 102-114

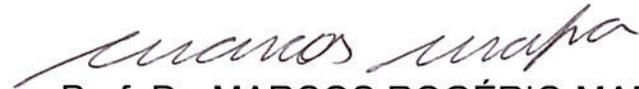
1. Extração (Química). 2. Equilíbrio líquido- líquido. 3. Cafeína.
I. Castilhos, Fernanda de. II. Mafra, Marcos R. III. Título.

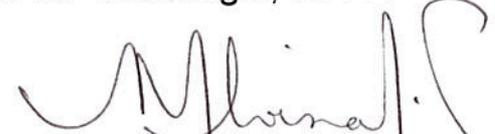
CDD 664.024

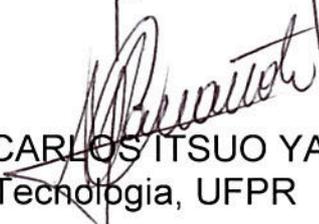
DANIELA DE ARAÚJO SAMPAIO

AVALIAÇÃO DA PARTIÇÃO DA CAFÉINA EM SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS CONVENCIONAL (SDFA) E COMPOSTO POR LÍQUIDO IÔNICO (LI-SDFA)

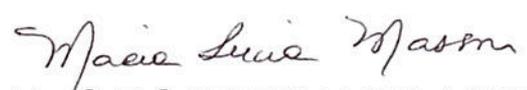
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:


Coorientador: Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO MAFRA
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof.^a. Dr.^a. MARIA ALVINA KRÄHENBÜHL
Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP


Prof. Dr. CARLOS ITSUO YAMAMOTO
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof.^a. Dr.^a. LUCIANA GARASHI MAFRA
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof.^a. Dr.^a. MARIA LUCIA MASSON
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 29 de março de 2016.

Para minha mãe, Wany Sampaio, por tudo
que sou e por tudo que conquistei.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Wany, por sempre estar do meu lado e por ser a minha maior fonte de inspiração. À minha irmã, Rafaela, por todo incentivo e torcida incansáveis. Aos familiares, pela compreensão da minha ausência neste longo período.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Fernanda de Castilhos pelo exemplo de profissionalismo, pela orientação desde o mestrado e acima de tudo pela amizade.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Marcos R. Mafra, pela compreensão, por ter me acolhido no LATOS e por ter enfrentado ao meu lado o desafio de realizar este trabalho nas condições iniciais totalmente adversas. À Prof^a. Dr^a. Luciana Igarashi

Mafra, pelo apoio sempre, por todas as sugestões e dicas para que este trabalho saísse do papel e evoluísse. Ao Prof. Dr. Carlos Itsuo Yamamoto por todo o suporte, por sempre ter mostrado disposição em ajudar e pelas sugestões que ofereceu para melhorar este trabalho na época de qualificação. À Prof^a. Dr^a. Michèle Oberson de

Souza, por ter aberto as portas do Instituto de Química da UFRGS e pelas orientações super construtivas e à Andrieli Dias Martins, por ter me mostrado esse mundo fascinante da síntese de líquidos iônicos. À “Família LATOS” por terem me aguentado todos esses dias (haha), por terem feito café (haha), por terem desligado a estufa e lavado a minha louça (haha) e por terem ajudado neste trabalho (esse é sério). Aos amigos que fiz no PPGEAL (eu tive a sorte de serem muitos e eu teria que escrever outra tese para citar um por um), por terem enxugado minhas lágrimas e por terem dividido as melhores risadas, vocês foram fundamentais. Ao Luis Kanda e ao Filipe Hobi, por (além de toda a amizade) nunca terem sequer medido esforços pra me ajudar na realização deste trabalho. À Sheila, Patrícia e Andreia, por estarem sempre à disposição para ajudar e mais ainda, por ser ajuda de coração. À coordenação do PPGEAL e à Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

RESUMO

A extração de compostos de origem biológica demanda técnicas que ofereçam elevados níveis de pureza e que possibilitem o uso da molécula de interesse nas indústrias farmacêutica, química e de alimentos. Os métodos de extração aplicados usualmente apresentam possibilidades de presença de resíduos orgânicos, altos custo e consumo energético, além de problemas de cunho ambiental. Uma alternativa para separação de biocompostos é a extração em Sistemas de Duas Fases Aquosas (SDFA), fundamentada na formação de duas fases aquosas imiscíveis (ou parcialmente miscíveis) entre si, nas quais as moléculas de interesse se particionam de acordo com suas afinidades pelas fases do sistema. Assim, este trabalho teve por objetivo obter dados de equilíbrio líquido-líquido (ELL) e avaliar a partição da cafeína em SDFA convencionais (utilizando polietileno glicol e sal inorgânico) e compostos por líquido iônico e sal inorgânico (LI-SDFA), de forma a avaliar o emprego de líquido iônico (LI) como substituinte do polímero em SDFA. Para tanto, dados de equilíbrio líquido-líquido (ELL) dos SDFA e LI-SDFA investigados (com e sem adição de cafeína) foram obtidos nas temperaturas estudadas, consistindo em curvas binodais, linhas de amarração (LA), comprimento das linhas de amarração (CLA) e inclinação das linhas de amarração (ILA), de forma que o coeficiente de partição (k) da cafeína também pôde ser relacionado com esses parâmetros termodinâmicos. Foi investigada a influência de vários parâmetros dos SDFA e LI-SDFA no coeficiente de partição como temperatura (T), massa molar (MM) do polímero, natureza do sal inorgânico. A consistência termodinâmica dos dados de ELL obtidos foi verificada através das correlações de Othmer-Tobias (1942) e Hand (1930). Independente do sistema, a cafeína apresentou maior afinidade pelas fases orgânicas (ricas em PEG ou BMI.BF₄) e o coeficiente de partição mostrou ser inversamente proporcional à MM do polímero; diretamente proporcional à temperatura do sistema e com tendência a seguir a série de Hofmeister em relação ao sal inorgânico ($k_{Na_2SO_4} > k_{NaNO_3}$). Foi observado também que a adição de cafeína não exerceu grande influência sobre os dados de ELL dos sistemas investigados.

Palavras-chave: Sistemas de Duas Fases Aquosas; Equilíbrio Líquido-Líquido; Partição de Cafeína; Tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio

ABSTRACT

This study aimed to obtain liquid-liquid equilibrium (LLE) data and evaluate caffeine partitioning in conventional Aqueous Two Phase Systems (ATPS) (using polyethylene glycol and inorganic salt) and composed by ionic liquid (LI) and inorganic salt (IL-ATPS) in order to evaluate the IL as polymer substituent in ATPS. Biological compounds extraction demands techniques that provide high levels of purity and to enable the use of the molecule of interest in the pharmaceutical, chemical and food industries. The extraction methods usually applied present possibilities of presence of organic residues, high cost and energy consumption, and environmental nature problems. An alternative to biocompounds separation is the use of extraction in Aqueous Two Phase Systems (ATPS), based on the formation of two immiscible (or partially miscible) aqueous phases, in which the molecules of interest are partitioned accordingly to their affinities by the phases of the system. Therefore, Liquid-Liquid Equilibrium data (LLE) of both ATPS and LI-ATPS investigated (with and without caffeine) were obtained at studied temperatures, consisting of binodal curves, tie-lines (TL), tie-line length (TLL) and slope of the tie-line (STL), so that the caffeine partition coefficient (k) also could be related to these thermodynamic parameters. It was investigated the influence of several parameters of ATPS and IL-ATPS on partition coefficient as temperature, molar weight (MW) of the polymer, source of the inorganic salt. Othmer-Tobias (1942) and Hand (1930) equations were applied for verification of LLE data thermodynamics consistence. Regardless of the system, caffeine presented greater affinity for organic phases (rich in PEG or BMI.BF₄) and the partition coefficient showed to be inversely proportional to the polymer MW; increase with the system temperature and tendency to follow the Hofmeister Series in relation to the inorganic salt ($k_{Na_2SO_4} > k_{NaNO_3}$). Also, it was observed that the addition of caffeine did not exert great influence on LLE data of the investigated systems.

Key-words: Aqueous Two Phase Systems; Liquid-Liquid Equilibrium; Caffeine Partitioning; 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate

LISTA DE ABREVIATURAS

SDFA – Sistema de Duas Fases Aquosas

LI – Líquido Iônico

MM – Massa Molar

LI-SDFA – Sistema de Duas Fases Aquosas composto por Líquido Iônico

ELL – Equilíbrio Líquido-Líquido

PEG – Polietilenoglicol

BMI.BF₄ – Tetrafluoroborato de 1-butil-3-metil Imidazólio

BMI.Cl – Cloreto de 1-butil-3-metil imidazólio

TFA – Flavonoides total de *Astragalus membranaceus*

CLA – Comprimento da Linha de Amarração

ILA – Inclinação da Linha de Amarração

LA – Linha de Amarração

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

TG – Termogravimetria

FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

LATOS – Laboratório de Termodinâmica e Operações de Separações

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UV/VIS – Ultravioleta/Visível

T – Temperatura

LISTA DE SÍMBOLOS

k = Coeficiente de partição

C_l = Concentração de equilíbrio do composto na fase leve

C_p = Concentração de equilíbrio do composto na fase pesada

C_o = Concentração de equilíbrio do composto na fase orgânica

C_i = Concentração de equilíbrio do composto na fase inorgânica

J = Joule

g = grama

K = Kelvin

cP = centiPoise

cS = centiStokes

Pa = Pascal

s = segundo

cm^3 = centímetro cúbico

M = mistura (sistema)

T = fase de topo

F = fase de fundo;

X = fração mássica do componente X

Y = fração mássica do componente Y

A = Parâmetro ajustável de Merchuk *et al.* (1998)

B = Parâmetro ajustável de de Merchuk *et al.* (1998)

C = Parâmetro ajustável de Merchuk *et al.* (1998)

α = razão entre a massa da fase de topo e a massa total do sistema

F = Parâmetro ajustável de Othmer e Tobias (1942)

F' = Parâmetro ajustável de Othmer e Tobias (1942)

G = Parâmetro ajustável de Hand (1930)

G' = Parâmetro ajustável de Hand (1930)

R^2 = Coeficiente de determinação

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – DIAGRAMA DE FASES GENÉRICO PARA UM SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS CONSTITUÍDO DE UM POLÍMERO E UM SAL. ...	29
FIGURA 2 - ALQUILAÇÃO DO METILIMIDAZOL COM N-CLOROBUTANO DANDO O CORRESPONDENTE CLORETO DE N-BUTIL-N-METILIMIDAZÓLIO.....	35
FIGURA 3 – POLIETILENOGLICOL	39
FIGURA 4 – SÉRIE DE HOFMEISTER.....	41
FIGURA 5 – ESTRUTURA QUÍMICA DA CAFEÍNA	43
FIGURA 6 - ESTRUTURA DO LÍQUIDO IÔNICO BMI.BF ₄	47
FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DE SÍNTESE DO BMI.BF ₄	49
FIGURA 8 – REAÇÃO DO 1- METILIMIDAZÓLIO COM 1-CLOROBUTANO EM ACETONA PRODUZINDO BMI.Cl	50
FIGURA 9 – REAÇÃO DO BMI.Cl COM TETRAFLUOROBORATO DE POTÁSSIO EM ACETONA PRODUZINDO KCl E BMI.BF ₄	50
FIGURA 10 – ESQUEMA DO APARATO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA A OBTENÇÃO DAS CURVAS DE EQUILÍBRIO: (1) BANHO TERMOSTÁTICO; (2) AGITADOR MAGNÉTICO; (3) CÉLULA DE EQUILÍBRIO; (4) BARRA DE AGITAÇÃO MAGNÉTICA; (5) PONTOS DE AMOSTRAGEM; (6) ENTRADA E (7) SAÍDA DE FLUÍDO DE AQUECIMENTO NA CÉLULA DE EQUILÍBRIO	51
FIGURA 11 - ESPECTRO DE VARREDURA DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE CAFEÍNA (5 mg/L e 20 mg/L)	56
FIGURA 12 – CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CAFEÍNA..	56
FIGURA 13 – CURVA BINODAL OBTIDA EXPERIMENTALMENTE E CALCULADA PELO MODELO PROPOSTO POR MERCHUCK et al. (1998) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O A 20 °C	57
FIGURA 14 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O A 20 °C.	59
FIGURA 15 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20 °C OBTIDO NESTE TRABALHO.....	60

FIGURA 16 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20 °C OBTIDO NESTE TRABALHO.....	60
FIGURA 17 – CURVAS BINODAIS OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA OS SISTEMAS PEG + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20 °C.....	62
FIGURA 18 – CURVAS BINODAIS OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA OS SISTEMAS PEG + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 40 °C.....	62
FIGURA 19 – CURVAS BINODAIS OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA OS SISTEMAS PEG + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 60 °C.....	62
FIGURA 20 – CURVAS BINODAIS PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM DIFERENTES TEMPERATURAS.....	64
FIGURA 21 – CURVAS DE EQUILÍBRIO PARA O SISTEMA PEG 4000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM DIFERENTES TEMPERATURAS	64
FIGURA 22 – CURVAS DE EQUILÍBRIO OBTIDAS PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM DIFERENTES TEMPERATURAS.....	65
FIGURA 23 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20 °C.....	66
FIGURA 24 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 40 °C.....	66
FIGURA 25 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 60 °C.....	67
FIGURA 26 – LINHAS DE AMARRAÇÃO O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O À 20, 40 E 60 °C.....	67
FIGURA 27 - CURVA DE EQUILÍBRIO OBTIDA NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 25 °C	70
FIGURA 28 - CURVA DE EQUILÍBRIO OBTIDA NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA PEG 1500 + NaNO ₃ + H ₂ O EM T = 25 °C	71
FIGURA 29 – LINHAS DE AMARRAÇÃO OBTIDAS NESTE TRABALHO E REPORTADAS POR MARTINS et al. (2008) PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 25 °C	72
FIGURA 30 - CURVAS DE EQUILÍBRIO PARA O SISTEMA PEG + NaNO ₃ + H ₂ O EM T = 25 °C (*) GRABER et al. (2001) (**) GRABER e TABOADA (2000).....	73
FIGURA 31 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 25 °C.....	75

FIGURA 32 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + NaNO ₃ + H ₂ O EM T = 25 °C	75
FIGURA 33 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 25 °C	79
FIGURA 34 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ + NaNO ₃ + H ₂ O EM T = 25 °C	79
FIGURA 35 – LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 4000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	82
FIGURA 36 – LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	82
FIGURA 37 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 20 °C	85
FIGURA 38 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 40 °C	86
FIGURA 39 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 60 °C	86
FIGURA 40 – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO COMPRIMENTO DA LINHA DE AMARRAÇÃO NO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DA CAFEÍNA EM PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O	89
FIGURA 41 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	91
FIGURA 42 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + NaNO ₃ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	91
FIGURA 43 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C.....	94
FIGURA 44 – BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ + NaNO ₃ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C.....	94
FIGURA 45 – MELHORES VALORES DE COEFICIENTE DE PARTIÇÃO PARA OS SISTEMAS PEG*/BMI.BF ₄ ** + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O (onde *T = 20 °C e **T = 25 °C).....	98
FIGURA 46 – MELHORES VALORES DE COEFICIENTE DE PARTIÇÃO PARA OS SISTEMAS PEG/BMI.BF ₄ + NaNO ₃ + H ₂ O EM T = 25 °C.....	98

FIGURA AI 1 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO LÍQUIDO IÔNICO (BMI.BF ₄) SINTETIZADO NESTE TRABALHO	115
FIGURA AIII 1 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O (2)	121
FIGURA AIII 2 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O (2)	121
FIGURA AIII 3 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O (2).....	121
FIGURA AIII 4 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O (2)	122
FIGURA AIII 5 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O (2)	122
Figura AIII 6 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O (2)	122
FIGURA AIII 7 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 4000 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2) EM T = 25 °C.....	123
FIGURA AIII 8 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 6000 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2) EM T = 25 °C	123
FIGURA AIII 9 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 4000 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O (2) + CAFEÍNA EM T = 25 °C	123
FIGURA AIII 10 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 6000 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O (2) + CAFEÍNA EM T = 25 °C.....	124
FIGURA AIII 11 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2).....	124
FIGURA AIII 12 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na ₂ SO ₄ (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2).....	124
FIGURA AIII 13 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	125
FIGURA AIII 14 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	125
FIGURA AIII 15 - CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	125
FIGURA AIII 16 - CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG BMI.BF ₄ (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	126

FIGURA AIV 1 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O E PEG 1500 + NaNO ₃ + H ₂ O EM T = 25 °C.....	127
FIGURA AIV 2 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS BMI.BF ₄ + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O E BMI.BF ₄ + NaNO ₃ + H ₂ O EM T = 25 °C	127
FIGURA AIV 3 – LINHAS DE AMARRAÇÃO O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA À 20, 40 E 60 °C.....	128
FIGURA AIV 4 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA E PEG 1500 + NaNO ₃ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °.....	128
FIGURA AIV 5 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS BMI.BF ₄ + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA E BMI.BF ₄ + NaNO ₃ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	129

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS E SEUS COMPONENTES	25
TABELA 2 – FATORES QUE PODEM INFLUENCIAR O DIAGRAMA DE FASES...	30
TABELA 3 – FATORES QUE INFLUENCIAM NA PARTIÇÃO DAS MOLÉCULAS ENTRE AS FASES DE UM SDFA	31
TABELA 4 - LÍQUIDOS IÔNICOS BASEADOS EM IMIDAZÓLIO E SUAS ABREVIações	34
TABELA 5 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS LÍQUIDOS IÔNICOS DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS ÍONS QUE OS COMPÕEM	35
TABELA 6 – PRINCIPAIS PROPRIEDADES DOS LÍQUIDOS IÔNICOS E SUAS CARACTERÍSTICAS PREDOMINANTES	37
TABELA 7 - ESTUDOS RECENTES ENVOLVENDO SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS E LÍQUIDOS IÔNICOS PARA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO	39
TABELA 8 – PROPRIEDADES DE ALGUNS PEGs	40
TABELA 9 – REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO	46
TABELA 9 – REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO (CONTINUAÇÃO)	47
TABELA 10 - DADOS DE EQUILÍBRIO PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20 °C.....	58
TABELA 11 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20 °C OBTIDOS NESTE TRABALHO.....	60
TABELA 12 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20 °C OBTIDOS NESTE TRABALHO.....	60
TABELA 13 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DE MERCHUK (EQUAÇÃO 7) PARA AS CURVAS BINODAIS DO SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM DIFERENTES TEMPERATURAS	63

TABELA 14 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T = 20, 40 E 60 °C	68
TABELA 15 – INCLINAÇÃO MÉDIA DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO DO SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM DIFERENTES TEMPERATURAS	69
TABELA 16 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na ₂ SO ₄ (3) + H ₂ O (2)	69
TABELA 17 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na ₂ SO ₄ (3) + H ₂ O (2)	69
TABELA 18 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DE MERCHUK (EQUAÇÃO 7) PARA AS CURVAS BINODAIS DOS SISTEMAS PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H ₂ O EM T = 25 °C	73
TABELA 19 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H ₂ O EM T = 25 °C	74
TABELA 20 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O (2)	76
TABELA 21 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O (2) ...	76
TABELA 22 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ + SAL DE SÓDIO + H ₂ O EM T = 25 °C	78
TABELA 23 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DE MERCHUK (EQUAÇÃO 7) PARA AS CURVAS BINODAIS DOS SISTEMAS BMI.BF ₄ + SAL DE SÓDIO + H ₂ O EM T = 25 °C	80
TABELA 24 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O (2)	80
TABELA 25 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O (2)	80

TABELA 26 – COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DE CAFÉINA PARA O SISTEMA PEG 4000/6000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	83
TABELA 27 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMERTOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	84
TABELA 28 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	85
TABELA 29 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DE CAFEÍNA PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 20, 40 E 60 °C	87
TABELA 30 – INCLINAÇÃO MÉDIA DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO DO SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA EM DIFERENTES TEMPERATURAS.....	88
TABELA 31 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMERTOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na ₂ SO ₄ (3) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	89
TABELA 32 - PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na ₂ SO ₄ (3) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	89
TABELA 33 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DA CAFEÍNA PARA O SISTEMA PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H ₂ O + CAFÉINA EM T = 25 °C	92
TABELA 34 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMERTOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	93
TABELA 35 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	93

TABELA 36 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DA CAFEÍNA PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ + SAL DE SÓDIO + H ₂ O + CAFEÍNA EM T = 25 °C	95
TABELA 37 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	97
TABELA 38 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H ₂ O + CAFEÍNA (2)	97
TABELA AII 1 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 6000 (1) + Na ₂ SO ₄ (2) + H ₂ O EM T= 20, 40 e 60 °C	116
TABELA AII 2 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 400 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T= 20, 40 e 60 °C	117
TABELA AII 3 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 4000 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O EM T= 20, 40 e 60 °C	118
TABELA AII 4 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H ₂ O EM T = 25 °C	119
TABELA AII 5 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA BMI.BF ₄ + SAL DE SÓDIO + H ₂ O EM T = 25 °C	120

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1 SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS (SDFA)	24
2.2 DIAGRAMA DE FASES LÍQUIDO-LÍQUIDO PARA SDFA	28
2.3 PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS EM SDFA	30
2.4 LÍQUIDO IÔNICO (LI)	32
2.5 SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS COMPOSTOS POR LÍQUIDO IÔNICO (LI-SDFA)	38
2.6 FORMADORES DE FASES UTILIZADOS NESTE TRABALHO	39
2.6.1 Polietilenoglicol	39
2.6.2 Sais inorgânicos	41
2.6.3 Tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio (BMI.BF ₄)	42
2.7 CAFEÍNA	42
2.8 CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE	44
3. METODOLOGIA	46
3.1 MATERIAIS	46
3.2 SÍNTESE DO LÍQUIDO IÔNICO	47
3.3 OBTENÇÃO DAS CURVAS BINODAIS	50
3.4 OBTENÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO (LA)	52
3.5 DETERMINAÇÃO DA PARTIÇÃO DA CAFEÍNA	55
3.6 QUANTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA POR ESPECTROFOTOMETRIA	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1 VALIDAÇÃO DO APARATO EXPERIMENTAL PARA OBTENÇÃO DAS CURVAS BINODAIS E LINHAS DE AMARRAÇÃO	57
4.2 SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS SEM ADIÇÃO DE CAFEÍNA: DADOS DE ELL	61
4.2.1 SDFA convencionais	61
4.2.1.1 Efeito da MM do PEG na região de duas fases dos sistemas	61
4.2.1.2 Efeito da temperatura na região de duas fases dos sistemas e nas linhas de amarração	63

4.2.1.3	Efeito do sal inorgânico na região de duas fases dos sistemas e nas linhas de amarração	70
4.2.2	LI-SDFA.....	76
4.3	SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS COM ADIÇÃO DE CAFEÍNA: DADOS DE ELL E COEFICIENTES DE PARTIÇÃO.....	81
4.3.1	SDFA convencionais.....	81
4.3.1.1	Efeito da MM de PEG na partição da cafeína.....	81
4.3.1.2	Efeito da temperatura na partição da cafeína	85
4.3.1.3	Efeito do sal inorgânico na partição da cafeína	90
4.3.2	LI-SDFA.....	93
4.3.3	SDFA <i>versus</i> LI-SDFA para partição da cafeína	97
5.	CONCLUSÕES	100
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102
APÊNDICE I	115
APÊNDICE II	116
APÊNDICE III	121
APÊNDICE IV	127

1. INTRODUÇÃO

A extração de compostos de origem biológica demanda técnicas que ofereçam elevados níveis de pureza e que, portanto, possibilitem o uso da molécula de interesse nas indústrias farmacêutica, química e de alimentos. No entanto, os métodos de extração aplicados usualmente apresentam inconveniências como a possibilidade de presença de resíduos orgânicos, altos custo e consumo energético, além de problemas de cunho ambiental (pela aplicação de solventes tóxicos).

Neste sentido, uma alternativa para separação de biocompostos diz respeito à extração em Sistemas de Duas Fases Aquosas (SDFA), uma subdivisão da extração líquido-líquido, que se fundamenta na formação de duas fases aquosas imiscíveis (ou parcialmente miscíveis) entre si nas quais as moléculas de interesse se distribuem, ou seja, se particionam, de acordo com suas afinidades pelas fases do sistema.

Comumente as fases dos SDFA são compostas por soluções aquosas de polímero-polímero ou polímero-sal inorgânico. Entretanto, tem sido sugerido que o processo de extração em SDFA pode ter suas características aperfeiçoadas com a utilização de Líquidos Iônicos (LI) como substituintes de uma das fases do sistema (LI-SDFA). Preferencialmente, os polímeros são substituídos, evitando assim a alta viscosidade que estes podem acarretar ao sistema e, conseqüentemente, facilitando a transferência de massa das moléculas entre as fases e os processos subsequentes.

A viscosidade acarretada pelos polímeros está diretamente relacionada com sua massa molar (MM), assim, quanto maior for a MM do polímero maior será a viscosidade da fase aquosa rica neste componente. Por outro lado, quando em solução aquosa, tanto os sais inorgânicos quanto LIs apresentam viscosidade desprezível. Apesar disto, é importante considerar a tendência, das fases ricas em sal (inorgânico ou LI) em promover os efeitos *salting-in* ou *salting-out*, que por sua vez, está relacionada com a Série de Hofmeister (HF).

Independente dos constituintes do SDFA, o seu emprego para extração de compostos de origem biológica em escala industrial é dependente das condições operacionais do sistema de separação e neste sentido, o conhecimento dos dados termodinâmicos de equilíbrio líquido-líquido dos SDFA é de extrema importância

para o projeto dessas unidades. A eficiência do processo, por sua vez, é dependente da escolha dos componentes formadores de fases, do conhecimento do equilíbrio de fases do sistema, além do coeficiente de partição da(s) molécula(s) de interesse entre as fases do sistema.

Um exemplo de processo de extração bastante aplicado nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos é a descafeinização, visto que: (a) há uma demanda por produtos alimentícios sem cafeína, a fim de atingir um público com restrições a este composto e (b) a cafeína isolada pode ser adicionada como princípio ativo aos fármacos e/ou como suplemento em alimentos e bebidas.

A extração da cafeína usualmente é realizada via métodos onerosos, tais como: (a) utilização de CO₂ supercrítico (que não é econômico e pode degradar a cafeína); (b) extração por água quente (que pode reduzir o conteúdo não apenas da cafeína, como de outros componentes ativos desejáveis); (c) aplicação de solventes orgânicos e (d) processos enzimáticos. Assim, a aplicação da extração em SDFA para a extração de cafeína é de interesse industrial, uma vez que se poderia conseguir a separação com elevado grau de pureza, sem as desvantagens relacionadas aos demais métodos. No entanto, é necessário se estudar mais aprofundadamente o comportamento da cafeína nestes sistemas, bem como técnicas para minorar possíveis dificuldades em purificar esse soluto após a extração em SDFA.

Na literatura são relatados poucos trabalhos com a aplicação de SDFA no estudo da partição de cafeína, indicando a necessidade de uma maior investigação dos parâmetros envolvidos, como MM do polímero, tipo de sal inorgânico, substituição do polímero por líquido iônico além da temperatura de operação. Ademais, diferentemente dos trabalhos já disponíveis na literatura, nos quais os dados de equilíbrio líquido-líquido (ELL) são pouco considerados, neste trabalho um destaque é dado para os dados de ELL e à partição da cafeína.

Nesse sentido, este trabalho apresentou como objetivo descrever o equilíbrio líquido-líquido e a partição da cafeína em sistemas de duas fases aquosas convencionais (utilizando polímero) e compostos por líquido iônico, de forma a avaliar o emprego de líquido iônico como substituinte do polímero em SDFA. Para tanto, os seguintes objetivos específicos foram realizados:

- (a) Obter dados experimentais de ELL de SDFA e LI-SDFA compostos por polietilenoglicol (PEG)/tetrafluoroborato de 1-butil-3metil imidazólio

- (BMI.BF₄) + sal inorgânico + H₂O, tais como curvas binodais, linhas de amarração (LA), comprimento das linhas de amarração (CLA) e inclinação das linhas de amarração (ILA);
- (b) Avaliar a influência de variáveis como massa molar (MM) do polímero, temperatura de operação e natureza do sal inorgânico no comportamento de fases LL;
 - (c) Obter dados experimentais de ELL de SDFA e LI-SDFA compostos por PEG/BMI.BF₄ + sal inorgânico + H₂O + cafeína e determinar o coeficiente de partição da cafeína nesses sistemas;
 - (d) Avaliar a consistência termodinâmica dos dados de ELL obtidos através das correlações de Othmer-Tobias (1942) e Hand (1930);
 - (e) Avaliar a influência da MM do polímero, temperatura de operação e natureza do sal inorgânico na partição da cafeína em SDFA e LI-SDFA;
 - (f) Comparar os SDFA e LI-SDFA com vistas à partição/processo de extração da cafeína.

A estrutura deste trabalho está dividida em seis capítulos, incluindo-se esta Introdução. No segundo capítulo apresenta-se uma breve revisão bibliográfica sobre os assuntos de interesse do trabalho. No terceiro capítulo é apresentada a metodologia aplicada. No quarto e quinto capítulos são apresentados os resultados e as conclusões, respectivamente. No sexto capítulo são apresentadas as referências bibliográficas utilizadas na realização deste trabalho.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são apresentados os assuntos de interesse deste trabalho, que incluem: sistemas de duas fases aquosas (SDFA); tradicionais e utilizando substituintes, como o líquido iônico, e suas aplicações para particionar biomoléculas. Serão apresentados também os formadores de fases utilizados neste trabalho (polietilenoglicol, sais inorgânicos de sódio e o líquido iônico tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio), bem como a molécula estudada: cafeína.

2.1 SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS (SDFA)

O processo convencional de extração líquido-líquido faz uso de solventes orgânicos que, em geral, têm se mostrado limitados quando se deseja extrair biomoléculas devido à baixa solubilidade que essas moléculas apresentam em solventes orgânicos. Uma alternativa contra tal inconveniente se baseia na utilização de dois compostos em soluções aquosas como solventes, pois quando a concentração dos compostos em solução excede um determinado valor, há a formação de fases que, por sua vez, podem atuar como extratantes biocompatíveis e estáveis, preservando a função biológica das biomoléculas. Este tipo de extração líquido-líquido é conhecido como extração em sistemas de duas fases aquosas.

Sistemas de Duas Fases Aquosas (SDFA) podem ser formados quando dois componentes hidrofílicos, porém incompatíveis, são dissolvidos em água de modo que ocorre a separação de duas fases aquosas - sendo que uma fase apresenta menor densidade (fase leve) e a outra apresenta maior densidade (fase pesada) - com diferentes composições e, quando adicionado o soluto, as moléculas que o compõem se distribuem entre as duas fases, dependendo de suas afinidades relativas com cada uma das fases.

Esses sistemas foram primeiramente introduzido por Albertson (1986), a fim de particionar (separar) macromoléculas e partículas celulares e hoje é largamente utilizado para partição, extração e purificação de diversas moléculas devido à seletividade favorável, baixo custo, adaptabilidade para processo contínuo e

retenção da atividade biológica, além do fácil dimensionamento e alto potencial de rendimento (VENTURA *et al.*, 2012).

Na TABELA 1 estão apresentados alguns exemplos dos sistemas de duas fases aquosas e de seus componentes listados por Albertson (1986).

Dos sistemas apresentados na TABELA 1, os sistemas formados por Polietilenoglicol (PEG) e Dextrana têm sido bastante estudados (SING e BANIK, 2012; KARAKATSANIS e LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, 2007; ANTOV *et al.*, 2012; KOJIMA e TAKAYAMA, 2013, NGUYEN e O'REAR, 2013; FARRELL e BEUDOIN, 2010), pois apresentam propriedades físicas desejáveis como a baixa viscosidade em ambas as fases e a formação de polímeros biodegradáveis de forma que se adequam à legislação de muitos países para o trabalho com produtos alimentícios e farmacêuticos (DIAMOND & HSU, 1992).

TABELA 1 – SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS E SEUS COMPONENTES

Sistema Polímero 1/Polímero 2	
Polímero 1	Polímero 2
Polipropilenoglicol	Metoxipolietilenoglicol Polietilenoglicol Álcool polivinílico Polivinilpirrolidina Hidroxiopropil dextrana
Polietilenoglicol	Álcool polivinílico Polivinilpirrolidina Dextrana Ficoll
Metilcelulose	Hidroxiopropil dextrana Dextrana
Etilhidroxietilcelulose	Dextrana
Hidroxiopropil dextrana	Dextrana
Ficoll	Dextrana
Sistema Polímero/Soluto de Baixa Massa Molar	
Polímero	Soluto de Baixa Massa Molar
Polipropilenoglicol	Fosfato de potássio Glicose Glicerol Fosfato de potássio
Polietinoglicol	Fosfato de potássio
Metoxipolietilenoglicol	Fosfato de potássio
Polivinilpirrolidina	Soluto de Baixa Massa Molar
Polímero	Fosfato de potássio

FONTE: ALBERTSON (1986)

Sistemas alternativos, nos quais a dextrana é substituída por outro componente, foram introduzidos com o objetivo de conter o inconveniente do alto custo apresentado pela dextrana. Assim, tem-se aplicado sistemas formados por

polietilenoglicol (PEG) e sais inorgânicos, dos quais os sistemas PEG-fosfato e PEG-sulfato são os mais empregados (BOLAND *et al.*, 1991; KULA *et al.*, 1982; PAPAMICHAEL *et al.*, 1992).

Os componentes, além da água, que formam os SDFA são chamados de formadores de fases e as propriedades físicas e químicas (viscosidade, polaridade, solubilidade) dos componentes influenciam na formação das fases, por exemplo, quanto mais viscosa a solução de um determinado componente (polímero) mais tempo levará para ocorrer a separação das fases; quanto mais solúvel for o sal, uma solução de maior concentração será necessária para formar fases.

Reschke *et al.* (2014) estudaram 16 tipos de sais inorgânicos como formadores de fases para o sistema PEG-sal. Esse estudo teve o objetivo principal de realizar a modelagem termodinâmica dos sistemas, de forma que a influência de parâmetros como o massa molar (MM) do PEG, a temperatura, o tipo de sal, o pH da solução para o equilíbrio de fases pudessem ser investigados. Os autores concluíram que a habilidade do sal em formar SDFA depende principalmente das cargas de seus ânions; assim, quanto maior a carga do ânion, maior a capacidade de formar um SDFA.

Ferreira *et al.* (2013) estudaram o sistema PEG-sulfato de sódio para a partição de proteínas. Foram estudados 15 tipos diferentes de proteínas e PEG com diferentes MM (600 e 8000 g.mol⁻¹). Foi observado que a MM da proteína e/ou o seu tamanho não funciona como um fator primário para a definição da distribuição da proteína no SDFA; assim, foi sugerido que a interação proteína-íon e proteína-solvente nas fases do sistema é a principal responsável pela partição das proteínas.

Bolar *et al.* (2013) estudaram o sistema PEG-sal para cinco tipos diferentes de sal (fosfato de potássio, fosfato de sódio, sulfato de sódio, citrato trissódico e citrato de trifosfato) e quatro MM de PEG (2000, 4000, 6000 e 8000 g.mol⁻¹) para a partição de glutaminase produzida por *Zygosaccharomyces rouxii*. Foi observado que o coeficiente de partição decaiu com o aumento da MM do polímero e da concentração dos componentes formadores de fase. Dos sistemas estudados, o sistema PEG 2000-sulfato de sódio pode ser considerado como um passo inicial na purificação industrial de glutaminase.

Segundo Kula *et al.* (1989), os sistemas formados por polímero e sal são formados apenas quando há elevadas concentrações de sal (normalmente

superiores a 1 molar) e esse fato pode causar a desnaturação de biomoléculas, além de incorporar elevadas concentrações desses sais aos efluentes industriais.

Objetivando superar as adversidades observadas por Kula *et al.* (1989), bem como buscar por SDFA com melhores características de rendimento, eficiência, custo *versus* benefício e biocompatibilidade, diversos estudos têm sido realizados no que diz respeito à substituição de um dos componentes tradicionalmente utilizados nos SDFA. Nesta seção, são apresentados alguns trabalhos envolvendo SDFA formados por surfactante-sal e solvente orgânico-sal. Na seção 2.5, a título de exemplo, são abordados os SDFA envolvendo líquido iônico.

Salabat *et al.* (2011) estudaram a partição de aminoácidos (L-fenilalanina, L-triptofano e L-tirosina) em sistemas de duas fases aquosas constituídos de surfactante (Triton X-100) e diferentes sais ($MgSO_4$ e $Na_3C_6H_5O_7$) em temperatura ambiente. Os resultados mostraram que para o sistema Triton X-100- $Na_3C_6H_5O_7$ os aminoácidos mais hidrofóbicos tiveram maior afinidade com a fase rica em surfactante e, conseqüentemente, houve maiores coeficientes de partição.

Álvarez *et al.* (2012) estudaram sistemas compostos por diferentes surfactantes da série Triton-X (Triton-X-100 e Triton-X-102) e diferentes sais de potássio (K_3PO_4 , K_2HPO_4 , K_2CO_3 , $K_2S_2O_3$ e K_2SO_3) em temperatura ambiente a fim de avaliar a capacidade dos sais como formadores de fase. Os autores concluíram que o K_3PO_4 apresentou a melhor capacidade de *salting-out* e o uso do surfactante Triton-X-100, que é mais hidrofóbico, levou a maiores regiões de imiscibilidade.

Korenman *et al.* (2010) estudaram a partição da vitamina B₂ em sistemas de soluções aquosas de diferentes sais (clorito de potássio, fluorito de sódio e sulfato de amônio) e solventes orgânicos (n-butanol, isopropanol, acetona e etil acetato). Foi demonstrado que os melhores rendimentos de extração foram obtidos nos sistemas com sulfato de amônio, devido ao seu maior efeito de *salting out*. Em relação aos solventes orgânicos, a acetona mostrou melhor eficiência.

Dong *et al.* (2012) extraíram e purificaram albumina de soro bovino (BSA) a partir do mosto de *Pichia pastoris* através de uma combinação de técnicas envolvendo um sistema aquoso de duas fases constituído de etanol e K_2HPO_4 . Observou-se que o SDFA foi eficiente na remoção das impurezas (proteínas e polissacarídeos) presentes no mosto.

Zhong *et al.* (2012) estudaram a separação e purificação de flavonoides total de *Astragalus membranaceus* (TFA) através de um SDFA constituído de etanol e sais de fosfato (K_2HPO_4 e $KHPO_4$). Observou-se que, no sistema para as melhores condições (18,20% de $KHPO_4$), o coeficiente de partição de TFA chegou a 96,6%. A remoção de saponáceos (fase leve) e polissacarídeos (fase pesada) alcançou 92,0% e 100%, respectivamente, indicando ser uma técnica eficaz para separar e purificar flavonoides totais de extratos de *A. membranaceus*.

2.2 DIAGRAMA DE FASES LÍQUIDO-LÍQUIDO PARA SDFA

Para caracterizar as fases de um SDFA, são utilizados diagramas de fases. O diagrama de fases para um sistema de duas fases aquosas deve levar em consideração: (a) a composição da fase leve, (b) a composição da fase pesada e (c) a composição total do sistema. Através da determinação experimental destas composições para um determinado número de misturas, diferindo na concentração dos constituintes, constrói-se um diagrama de fases que pode prever a composição das fases para qualquer mistura dentro da região das duas fases (ALBERTSSON e TJERNELD, 1994).

Geralmente, um diagrama de fases para um sistema contendo três componentes é exibido na forma triangular, no entanto, os diagramas de fases para sistemas de duas fases aquosas (SDFA) podem ser representados por diagramas com dois eixos, a fim de simplificar o uso. Nesse caso, é corriqueiro representar a fase leve no eixo y e a fase pesada no eixo x (ALBERTSSON e TJERNELD, 1994).

Na FIGURA 1 está apresentado um diagrama de fases típico para um sistema polímero-sal-água. A fase leve, representada no eixo y, diz respeito à fase rica em polímero (menor densidade) enquanto que a fase pesada, representada no eixo x, diz respeito à fase rica em sal (maior densidade). M1, M2 e M3 representam a composição global de três misturas (sistemas) com diferentes razões de volumes de fases.

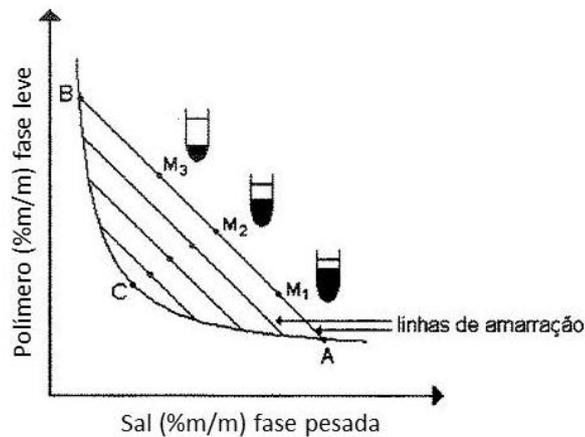


FIGURA 1 – DIAGRAMA DE FASES GENÉRICO PARA UM SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS CONSTITUÍDO DE UM POLÍMERO E UM SAL.
 FONTE: IGARASHI (2003)

A curva que recebe o nome de binodal (ou curva de equilíbrio), separa as duas regiões de composição da mistura e pode ser determinada pelo método de titulação turbidimétrica ou ponto de névoa. Todas as composições representadas por pontos na curva ou abaixo dela referem-se a sistemas de uma fase; já as composições representadas por pontos acima da binodal referem-se a sistemas bifásicos. As linhas que conectam a composição das fases em equilíbrio são chamadas de linhas de amarração e o ponto no qual a composição das duas fases é a mesma (ponto C, no diagrama) é chamado de ponto crítico.

Dois propriedades importantes das linhas de amarração que estão intimamente relacionadas com a composição individual das fases são: (a) o comprimento da linha de amarração (CLA) e a (b) inclinação da linha de amarração (ILA). A primeira propriedade (CLA) diz respeito à diferença entre a composição das fases de forma que à medida que essa aumenta, maior será o comprimento da linha de amarração. Já a inclinação da linha de amarração está relacionada com a taxa de variação mássica (percentual) de uma fase em relação a outra. Além de determinar o paralelismo entre as linhas de um determinado sistema (o que é, muitas vezes, desejável), pode ser relacionada a transferência de moléculas de água de uma fase para outra, o que por sua vez pode ser induzido por mudanças nas propriedades do sistema.

As propriedades do sistema e, conseqüentemente, do diagrama de fases, dependem de alguns fatores que estão apresentados na TABELA 2.

TABELA 2 – FATORES QUE PODEM INFLUENCIAR O DIAGRAMA DE FASES

Fator	Característica
MM dos polímeros	Em geral o aumento da MM diminui a quantidade necessária para separação das fases e quanto maior a diferença de MM entre os dois polímeros mais assimétrica é a binodal
Hidrofobicidade do polímero	Quanto maior é a diferença de hidrofobicidade entre dois polímeros, menor a concentração de polímeros necessária para separação das fases
Temperatura	O efeito depende do tipo de polímero usado
Tempo de separação das fases	Depende da diferença na densidade entre as duas fases: perto do ponto crítico (diferença da densidade pequena) e longe do ponto crítico (viscosidade e concentração altas) o tempo de separação é grande
Adição de sais	Os sistemas contendo polímeros não iônicos praticamente não são afetados pela adição de baixas concentrações de sais univalentes que possuem coeficiente de partição próximo a 1; quanto à adição de sais a sistemas constituídos por polímero e sal, quanto maior a carga do ânion, mais baixa a concentração de sal necessária para que ocorra a separação das fases
pH	Para sistemas formados por polímero e sal, um aumento do pH desloca a binodal no sentido de menores concentrações tanto de polímero quanto de sal

FONTE: ALBERTSSON, 1986; DIAMOND e HSU, 1992

2.3 PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS EM SDFA

O comportamento da distribuição (partição) das moléculas do soluto entre as fases do sistema pode ser descrito por algumas equações matemáticas, das quais a mais comum envolve o coeficiente de partição, k , definido como a relação concentração dos materiais particionados nas fases leve e pesada, descrito pela Equação 1

$$k = \frac{C_l}{C_p} \quad (1)$$

onde C_l e C_p são as concentrações de equilíbrio, medidas experimentalmente, dos compostos particionados nas fases leve e pesada, respectivamente.

Outra forma de se representar o coeficiente de partição, que é a forma adotada neste trabalho, diz respeito a sistemas aquosos orgânicos (BERTHOD e CARDA-BROCH, 2004):

$$k = \frac{C_o}{C_i} \quad (2)$$

onde C_o e C_i são as concentrações de equilíbrio, medidas experimentalmente, dos compostos particionados nas fases orgânica e inorgânica, respectivamente.

A partição das moléculas entre as fases de um sistema tradicional, composto por polímero e sal inorgânico, depende de alguns fatores que estão descritos na TABELA 3.

TABELA 3 – FATORES QUE INFLUENCIAM NA PARTIÇÃO DAS MOLÉCULAS ENTRE AS FASES DE UM SDFA

Fator	Característica
Massa molar dos polímeros	A partição é favorecida pela fase que contém o polímero com menor MM, desde que todos os outros fatores (concentração do polímero, composição dos sais, temperatura) sejam mantidos constantes
Concentração de polímero	Próximo ao ponto crítico, moléculas como proteínas se particionam quase igualmente entre as fases; porém, se a concentração do polímero é aumentada, a partição da proteína terá preferência por uma das fases
Massa molar da substância particionada	Quanto maior o tamanho da molécula, maior é a superfície exposta que pode interagir com os componentes das fases; assim, para substâncias de baixa massa molar, tal como sais inorgânicos, açúcares, aminoácidos e nucleotídeos, a partição é quase igual entre as duas fases
Afinidade bioespecífica	Ligantes bioespecíficos acoplados a um dos polímeros podem influenciar fortemente a partição de moléculas ou partículas que tenham afinidade pelo ligante. Esta influência varia com o número de sítios presentes nas moléculas e partículas que possam ser ligados e do número de ligantes acoplados ao polímero
Adição de sais	Apesar de os sais se distribuírem de forma praticamente igual entre as fases, existem pequenas (porém significantes) diferenças nos coeficientes de partição de diferentes sais; tal fato significa que diferentes íons possuem diferentes afinidades pelas fases, assim uma diferença de potencial elétrico entre as fases é criada, e isto direciona a partição de materiais biológicos carregados
Temperatura	Tem um efeito complexo na partição. A redução da temperatura geralmente favorece a separação de fases de sistemas poliméricos enquanto que o contrário se aplica para sistemas polímero-sal

FONTE: JOHANSSON (1994)

Em sistemas aquosos PEG-sal inorgânico é comum e esperado que a fase topo (fase leve) seja composta majoritariamente por PEG + H₂O enquanto a fase fundo (fase pesada) seja composta, em maior parte por sal inorgânico + H₂O. Neste sentido, a partição de uma determinada molécula nestes sistemas é influenciada por essa formação das fases.

Segundo Babu *et al.* (2008), dois são os fatores mais importantes que governam a partição de biomoléculas em sistemas aquosos PEG-sal, a saber: (a) o efeito de exclusão do polímero na fase topo (rica em polímero), o que ocorre devido ao aumento na concentração, ou massa molar, de polímero que leva ao aumento do espaço ocupado pelo polímero na fase superior e à redução de espaço livre para a biomolécula nessa fase e, como consequência, a biomolécula tende a se particionar na fase inferior e (b) o efeito *salting-out* na fase fundo (rica em sal) que leva à uma diminuição na solubilidade das biomoléculas nessa fase, resultando no aumento da partição da biomolécula na fase topo.

O coeficiente de partição pode ser relacionado com a eficiência da extração em sistemas de duas fases aquosas. Em uma extração líquido-líquido simples, o único fator que afeta a eficiência do processo é a taxa de distribuição da molécula entre as fases (D), ou seja, a partição do soluto entre as fases. Uma relação algébrica entre a fração de soluto remanescente na fase desejada (eficiência da extração), a taxa de distribuição (D) e o coeficiente de partição pode ser estabelecida (K), mas é conveniente lembrar que para definir a taxa de distribuição deve-se considerar a concentração molar da molécula em cada fase além do volume individual das fases.

2.4 LÍQUIDO IÔNICO (LI)

Líquidos iônicos (LI) são sais orgânicos, compostos apenas por íons (geralmente cátions orgânicos e ânions inorgânicos) com baixa coordenação, razão pela qual permanecem no estado líquido quando expostos a temperaturas inferiores a 100 °C, inclusive à temperatura ambiente. O arranjo espacial entre os cátions e ânions promove um direcionamento complexo da estrutura do composto (diferentemente dos sais clássicos, que se organizam em funções das suas cargas)

de forma que sua solubilidade pode ser adaptada às necessidades do sistema (CHIARO, 2011; MAI *et al.*, 2014).

Tais sais ganharam a atenção, tanto da comunidade industrial, quanto da acadêmica, como uma alternativa promissora para solventes orgânicos voláteis, em operações de extração líquido-líquido, por exemplo, sendo considerados solventes ecológicos, devido ao fato de apresentarem características particulares como: (a) baixo ponto de fusão, (b) baixa pressão de vapor, (c) alta polaridade, (d) alta estabilidade química e térmica, (e) baixa toxicidade e (f) baixa nocividade ao meio ambiente (PATEL *et al.*, 2014; MAI *et al.*, 2014).

Vários sinônimos têm sido utilizados na literatura científica para denominar esses sais orgânicos com baixo ponto de fusão ou baixa temperatura de transição vítrea, a saber: *RTIL* (do inglês, *room-temperature ionic liquid*), *NAIL* (do inglês, *non-aqueous ionic liquid*), sal orgânico fundido, sal de baixo ponto de fusão, solvente neotérico, entre outros (FREEMANTLE, 2010).

A origem desses sais pode ser datada da segunda metade do século XIX e está, mais especificamente, relacionada com as reações de alquilação e acetilação de Friedel-Crafts (FRIEDEL e CRAFTS, 1877); vale ressaltar que apenas em 1888 o primeiro líquido iônico com ponto de fusão inferior a 100 °C foi reportado e, ainda, que o primeiro líquido iônico com temperatura de fusão ambiente foi reportado somente em 1914 (nitrato de etilamônio com temperatura de fusão igual as 12,5 °C).

Historicamente, os líquidos iônicos são classificados em três gerações: (a) Líquidos iônicos halogeno-aluminatos, que foram extensivamente estudados como solventes e catalisadores, no entanto foi verificado que reagem com água; assim, devem ser manipulados em ambientes livres de umidade; (b) Líquidos iônicos não halogeno-aluminatos, estudados como solventes na química orgânica; e (c) Líquidos iônicos designados para uma tarefa específica (*task-specific ionic liquids*) e Líquidos iônicos quirais (FREEMANTLE, 2010).

Em relação ao seu comportamento químico associado às ligações de hidrogênio, os líquidos iônicos podem ser ainda divididos em dois grupos, a saber: (a) líquidos iônicos apróticos – que não podem doar ligações de hidrogênio – considerados líquidos iônicos convencionais ou clássicos, pois sua estrutura é baseada principalmente em cátions orgânicos volumosos, como imidazólio ou piridina e vários ânions, como Cl^- , Br^- , BF_4^- , PF_6^- ; e (b) líquidos iônicos próticos,

que possuem íons H^+ dissociáveis e geralmente são preparados por uma reação de neutralização de uma base orgânica e um ácido (MAI *et al.*, 2014).

Mais de 1500 líquidos iônicos já foram reportados na literatura científica. Na teoria, pelo menos um milhão de líquidos iônicos simples são concebíveis e um número praticamente ilimitado de sistemas de líquidos iônicos são possíveis através da mistura de dois ou mais líquidos iônicos simples (FREEMANTLE, 2010).

De acordo com Salgado *et al.* (2014), os líquidos iônicos mais comumente utilizados são formados por cátions de imidazólio, piridina, amônia e fósforo, combinados tanto com ânions orgânicos quanto inorgânicos como tetrafluoroborato, halogeneto, etanoato e nitrato. Desses, os líquidos iônicos baseados em imidazólio merecem destaque, pois podem apresentar grande variação nas suas propriedades físico-químicas em função do ânion e dos substituintes presentes no anel imidazólio e estabilidade em água e ar. A partir do conhecimento e controle das propriedades do líquido iônico (como viscosidade e densidade), podem-se controlar propriedades da solução (como a solubilidade do soluto no solvente) de forma que a reação pode ser favorecida (SONESSO, 2011).

Nas TABELAS 4 e 5 estão apresentados, respectivamente: alguns líquidos iônicos baseados em imidazólio e suas abreviações e as principais características dos líquidos iônicos de acordo com a classificação química dos íons que os compõem.

TABELA 4 - LÍQUIDOS IÔNICOS BASEADOS EM IMIDAZÓLIO E SUAS ABREVIÇÕES

Composto	Exemplo de Abreviação
Trifluormetanofulfonato de 1-butil-3-metilimidazólio	[bmim][TfO]
Cloreto de 1-octil-3-metilimidazólio	[omin][Cl]
Triiodeto de 1-etil-3-metilimidazólio	[emin][I ₃]
Triiodeto de 1-butil-3-metilimidazólio	[bmin][I ₃]
Tetrafluoroborato de 1-hexil-3-metilimidazólio	[C ₆ min][BF ₄]
Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio	[C ₆ min][PF ₆]
Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	[bmin][PF ₆]
Hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio	[omin][PF ₆]
Tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazólio	[emin][BF ₄]
Tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio	[bmin][BF ₄]

TABELA 5 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS LÍQUIDOS IÔNICOS DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS ÍONS QUE OS COMPÕEM

	Classificação química	Características
Cátions	Imidazólios mono-, di- e trissubstituídos	Sistemas padrão de cátions, sendo que os monossubstituídos apresentam elevadas taxas de transferência de prótons e os trissubstituídos apresentam maior estabilidade às bases
	Piridínios substituídos	Geralmente mais estáveis e com viscosidades similares às dos imidazóis
	Pirrolidinas Substituídas	Sistema de cátion heterocíclico completamente saturado com elevada estabilidade às bases, alta estabilidade eletroquímica e baixa viscosidade
	Amônios tetra-alquilas	Geralmente apresentam elevados ponto de fusão e viscosidade, com maior estabilidade eletroquímica, quando comparado às pirrolidinas substituídas.
	Fosfônios	Alta estabilidade térmica e carência de prótons ácidos, estável sob condições básicas e menos denso que a água
Ânions	Cloretos, Brometos e Iodetos	Matérias-primas para a maioria dos líquidos iônicos, utilizados para a obtenção de LIs
	Tetrafluoroboratos e Hexafluorofosfatos	Sistemas de ânion padrão mais investigados
	Bis(trifluorometilsulfonyl)imidas	Obtenção de LIs hidrofóbicos e eletroquimicamente estáveis com baixa viscosidade
	Trifluorometanossulfonados e Trifluoroacetatos	Ânions perfluorinados padrão com propriedades de baixa viscosidade

FONTE: SONESSO (2011)

A síntese dos líquidos iônicos pode ser conseguida através de diversos métodos: (a) alquilação; (b) troca de ânions; (c) síntese assistida por micro-ondas e ultrassom; (d) síntese livre de halogêneos; (e) síntese por protonação; (f) síntese de LIs halo-aluminatos; (g) síntese de LI *task-specific* e (h) síntese quiral (FREEMANTLE, 2010).

Um método comumente aplicado para a síntese de líquidos iônicos baseados em imidazólio, piridina, amônia e fósforo é a alquilação (ou reação de Friedel-Crafts). Por exemplo, na FIGURA 2 está apresentada uma reação de alquilação do metilimidazol com n-clorobutano dando o correspondente cloreto de N-butil-N-metilimidazólio BMI.Cl, porém o metilimidazol pode ser alquilado por outros agentes alquilantes e gerar também outros líquidos iônicos (CAMILO, 2006).

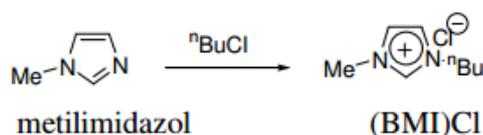


FIGURA 2 - ALQUILAÇÃO DO METILIMIDAZOL COM N-CLOROBUTANO DANDO O CORRESPONDENTE CLORETO DE N-BUTIL-N-METILIMIDAZÓLIO

FONTE: CAMILO (2006)

Uma vez sintetizados, os líquidos iônicos devem passar por análises de identificação e caracterização para avaliação e confirmação da sua estrutura. Dentre os métodos de avaliação estão as análises de RMN de ^{13}C e de ^1H , Térmica (TG) e FTIR em pastilhas de KBr (CHIARO, 2011).

Em relação às propriedades químicas, físicas e biológicas dos líquidos iônicos, pode-se afirmar que algumas – como a pressão de vapor – podem ser generalizadas para todas as classes de líquidos iônicos existentes, enquanto que tal generalização não é possível para demais propriedades. Isso se deve ao fato de os diferentes líquidos iônicos apresentarem grandes variações em suas propriedades (que vão desde o pH, miscibilidade em água e/ou outros solventes líquidos até toxicidade) o que, por sua vez, viabiliza uma ampla possibilidade de modificação, independente dos cátion e ânions, resultando em características que podem ser exploradas para diversas aplicações (SHARMA, 2008; FREEMANTLE, 2010). Na TABELA 6 estão resumidamente apontadas as principais propriedades dos líquidos iônicos e suas características predominantes.

O uso de líquidos iônicos abrange muitas áreas da química e bioquímica, incluindo a aplicação como: (a) solventes para purificação de flavonoides (LOU e DI, 2012), enzimas e proteínas (VENTURA *et al.*, 2012; VENTURA *et al.*, 2011; DING *et al.*, 2014; TAN *et al.*, 2012a), antraquinonas (TAN *et al.*, 2012b); (b) catalisadores (XIAO *et al.* 2014; AZIZI *et al.* 2014; REN *et al.* 2014; YADAV e SHANKARLING 2014); (c) estudos eletroquímicos (NAJAFABADI e GYENGE 2014; SANAN *et al.* 2014; SONG *et al.* 2014; KIM e KIM, 2014); e (d) extração líquido-líquido de ampicilina e amoxicilina (SOTO *et al.* 2005), tolueno (LARRIBA *et al.*, 2014).

Mais especificamente na área de alimentos, percebe-se a relação da utilização de líquidos iônicos para a obtenção e purificação de compostos de alto valor agregado – como enzimas, proteínas, compostos fenólicos – seja com o objetivo de melhorar as características de um produto ou processo ou recuperar tais compostos que, eventualmente, podem estar presentes nos resíduos de um processo industrial. Somam-se a este fato as qualidades já mencionadas atribuídas aos líquidos iônicos (principalmente baixa toxicidade); isto posto, reconhece-se que tais compostos podem substituir adequadamente os solventes orgânicos voláteis comumente empregados nos processos de extração que apresentam altas toxicidade e inflamabilidade.

TABELA 6 – PRINCIPAIS PROPRIEDADES DOS LÍQUIDOS IÔNICOS E SUAS CARACTERÍSTICAS PREDOMINANTES

Propriedade	Característica
Gama líquida (Faixa de temperatura entre o ponto de fusão ou temperatura de transição vítrea e a temperatura de ebulição ou temperatura de decomposição térmica)	Superior a 300 °C
Ponto de fusão	Tende a decair com o aumento do tamanho do cátion ou ânion; com a diminuição da simetria do cátion e com a adição de outro sal para formar uma mistura eutética
Pressão de vapor	Em geral desprezível nas temperatura e pressão ambientes devido às fortes interações eletrostáticas entre os íons presentes no líquido
Capacidade térmica	Apresenta valores comparáveis aos líquidos usados nas operações de transferência de calor (entre 1,6 e 2,1 $\frac{J}{gK}$) e aumenta linearmente com a temperatura
Viscosidade	Em geral é maior do que a viscosidade de solventes moleculares, sofre influência da temperatura e aumenta de acordo com o aumento do tamanho do cátion e do comprimento da cadeia alcalina. Na temperatura ambiente, encontra-se na faixa de 10 até superior a 500 cP
Densidade	Geralmente é superior à da água, sendo a densidade dos líquidos de menor cadeia alcalina ou menor tamanho de cátion superior à dos líquidos de maior cadeia e tamanho, não sofre influência da temperatura
Solubilidade e miscibilidade	Varia amplamente, dependendo da natureza dos cátions e ânions, podendo dissolver tanto compostos iônicos quanto covalentes
Estabilidade em água	Varia amplamente
Condutividade	Para os testes realizados através do método de Fio Quente, utilizando água e tolueno como referência, a condutividade térmica dos LI foram mais próximas da do tolueno
Janela de potencial eletroquímico (faixa de voltagem na qual um material em um eletrodo não é nem reduzido nem oxidado e, portanto, é eletroquimicamente inerte)	Depende principalmente da resistência do cátion à redução e do ânion à oxidação
Tensão superficial	Em geral é moderada e comparável com a de líquidos orgânicos
Índice de refração	Depende da natureza tanto do cátion quanto do ânion
Impacto de impurezas (traços de água, ácidos, íons aletos, solventes residuais e compostos orgânicos voláteis)	Aumento do ponto de ebulição e viscosidade

FONTE: FREEMANTLE (2010)

2.5 SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS COMPOSTOS POR LÍQUIDO IÔNICO (LI-SDFA)

Comparada aos métodos convencionais de extração líquido-líquido, a extração em SFDA é muito mais simples; no entanto, alguns polímeros formadores de fase e surfactantes apresentam alta viscosidade, o que acarreta dificuldades nos processos subsequentes ou formam soluções opacas que, às vezes, podem interferir na análise dos analitos (LI *et al.*, 2010).

Rogers *et al.* (2003) introduziram um novo tipo de SDFA, consistindo em um líquido iônico, $[C_4mim]Cl$, e um sal, K_3PO_4 , que apresentou, tanto do líquido iônico quanto do SFDA, as vantagens de: (a) viscosidade desprezível; (b) pequena formação de emulsão; (c) ausência de solvente orgânico volátil; (d) rápida separação de fases; (e) alta eficiência de extração e (f) biocompatibilidade.

A maioria dos líquidos iônicos polares induz ao *salting-in* de eletrólitos (sais caotrópicos), assim podem formar uma segunda fase aquosa na presença de soluções aquosas de sais inorgânicos que induzem ao *salting-out* (sais cosmotrópicos) resultando na formação de um LI-SDFA (VENTURA *et al.*, 2011).

Nesses sistemas aquosos compostos de LI, sal inorgânico e água, a força motriz para a separação de fases é a competição, entre o LI e o sal, pelas moléculas de água. Quanto maior a afinidade do sal inorgânico com a água, maior será a migração da água para longe dos íons LI, acarretando no decréscimo da sua hidratação e reduzindo a solubilidade do LI em água (VENTURA *et al.*, 2011).

Levando-se em consideração as informações supracitadas, os sistemas de duas fases aquosas baseados em líquido iônicos têm sido estudados, principalmente, para casos em que a segunda fase é constituída por uma solução de sal; no entanto, há estudos nos quais a segunda fase é constituída por surfactante, polímero, etc. Alguns estudos recentes, envolvendo o uso de LI-SDFA para a extração líquido-líquido de material biológico, estão apresentados na TABELA 7.

TABELA 7 - ESTUDOS RECENTES ENVOLVENDO SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS E LÍQUIDOS IÔNICOS PARA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO

Autores	Sistemas estudados	Objetivos do estudo
Lin <i>et al.</i> (2013)	LI (oito tipos)/K ₂ HPO ₄	Partição de <i>serum</i> albumina bovina hemoglobina e lisozima
Jiang <i>et al.</i> (2015)	[Bmim]BF ₄ /Sal (3 tipos)	Purificação de esterase do trigo
Yan <i>et al.</i> (2014)	[C ₄ mim]Cl/Sal inorgânico (K ₃ PO ₄ e K ₂ HPO ₄)	Purificação de proteínas e polissacarídeos de <i>Cordyceps sinensis</i>
Yu <i>et al.</i> (2011)	[Bmim]BF ₄ /(NH ₄) ₂ SO ₄	Extração de sulfadimina em amostras de água
Desai <i>et al.</i> (2014)	LI (IoLilyte 221PG)/ (NH ₄) ₂ SO ₄	Extração de Rubisco (Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase)
Freire <i>et al.</i> (2010)	LI (vários tipos)/K ₃ PO ₄	Extração de alcaloides
Freire <i>et al.</i> (2011)	[C ₄ mim][CF ₃ SO ₃]/carboidratos	Extração de cafeína e β-caroteno
Louros <i>et al.</i> (2010)	LI (vários tipos)/K ₃ PO ₄	Extração de β-caroteno, rodamina 6G, L-triptofano e cafeína
Pereira <i>et al.</i> (2013)	LI (vários tipos) /polietilenoglicol 2000g.mol ⁻¹	Extração de alcaloides
Souza <i>et al.</i> (2014)	LI (4 tipos)/ Sal inorgânico (K ₃ PO ₄ e K ₂ HPO ₄)	Extração de corantes (rodamina 6G e ácido clorânico)

FONTES: A AUTORA

2.6 FORMADORES DE FASES UTILIZADOS NESTE TRABALHO

2.6.1 Polietilenoglicol

O polímero conhecido como polietilenoglicol (PEG) é um poliéter, de cadeia linear ou ramificada, disponível em uma variedade de massas molares e solúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos (HARRIS, 1992). Na FIGURA 3 está apresentado um esquema de uma cadeia de polietilenoglicol.



FIGURA 3 – POLIETILENOGLICOL, onde n é o número médio de subunidades de oxietileno
 FONTE: GAO (1993)

Apesar da sua aparência simples essa molécula é o foco de interesse na comunidade biomédica e biotécnica devido a fatores como: (a) pode excluir outros polímeros quando em solução aquosa, o que resulta em (b) formação de sistema de

duas fases aquosas com outros polímeros; (c) imunogenicidade; (d) antigenicidade e (e) não toxicidade (HARRIS, 1992).

Na TABELA 8 estão apresentadas algumas propriedades dos PEGs mais comuns. O número médio de resíduos de oxietileno na cadeia de poliéter (n) determina o estado físico que cada PEG assume em temperatura ambiente. PEGs com baixa massa molar (200 a 600) apresentam a forma de líquidos claros e viscosos, enquanto PEGs de maior massa molar estão disponíveis como pós brancos.

TABELA 8 – PROPRIEDADES DE ALGUNS PEGs

PEG	200	400	600	1500	4000	6000
Valor médio de n	4	8,2-9,1	12,5-13,9	29-36	68-84	158-204
Extensão da massa molar	190-210	380-420	570-630	1300-1600	3000-3700	7000-9000
Viscosidade (98,9 °C, cS)	4,3	7,3	0,5	25-32	76-110	470-900

FONTE: GAO (1993)

Cada PEG na verdade é uma mistura de vários PEG, ou seja, o produto é uma média da massa molar dos vários polímeros que constituem a cadeia. Assim, PEG 400, por exemplo, apresenta uma massa molar média de 400 ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), mas a molécula é constituída por vários PEG com massa molar maior e menor que 400 (GAO, 1993).

Os PEG também podem ser denominados como polióxido de etileno (PEO) e polioxirano. Em geral, PEG é utilizado para se referir às moléculas com massa molar abaixo de 20000 ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) enquanto PEO é utilizado para se referir aos polímeros de maior massa molar (HARRIS, 1992).

Dentre as várias aplicações do PEG, a sua utilização em sistemas aquosos bifásicos para purificação de biomoléculas (células e fragmentos de células, vírus, proteínas, etc.) tem sido estudada desde a sua introdução (por Albertson, em 1986) e continua em evidência devido ao fato de os sistemas poderem ser facilmente reproduzidos em grande escala, ao baixo custo deste polímero e à facilidade de recuperação e reciclagem do mesmo após seu uso.

2.6.2 Sais inorgânicos

Sais inorgânicos são sólidos iônicos cristalinos mantidos pela força da atração eletrostática entre íons negativos (ânions) e positivos (cátions). Quando puros, esses cristais são um amontoado de íons empacotados em estruturas que variam com a quantidade de moléculas que os formam e tais estruturas são, em grande parte, responsáveis por características físicas como solubilidade e ponto de fusão (SHRIVER *et al.*, 2008; SHARPE, 1996; LEE, 1998).

Quando em solução aquosa os íons que formam a molécula de sal sofrem dissociação iônica (dissociação eletrolítica) e são separados. Na solução os íons apresentam propriedades que os classificam como cosmotrópicos (aumentam a tensão superficial, diminuem a solubilidade de biomoléculas, induzem ao efeito *salting-out*) e caotrópicos (diminuem a tensão superficial, aumentam a solubilidade de biomoléculas e induzem ao efeito *salting-in*) de acordo com a série de Hofmeister (em inglês, HS), apresentada na FIGURA 4.

SÉRIE DE HOFMEISTER

	Efeito Cosmotrópico	Estabilizante (<i>Salting-out</i>)	Desestabilizante (<i>Salting-in</i>)	Efeito Caotrópico
←	—————			→
Ânions	F ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻ CH ₃ COO ⁻	Cl ⁻ Br ⁻ I ⁻ NO ₃ ⁻ CNS ⁻
Cátions	(CH ₃) ₄ N ⁺	(CH ₃) ₂ NH ²⁺	NH ⁴⁺ K ⁺ Na ⁺ Cs ⁺ Li ⁺ Mg ²⁺	Ca ²⁺ Ba ²⁺

FIGURA 4 – SÉRIE DE HOFMEISTER
 FONTE: CACACE *et al.* (1997)

Foi constatado que ânions são mais fortemente polarizáveis e hidratáveis que cátions, assim o efeito do ânion em relação às propriedades cosmotrópicas e caotrópicas, é mais dominante do que o efeito do cátion (YANG, 2009; PATEL *et al.*, 2014).

Neste trabalho foram utilizados sais de sódio com diferentes ânions (Na₂SO₄ e NaNO₃): um em cada classificação de Hofmeister. Assim, foi possível investigar o

efeito do sal inorgânico (especialmente o ânion) como formador de fase e como agente e partição de cafeína nos sistemas de duas fases aquosas estudados.

2.6.3 Tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.BF₄)

O BMI.BF₄ é um dos líquidos iônicos mais populares e mais utilizados devido às suas características físico químicas, como: estabilidade em temperatura ambiente, estabilidade ao ar e a água (SUAREZ *et al.*, 1998). Embora esteja disponível comercialmente, pode ser sintetizado através da alquilação do metilimidazólio com n-clorobutano. Apresenta densidade igual a 1,2169 g.cm⁻³ e viscosidade igual a 360 Pa.s, em 25 °C e ambas diminuem com o aumento da temperatura (SALGADO *et al.*, 2014).

Este líquido iônico apresenta miscibilidade limitada em vários solventes orgânicos polares e não polares, como exemplo 16% (m/m) em tolueno (25 °C e 77 mmHg) e em todas as composições em água, em temperatura superior a 6 °C. Essa miscibilidade em água é particularmente importante para as reações que envolvem água ou compostos também miscíveis em água (DUPONT *et al.*, 2002).

Por ser um composto iônico, o BMI.BF₄ apresenta propriedades associadas aos efeitos *salting-out* e *salting-in*. Foi reportado que soluções aquosas desse líquido iônico reduzem a solubilidade (*salting-out*) de sais inorgânicos, como Na₂SO₃ e Na₃PO₄. O líquido iônico ganha a competição com o sal inorgânico por moléculas de água, o que pode promover a precipitação do sal (TRINDADE *et al.* 2007), mas principalmente, nas proporções adequadas pode promover a obtenção de um sistema de duas fases aquosas, cuja fase rica em líquido iônico seja extremamente pobre em sal inorgânico, devido ao efeito *salting-out*.

2.7 CAFEÍNA

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é um alcaloide que ocorre naturalmente em mais de 60 espécies de plantas, incluindo sementes de café, cacau e folhas de coca.

Além de estar presente como constituinte de uma variedade de bebidas, é um importante ingrediente farmacêutico, muito usado como diurético e estimulante dos sistemas neurológico e respiratório (MOHAPATRA *et al.* 2006).

Devido ao seu extenso uso em alimentos, bebidas e farmacêuticos, a cafeína tem sido detectada nas águas superficiais e em efluentes, prejudicando a qualidade do ambiente aquático. Neste sentido, a descafeinação tem sido proposta (tanto nos alimentos e bebidas, quanto nos efluentes) devido o fato de a ingestão crônica de cafeína estar associada a efeitos adversos (remodelamento de tecido ósseo, redução da densidade óssea, arritmia, privação do sono e aborto) (RAMOS *et al.* 2012; HIGDON E FREI, 2006; BERMEJO *et al.*, 2015). Além disso, a extração da cafeína pode ser realizada com o objetivo de obtê-la pura para aplicação nos fármacos. Na FIGURA 5 está apresentada a estrutura química da cafeína.

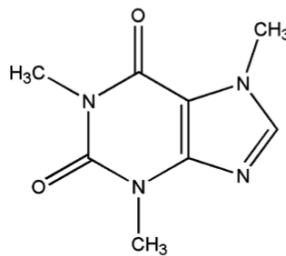


FIGURA 5 – ESTRUTURA QUÍMICA DA CAFEÍNA
FONTE: HIGDON E FREI (2006)

A extração da cafeína é um processo industrial importante e pode ser realizado pelo uso de diferentes solventes (extração líquido-líquido e sólido-líquido), a saber: benzeno, clorofórmio, tricloroetileno e diclorometano (BI *et al.*, 2010; GADKARI *et al.*, 2014). Outros métodos para extração da cafeína incluem extração com CO₂ supercrítico (TAN *et al.*, 2013; TELLO *et al.*, 2011), extração com água quente (LIANG *et al.*, 2007). Entretanto esses processos podem ser pouco econômicos, apresentar baixo rendimento e aplicam solventes orgânicos tóxicos (MIYAGISHIMA *et al.*, 2011).

Assim, o uso de sistemas de duas fases aquosas para extração de cafeína é uma alternativa a ser considerada como um método alternativo, já que esse método se mostrou eficiente e versátil para purificação e separação de vários compostos e

apresenta as vantagens de baixo consumo de energia, não toxicidade e ambientalmente amigável (NASCIMENTO *et al.*, 2010; YAVARI *et al.*, 2013).

2.8 CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE

O objetivo da revisão bibliográfica apresentada neste capítulo foi descrever o estado da arte dos assuntos abrangidos por este trabalho, ou seja, extração líquido-líquido, sistemas de duas fases aquosas (SDFA) tradicionais e com a aplicação de líquidos iônicos, bem como líquidos iônicos e diagramas de fases. Além destes assuntos, foram abordados os componentes utilizados como formadores de fase neste trabalho: polietileno glicol (PEG), sais inorgânicos e o líquido iônico tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.BF₄).

No que diz respeito ao processo de extração líquido-líquido de biomoléculas utilizando SDFA formados por PEG-sal pôde-se perceber que há muitos estudos disponíveis na literatura consultada. Dentre as moléculas, as proteínas e enzimas provenientes das mais diversas fontes – desde frutas (BABU *et al.* 2008) até efluente de curtume (SARAVANAN *et al.* 2007), são as que apareceram com maior frequência nos estudos.

Em relação à extração em SDFA empregando líquidos iônicos verificou-se a aplicação dessa técnica para várias moléculas, como corantes (SOUZA *et al.*, 2014), proteínas e enzimas (JIANG *et al.*, 2015; VENTURA *et al.*, 2011; YAN *et al.*, 2014), alcaloides (LOUROS *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2013) entre outros. Também se pôde notar que, preferencialmente, o líquido iônico é uma alternativa para substituição do polímero.

Os sistemas aquosos PEG-sal utilizados especificamente neste trabalho, foram muito estudados para a partição de enzimas (SRINIVAS *et al.*, 2002; CHIANG e WANG, 1988; SHAHRIARI *et al.*, 2010; NANDINI e RASTOGI, 2011; SING e BANIK, 2012), no entanto, a apresentação termodinâmica de dados de equilíbrio aparece raramente e, conseqüentemente, a relação entre o coeficiente de partição e os dados de equilíbrio é bastante carente de estudos.

Dados de equilíbrio para os sistemas aquosos PEG-sal (sem cafeína) utilizados no presente trabalho estão disponíveis na literatura (MARTINS *et al.*,

2010; CARVALHO *et al.*, 2007; TABOADA *et al.*, 2001; HAMMER *et al.*, 1994), porém em diferentes condições experimentais de temperatura. No caso dos sistemas envolvendo BMI.BF₄-sal inorgânico, tanto o estudo para a partição de biomoléculas quanto para a determinação de dados de ELL, pode-se afirmar a partir da literatura consultada, que as investigações ainda estão em estágio inicial devido principalmente à complexidade atribuída a esses sistemas.

O estudo de dados de equilíbrio de SDFA - tanto visando à adição de dados de equilíbrio à literatura quanto a aprofundar o conhecimento de tais sistemas para a aplicação em operações de extração - é de grande interesse da comunidade científica. O mesmo pode ser dito em relação ao estudo de partição de biomoléculas em SDFA. Isso pode ser confirmado pela vasta publicação de trabalhos nessa área.

A revisão bibliográfica apresentada também possibilitou constatar que, apesar do grande número de estudos envolvendo SDFA tanto para sistemas formados por polímero-sal, quanto formados por LI-sal, ainda há uma lacuna a ser preenchida em relação aos dados de equilíbrio desses sistemas e não há, que seja do nosso conhecimento, dados referentes à partição de determinada molécula como a cafeína, nas condições que foram estudadas no presente trabalho.

3. METODOLOGIA

Neste capítulo são apresentados os materiais e métodos empregados no desenvolvimento da pesquisa, de caráter experimental, realizada no Laboratório de Termodinâmica e Operações de Separação (LATOS) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e Laboratório de Reatividade e Catálise do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3.1 MATERIAIS

Na TABELA 9 estão apresentados os principais reagentes químicos utilizados neste trabalho, bem como suas procedências e purezas. A cafeína foi submetida à análise cromatográfica (Agilent 1200) a fim de confirmar sua pureza. Todos os sais inorgânicos foram secos em estufa a 105 °C por 1 hora e resfriados em dessecador antes de seu uso.

TABELA 9 – REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO

Reagente	Fonte	Pureza (%)*	Método de purificação	Método analítico
Poli(etileno)glicol (PEG) 400 g.mol ⁻¹	Neon/Sigma Aldrich	0,999	nenhum	nenhum
Poli(etileno)glicol (PEG) 1500 g.mol ⁻¹	Sigma Aldrich	0,999	nenhum	nenhum
Poli(etileno)glicol (PEG) 4000 g.mol ⁻¹	Neon/Sigma Aldrich	0,999	nenhum	nenhum
Poli(etileno)glicol (PEG) 6000 g.mol ⁻¹	Neon/Sigma Aldrich	0,999	nenhum	nenhum
Sulfato de Sódio (Na ₂ SO ₄)	Neon/Sigma Aldrich	0,99	nenhum	nenhum
Nitrato de Sódio (NaNO ₃)	Sigma Aldrich	0,99	nenhum	nenhum
Cafeína Anidra	LabMaster BIOTEC	0,99	nenhum	nenhum
Água	LATOS	-	Osmólise reversa (Vexer, Smart VOS 106)	nenhum

TABELA 9 – REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO (CONTINUAÇÃO)

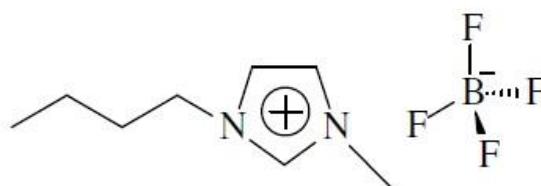
Reagente	Fonte	Pureza (%)*	Método de purificação	Método analítico
1-Clorobutano	Sigma Aldrich	Grau HPLC	nenhum	nenhum
1-Metilimidazol	Sigma Aldrich	0,99	nenhum	nenhum
Tetrafluoroborato de Sódio	Sigma Aldrich	0,98	nenhum	nenhum
Acetonitrila	Tedia	Grau HPLC/Spectro	nenhum	nenhum
Acetato de etila	Tedia	Grau HPLC/Spectro	nenhum	nenhum
Pentóxido de fósforo	Vetec	0,98		
Sulfato de cálcio dihidratado	Reagen	P. A.	nenhum	nenhum
Celite 545	Nuclear	P. A.		
Acetona	Instituto de Química (UFRGS)	-	destilação	nenhum
Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio	Sintetizado (UFRGS)	-	nenhum	nenhum
Tetrafluoroborato de 1-Butil-3-metilimidazólio	Sintetizado (UFRGS)	0,99	nenhum	¹ H-RMN

*Informado pelo fabricante

FONTE: A AUTORA

3.2 SÍNTESE DO LÍQUIDO IÔNICO

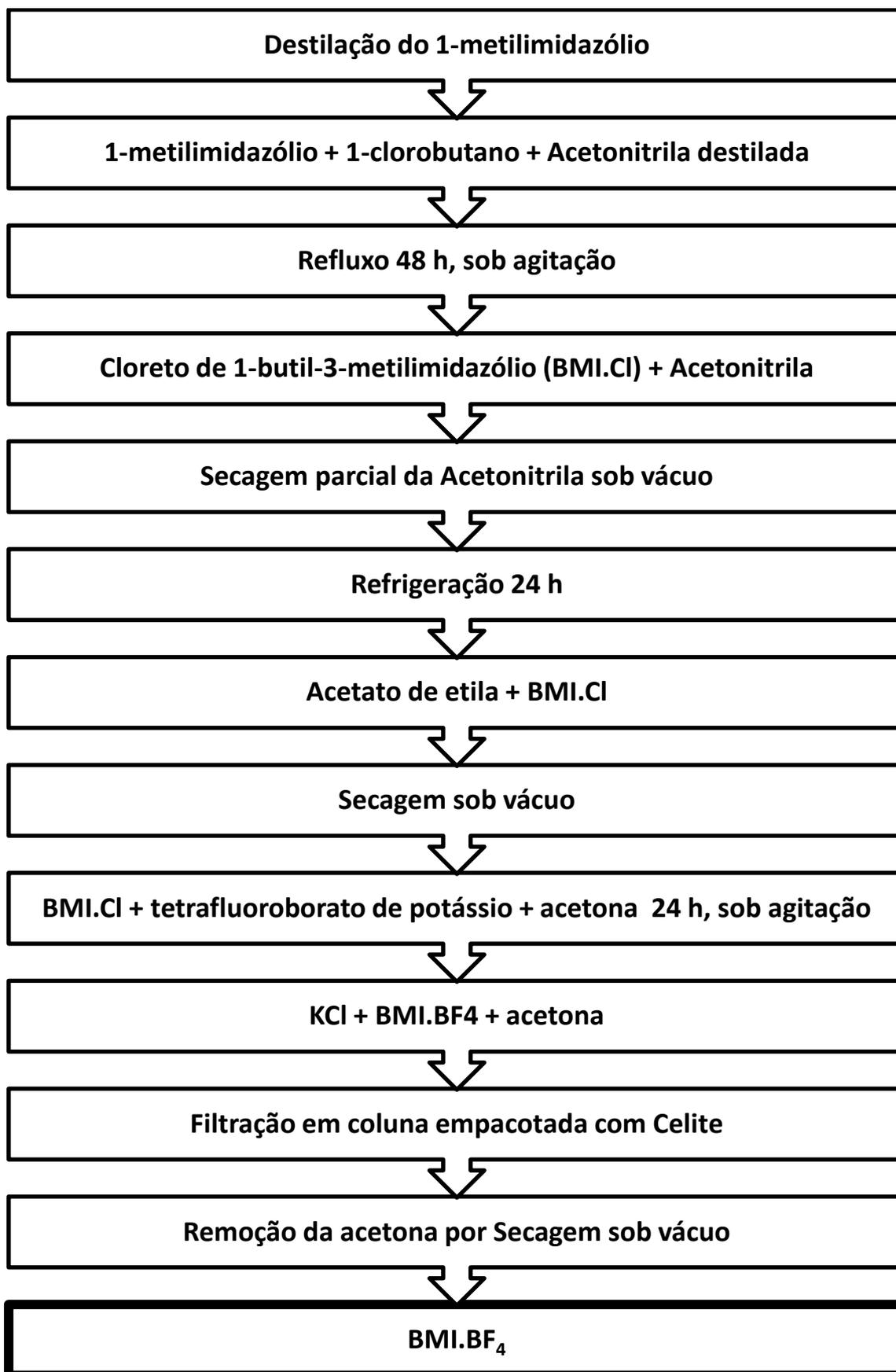
Neste trabalho foi utilizado o líquido iônico tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.BF₄), cuja estrutura está apresentada na FIGURA 6, o qual foi sintetizado no Laboratório de Reatividade e Catálise do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), conforme descrito na literatura (DUPONT *et al.* 2002).

FIGURA 6 - ESTRUTURA DO LÍQUIDO IÔNICO BMI.BF₄

Na FIGURA 7 está apresentado o fluxograma das etapas de síntese do BMI.BF₄. O processo faz uso do líquido iônico cloreto de 1-metil-3-metilimidazólio (BMI.Cl) como um precursor. Acetonitrila previamente purificada com pentóxido de fósforo e destilada foi usada como solvente para a reação entre 1-metilimidazólio (previamente destilado) e 1-clorobutano para produzir BMI.Cl, como apresentado na FIGURA 8.

Após a reação, a acetonitrila foi removida parcialmente por evaporação sob vácuo em temperatura ambiente e o conteúdo remanescente foi gotejado em um novo recipiente contendo acetato de etila (previamente purificado com pentóxido de fósforo e destilado) e um cristal de BMI.Cl com o objetivo de obter-se a formação dos cristais de BMI.Cl. Esse frasco foi deixado sob refrigeração por 24 horas e então o acetato de etila foi evaporado sob vácuo. A reação entre BMI.Cl e tetrafluoroborato de potássio (KBF₄) para produzir tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.BF₄) e cloreto de potássio (KCl) foi conduzida usando acetona (previamente destilada) como solvente, conforme demonstrado na FIGURA 9.

Todas as etapas da síntese foram realizadas sob atmosfera inerte de Argônio. Análise de Ressonância Magnética Nuclear de próton (RMN de ¹H) foi efetuada em espectrômetro Varian VXR 300 na frequência de 300 MHz, em CDCl₃, à temperatura ambiente, com o objetivo de verificar a pureza do BMI.BF₄. O espectro da análise de RMN de ¹H está disponível no APÊNDICE I.

FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DE SÍNTESE DO BMI.BF₄

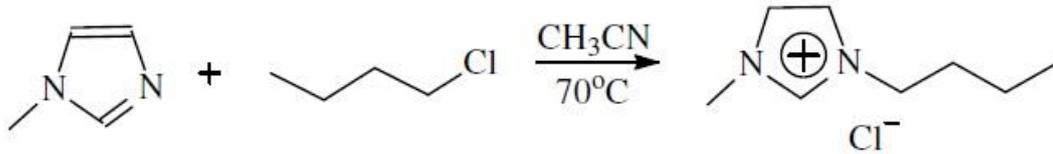


FIGURA 8 – REAÇÃO DO 1- METILIMIDAZÓLIO COM 1-CLOROBUTANO EM ACETONA
 PRODUZINDO BMI.Cl
 FONTE: TROMBETA (2010)

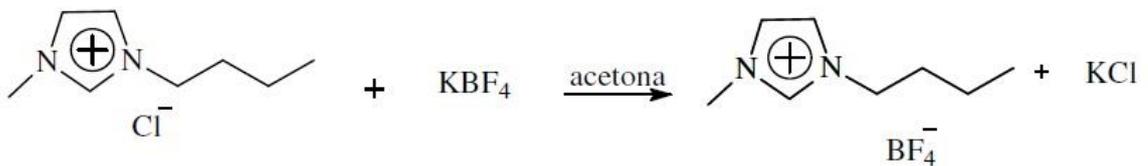


FIGURA 9 – REAÇÃO DO BMI.Cl COM TETRAFLUOROBORATO DE POTÁSSIO EM ACETONA
 PRODUZINDO KCl E BMI.BF₄
 FONTE: TROMBETA (2010)

3.3 OBTENÇÃO DAS CURVAS BINODAIS

O método do ponto de névoa descrito por Kaul (2000) foi empregado para a obtenção das curvas binodais dos sistemas estudados; para tanto, foi utilizado o aparato experimental esquematizado na FIGURA 10. O aparato consiste em reator encamisado de vidro, chamado de célula de equilíbrio líquido-líquido, cuja temperatura era controlada por meio de um banho termostático (Lab Companion, RW - 1025G) que permitia a circulação de água pela camisa do reator e a agitação por meio de agitador magnético (Nova Ética, AGI 114). A temperatura do conteúdo no interior da célula de equilíbrio foi verificada, durante os testes preliminares, com o auxílio de um Termopar (Watlow, SD31). Não foi observada diferença entre a temperatura registrada pelo Termopar e a temperatura indicada pelo banho termostático.

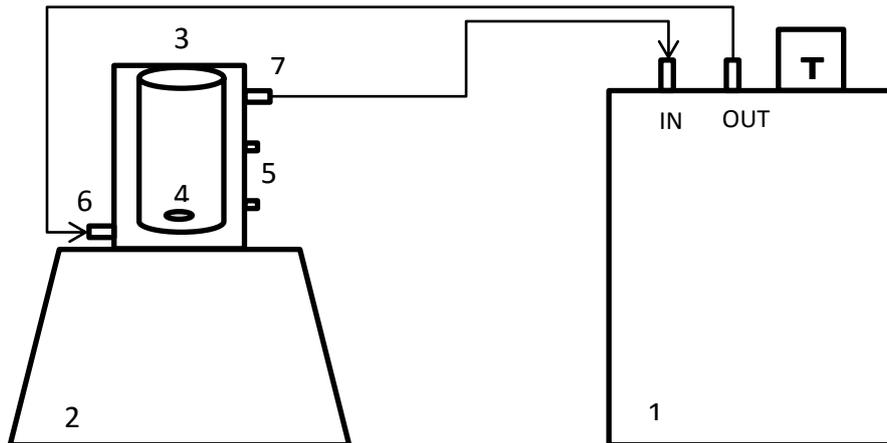


FIGURA 10 – ESQUEMA DO APARATO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA A OBTENÇÃO DAS CURVAS DE EQUILÍBRIO: (1) BANHO TERMOSTÁTICO; (2) AGITADOR MAGNÉTICO; (3) CÉLULA DE EQUILÍBRIO; (4) BARRA DE AGITAÇÃO MAGNÉTICA; (5) PONTOS DE AMOSTRAGEM; (6) ENTRADA E (7) SAÍDA DE FLUÍDO DE AQUECIMENTO NA CÉLULA DE EQUILÍBRIO

Inicialmente, com o auxílio de uma seringa de plástico de 10 mL, foi adicionada à célula de equilíbrio uma massa conhecida de solução aquosa, com concentração (m/m) também conhecida, do componente X; essa solução foi mantida sob agitação constante e velocidade suficiente para manter a homogeneidade da mistura a ser formada com a posterior adição da solução aquosa do componente Y.

Em seguida, a massa de dois conjuntos constituídos por béquer + pipeta de Pasteur (3 mL) foi medida individualmente. A um béquer adicionou-se uma massa conhecida de solução aquosa do componente Y e a outro, adicionou-se uma massa conhecida de água osmolisada. Com o auxílio da pipeta de Pasteur, foi gotejada a solução aquosa do componente Y na célula de equilíbrio até que a mistura na célula de equilíbrio apresentasse turbidez (ponto de névoa). A massa do componente Y, necessária para que a mistura se tornasse turva, foi calculada por balanço de massa a partir da massa do componente Y restante no bequer. Com auxílio de outra pipeta de Pasteur, foram adicionadas algumas gotas de água osmolisada, de modo que a mistura na célula de equilíbrio se tornasse novamente translúcida. A massa de água osmolisada necessária para que a mistura se tornasse translúcida foi medida por gravimetria e balanço de massa e anotada. Esse procedimento foi repetido até que pontos suficientes para a construção da linha de equilíbrio fossem obtidos.

3.4 OBTENÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO (LA)

Para obtenção das linhas de amarração, foi aplicado o método gravimétrico descrito por Merchuk *et al.* (1998), no qual as composições das fases não são quantificadas analiticamente e sim calculadas por meio de um sistema de quatro equações e quatro incógnitas (Equações 3 a 6):

$$Y_T = A \exp[(BX_T^{0,5}) - (CX_T^3)] \quad (3)$$

$$Y_F = A \exp[(BX_F^{0,5}) - (CX_F^3)] \quad (4)$$

$$Y_T = \left(\frac{Y_M}{\alpha}\right) - \left[\left(\frac{1-\alpha}{\alpha}\right) Y_F\right] \quad (5)$$

$$X_T = \left(\frac{X_M}{\alpha}\right) - \left[\left(\frac{1-\alpha}{\alpha}\right) X_F\right] \quad (6)$$

onde M, T e F se referem respectivamente à mistura (sistema), fase de topo e fase de fundo; X é a fração mássica do componente X; Y é a fração mássica do componente Y; A, B e C são constantes derivadas da equação de ajuste da binodal (apresentada a seguir) e α é a razão entre a massa da fase de topo e a massa total do sistema (determinada experimentalmente).

Primeiramente, os parâmetros A, B e C foram obtidos por ajuste da Equação 7 aos dados da curva binodal (obtidos experimentalmente) por meio do suplemento Solver, do programa Microsoft Excel (método GRG não linear), no qual a função objetivo (Equação 8) foi minimizada pela alteração de variáveis (parâmetros A, B e C).

$$Y = A \exp[(BX^{0,5}) - (CX^3)] \quad (7)$$

$$F_{ob} = 10^{10} \sum_{i=1}^N (Y_i^{exp} - Y_i^{mod})^2 \quad (8)$$

onde F_{ob} é a função objetivo, N é o número de pontos de névoa observados, Y_i^{exp} é a fração mássica de Y obtida experimentalmente e Y_i^{mod} é a fração mássica de Y calculada pelo modelo. A função objetivo foi multiplicada por um fator de 10^{10} devido ao baixo valor que apresentava impossibilitando a inicialização do Solver, que satisfazia os critérios de parada antes de sua inicialização.

Uma vez obtidos, os parâmetros da Equação 7 foram utilizados para a resolução do sistema (Equações 3 a 6). O sistema foi resolvido numericamente por meio do suplemento Solver, do programa Microsoft Excel, no qual a função objetivo (Equação 9) foi minimizada pela alteração de variáveis (Y_T , X_T , Y_F , X_F). Foi aplicado método GRG não linear, com restrições de $Y_T^{Eq3} = Y_T^{Eq5}$ e de tornar as variáveis irrestritas não negativas.

$$F_{ob} = 10^{10} \sum_{i=1}^N (Y_T^{Eq2} - Y_T^{Eq4})^2 \quad (9)$$

As variáveis X_M e Y_M foram determinadas a partir do preparo de diferentes misturas com massas conhecidas de cada componente na região bifásica (observada após a obtenção das curvas binodais) dos sistemas estudados. Para isso, as misturas foram agitadas até completa dissolução dos componentes e então foram deixadas em repouso, à temperatura desejada, por 24 horas (CHEN *et al.*, 2009), até a separação das fases coexistentes. Após esse período, a fase topo foi separada e transferida para um béquer (previamente tarado) com o auxílio de pipeta de Pasteur (3 mL); a massa dessa fase foi medida em balança analítica e a fração mássica (X_M) foi calculada. A fração mássica (Y_M) foi calculada por diferença.

O comprimento da linha de amarração foi calculado pela Equação 10, que está relacionada com a diferença da composição entre as fases de topo e de fundo.

$$CLA = \sqrt{(X_T - X_F)^2 + (Y_T - Y_F)^2} \quad (10)$$

Para cálculo da inclinação das linhas de amarração (ILA), foi utilizada a Equação 11, que relaciona a variação da fração mássica do componente Y pela variação da fração mássica do componente X .

$$ILA = \frac{Y_T - Y_F}{X_T - X_F} \quad (11)$$

A consistência das linhas de amarração foi determinada por meio das correlações de Othmer e Tobias (1942) e de Hand (1930), representadas pelas Equações 12 e 13, respectivamente. Os parâmetros ajustáveis F , F' , G e G' foram obtidos por ajuste de um modelo de regressão linear.

$$\ln\left(\frac{1 - w_{33}}{w_{33}}\right) = F + G \cdot \ln\left(\frac{1 - w_{12}}{w_{12}}\right) \quad (2)$$

$$\ln\left(\frac{w_{23}}{w_{33}}\right) = F' + G' \cdot \ln\left(\frac{w_{22}}{w_{12}}\right) \quad (13)$$

onde o componente 1 se refere ao sal, o componente 2 se refere à água e o componente 3 se refere ao PEG ou LI; w_{33} é a fração mássica do componente 3 na fase rica no componente 3, w_{12} é a fração mássica do componente 1 na fase rica no componente 2, w_{23} é a fração mássica do componente 2 na fase rica no componente 3, w_{22} é a fração mássica do componente 2 na fase rica no componente

O experimento de determinação das linhas de amarração foi conduzido primeiramente nas células de equilíbrio utilizando o aparato esquematizado na FIGURA 10. Sistemas de aproximadamente 30 gramas eram montados e agitados por meio do agitador magnético durante 4 horas antes de serem deixados em repouso para atingir equilíbrio. Então esse experimento foi repetido utilizando tubos de centrifuga (15 mL), o que permitia a montagem de sistemas menores (10 gramas) e a dissolução mais rápida dos componentes por meio do agitador tipo Vortex (GoMixer, MX-S). Os experimentos realizados na célula e no tubo mostraram boa concordância, com erro percentual entre os valores de ILA de 2,35%. Assim, todos os demais experimentos de obtenção de LA, bem como os de partição foram realizados empregando a metodologia com tubos de ensaio.

3.5 DETERMINAÇÃO DA PARTIÇÃO DA CAFEÍNA

Os experimentos de partição foram conduzidos em tubos de centrífuga (15 mL). Para tanto, foram preparadas misturas na região bifásica (com composição global o mais próximo possível da composição global utilizada para a determinação das linhas de amarração). Nessa etapa, a água foi substituída por uma solução de cafeína com concentração de $5 (\pm 0,0001)$ g/L, segundo a metodologia descrita por Louros *et al.* (2010). As misturas foram agitadas vigorosamente por meio do agitador tipo Vortex (GoMixer, MX-S) até que fosse verificada a completa dissolução dos componentes e a formação de uma única fase. Os tubos contendo as misturas foram selados e levados ao banho termostático (Lab Companion, RW - 1025G) na temperatura desejada, por 24 horas (CHEN *et al.*, 2009), para que as misturas atingissem o equilíbrio. Após esse período foram repetidos os procedimentos para a obtenção das linhas de amarração e a cafeína foi quantificada nas fases topo e fundo. O coeficiente de partição da cafeína entre as fases topo e fundo foi calculado pela Equação 1.

3.6 QUANTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA POR ESPECTROFOTOMETRIA

Utilizou-se a metodologia espectrofotométrica UV/VIS para quantificação da cafeína nas fases de topo e de fundo. Foi utilizado o espectrofotômetro UV (Shimadzu-1800®) e cubetas de quartzo preenchidas com aproximadamente 3,5 mL de amostra. Uma curva de calibração com soluções aquosas (1, 2, 5, 10, 20 e 30 mg/L) de cafeína foi obtida e para leitura de absorbância das fases, cada fase foi cuidadosamente separada e diluída na ordem de 500 vezes, utilizando micropipetas Transferpette® S BRAND. A ordem de diluição utilizada foi determinada com base em experimentos preliminares, no sentido de obter leitura de absorbância no intervalo desejável (entre 0 e 1).

Na FIGURA 11 está apresentado, como exemplo, o espectro de varredura na região UV/VIS para duas soluções de cafeína com concentrações distintas. O pico com maior absorbância foi obtido no comprimento de onda de 273 nm, de forma que

esse comprimento de onda foi estabelecido para quantificação da cafeína neste trabalho.

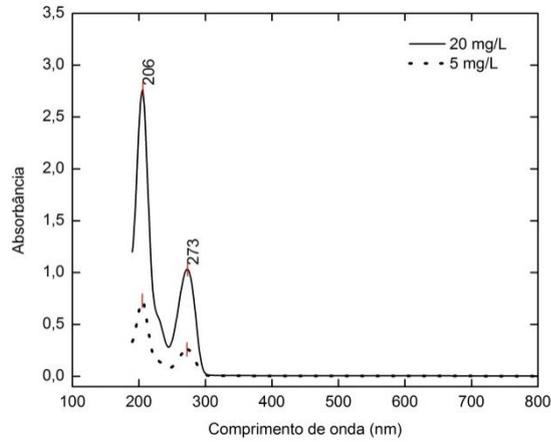


FIGURA 11 - ESPECTRO DE VARREDURA DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE CAFEÍNA (5 mg/L e 20 mg/L)

Na FIGURA 12 está apresentada a curva de calibração ($R^2 = 0,9995$) obtida para quantificação de cafeína.

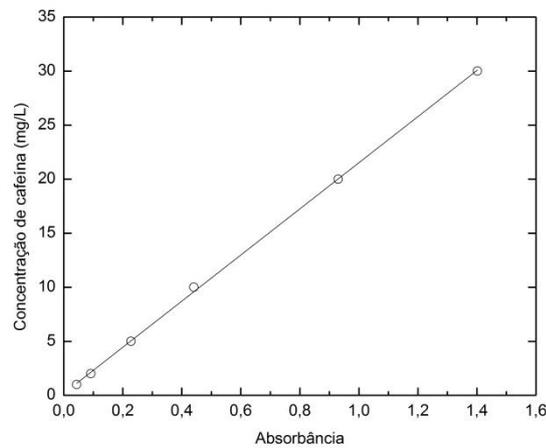


FIGURA 12 – CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CAFEÍNA

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 VALIDAÇÃO DO APARATO EXPERIMENTAL PARA OBTENÇÃO DAS CURVAS BINODAIS E LINHAS DE AMARRAÇÃO

Com o objetivo de validar o método do ponto de névoa no aparato experimental utilizado no presente trabalho, descrito por Kaul (2000), para obtenção das curvas de equilíbrio e o método gravimétrico, descrito por Merchuk *et al.* (1998), para obtenção das linhas de amarração, foram reproduzidos dados disponíveis na literatura (Hammer *et al.*, 1994) pra o sistema PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O a 20 °C.

Na FIGURA 13 estão apresentadas a curva binodal obtida experimentalmente neste trabalho e a calculada pelo modelo proposto por Merchuck *et al.* (1998). A tabela com os dados de binodal para este sistema está apresentada no APÊNDICE II. A Equação 13 é o modelo que descreve a curva calculada com os parâmetros A, B e C (Equação 7) ajustados. Analisando a FIGURA 13, pode-se perceber que o modelo se ajustou bem aos dados experimentais ($R^2 = 0,9977$), assim os parâmetros $A = 93,7931$; $B = -0,7131$ e $C = 1,01 \times 10^{-3}$ foram utilizados para resolução do sistema de Equações (2 a 5) e obtenção das linhas de amarração.

$$Y = 93,79 \exp[(-0,71X^{0,5}) - (1,01 \times 10^{-3}X^3)] \quad (3)$$

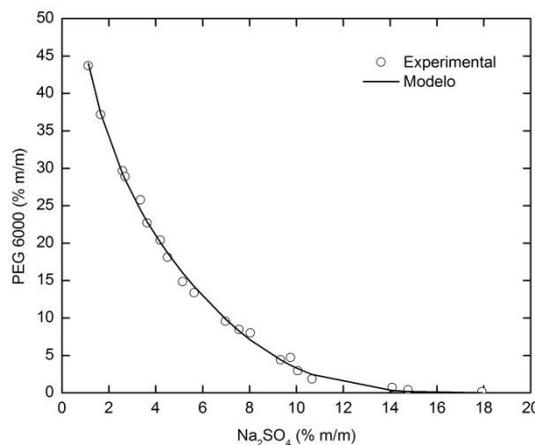


FIGURA 13 – CURVA BINODAL OBTIDA EXPERIMENTALMENTE E CALCULADA PELO MODELO PROPOSTO POR MERCHUCK *et al.* (1998) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O A 20 °C

Hammer *et al.* (1994) quantificaram as composições das fases deste sistema pela técnica de *Density-Sound Analyzer*, que mede o volume específico e a velocidade do som da solução e em seu trabalho não é apresentada a curva binodal para o sistema estudado, assim foi utilizado como base para comparação a média dos valores de ILA. Foram selecionados cinco das sete composições globais de Hammer *et al.* (1994) para reprodução das linhas de amarração. Na TABELA 10, estão apresentadas as composições globais, as composições das fases topo e fundo bem como o CLA e a ILA de Hammer *et al.* (1994) e obtidas neste trabalho.

TABELA 10 - DADOS DE EQUILÍBRIO PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 20 °C

	TL	COMPOSIÇÃO GLOBAL		COMPOSIÇÃO TOPO		COMPOSIÇÃO FUNDO		CLA	ILA
		Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 6000 (%m/m)	Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 6000 (%m/m)	Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 6000 (%m/m)		
Hammer <i>et al.</i> (1994)	1	8,68	17,79	1,18	37,30	15,35	0,13	39,78	-2,62
	2	8,15	18,32	1,21	36,40	15,20	0,00	39,00	-2,60
	3	8,02	15,75	1,77	32,21	13,81	0,22	34,18	-2,66
	4	7,21	14,92	2,32	28,53	12,44	0,67	29,64	-2,75
	5	7,23	11,6	2,98	24,55	11,01	1,12	24,77	-2,92
	6	6,94	11,57	3,62	21,20	10,33	1,84	18,72	-2,89
	7	6,45	11,48	4,92	16,13	9,07	3,72	13,09	-2,99
Este trabalho	1	8,67	17,76	1,56	38,31	14,75	0,18	40,52	-2,89
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	8,06	15,81	2,13	32,70	13,41	0,50	34,13	-2,85
	4	7,21	14,94	2,90	27,11	12,10	1,15	27,56	-2,82
	5	7,2	11,60	4,35	19,37	10,50	2,4	17,82	-2,72
	6	6,95	11,59	4,35	19,38	9,39	4,29	15,90	-2,99
	7	-	-	-	-	-	-	-	-

Como pode ser observado na TABELA 10, apesar das composições globais apresentadas Hammer *et al.* (1994) e apresentadas neste trabalho serem muito similares, as linhas de amarração obtidas neste trabalho apresentam inclinação ligeiramente distinta da inclinação das linhas de amarração obtidas por Hammer *et al.* (1994) e isto se reflete em diferentes composições das fases de topo e de fundo. O erro percentual entre o valor médio de ILA observado por Hammer *et al.* (1994) e o obtido neste trabalho foi de 2,75%. Vale salientar que os valores de ILA e CLA apresentados na TABELA 10 referentes ao trabalho de Hammer *et al.* (1994), não

foram apresentados por estes autores em seu trabalho e sim, foram calculados no presente estudo pelas Equações (9) e (10) com os dados relatados na literatura.

Na FIGURA 14, estão apresentadas a curva binodal e linhas de amarração obtidas experimentalmente neste trabalho, utilizando a metodologia gravimétrica proposta por Merchuck *et al.* (1998), para o sistema PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O a 20 °C. Pode-se afirmar que, para o sistema estudado, a metodologia proposta por Merchuck *et al.* (1998) possibilitou a obtenção de linhas de amarração condizentes, já que apresentaram paralelismo e extremos bem ancorados na curva binodal.

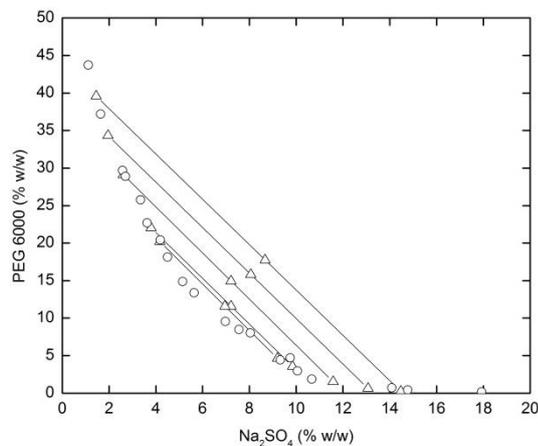


FIGURA 14 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O A 20 °C

As linhas de amarração obtidas no experimento de validação foram testadas quanto à sua consistência termodinâmica. Na TABELA 11 estão apresentados os dados referentes à correlação de Othmer e Tobias (1942). Já na TABELA 12 estão apresentados os dados referentes à correlação de Hand (1930). Os gráficos de correlação de Othmer e Tobias (1942) e Hand (1930) são apresentados na FIGURAS 15 e 16, respectivamente. Analisando os coeficientes de determinação (R^2) pode-se afirmar que há consistência termodinâmica nos dados obtidos já que estes valores são próximos de 1, indicando que há correlação e portanto que a metodologia experimental escolhida é adequada.

TABELA 11 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 20 °C OBTIDOS NESTE TRABALHO

F	G	R ²
-2,91	1,87	0,99

TABELA 12 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 20 °C OBTIDOS NESTE TRABALHO

F'	G'	R ²
-3,18	2,01	0,99

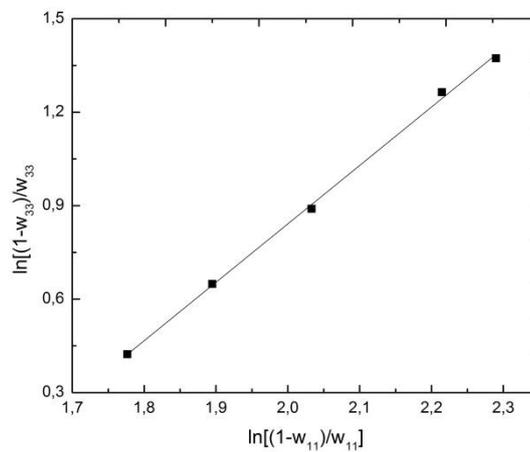


FIGURA 15 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 20 °C OBTIDO NESTE TRABALHO

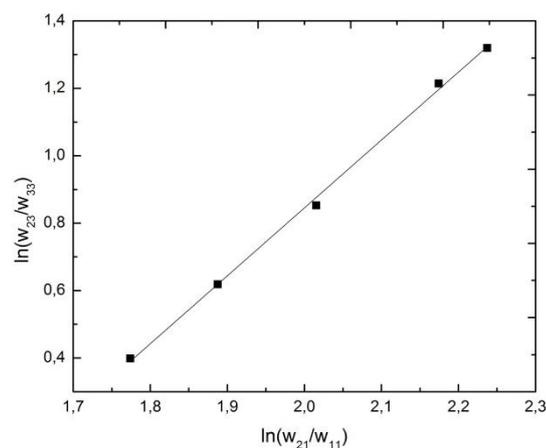


FIGURA 16 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 20 °C OBTIDO NESTE TRABALHO

4.2 SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS SEM ADIÇÃO DE CAFEÍNA: DADOS DE ELL

Nesta seção são apresentados os dados obtidos neste trabalho referentes aos dados de ELL dos sistemas de duas fases aquosas. Os sistemas convencionais foram investigados quanto (a) à influência da massa molar do PEG na região de duas fases, (b) influência da temperatura na região de duas fases e nas linhas de amarração e (c) influência do sal inorgânico também na região de duas fases e nas linhas de amarração. Já os sistemas compostos por líquido iônico foram investigados quanto à influência do sal inorgânico na região de duas fases e nas linhas de amarração.

4.2.1 S DFA convencionais

4.2.1.1 Efeito da MM do PEG na região de duas fases dos sistemas

A fim de verificar a influência da massa molar do polietilenoglicol sobre as curvas de equilíbrio do sistema PEG + Na₂SO₄ + H₂O, foram determinadas curvas binodais variando a massa molar do PEG (400, 4000 e 6000 g.mol⁻¹). O comportamento da binodal de cada sistema foi investigado em três temperaturas diferentes (20, 40 e 60 °C).

Nas FIGURAS 17, 18 e 19 estão apresentadas as curvas binodais para o sistema PEG + Na₂SO₄ + H₂O às temperaturas de 20, 40 e 60 °C, respectivamente. As tabelas com os dados de binodal para estes sistemas estão apresentadas no APÊNDICE II.

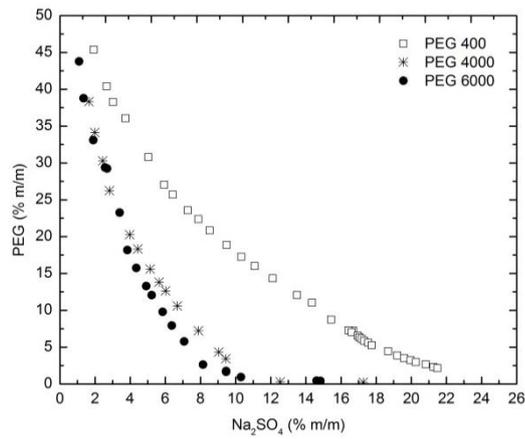


FIGURA 17 – CURVAS BINODAIS OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA OS SISTEMAS PEG + Na_2SO_4 + H_2O EM $T = 20\text{ }^\circ\text{C}$

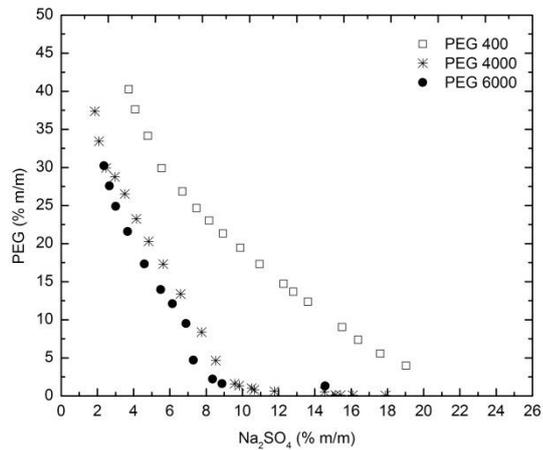


FIGURA 18 – CURVAS BINODAIS OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA OS SISTEMAS PEG + Na_2SO_4 + H_2O EM $T = 40\text{ }^\circ\text{C}$

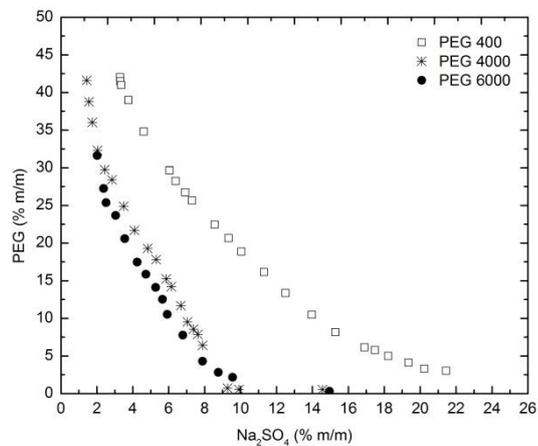


FIGURA 19 – CURVAS BINODAIS OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA OS SISTEMAS PEG + Na_2SO_4 + H_2O EM $T = 60\text{ }^\circ\text{C}$

Analisando-se as FIGURAS 17, 18 e 19 pode-se observar que em todas as temperaturas estudadas a massa molar do polietilenoglicol (PEG) exerce um grande efeito na binodal do sistema PEG + Na₂SO₄ + H₂O, de forma que, quanto maior a massa molar do polímero, maior é a região de duas fases.

Isso ocorre devido à alta solubilidade do PEG em água, de forma que a diminuição da MM do polímero pode ser associada à diminuição da transferência de moléculas de água entre as fases e, além disso, a baixa massa molar do polímero faz com que seja necessária uma maior quantidade de sal para que haja a formação de fases. Por exemplo, na FIGURA 19, quando se fixa uma concentração de aproximadamente 10% (m/m) de PEG, é necessário aproximadamente 6% (m/m) de Na₂SO₄, para formar fase com PEG 6000, 7% (m/m) de Na₂SO₄ para formar fase com PEG 4000 e aproximadamente 15% (m/m) de Na₂SO₄ para formar fase com PEG 400.

Na TABELA 13 estão apresentados os parâmetros de correlação ajustáveis A, B e C de Merchuk (Equação 7). Pode-se observar que a Equação 7 se ajustou bem aos dados experimentais da curva binodal, já que os valores obtidos de R² foram próximos de 1 nas três temperaturas investigadas.

TABELA 13 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DE MERCHUK (EQUAÇÃO 7) PARA AS CURVAS BINODAIS DO SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Temperatura (°C)	A	B	C	R ²
20	82,45	-0,43	1,55 x 10 ⁻⁴	0,99
40	102,01	-0,49	1,38 x 10 ⁻⁴	0,99
60	100,00	-0,48	1,56 x 10 ⁻⁴	0,99

4.2.1.2 Efeito da temperatura na região de duas fases dos sistemas e nas linhas de amarração

Assim como a massa molar do polímero, a temperatura pode exercer efeito sob a binodal do sistema polímero + sal inorgânico + água. Para esse tipo de sistema é comum associar o aumento da temperatura com o aumento da região bifásica, visto que o processo de separação de fases é endotérmico. Além disto, um

aumento na temperatura pode promover o aumento na região de duas fases devido ao aumento na solubilidade dos componentes do sistema. Entretanto, tanto o PEG (400, 4000 e 6000) quanto o Na_2SO_4 apresentam elevada solubilidade em água, mesmo em temperaturas mais brandas, de forma que a mudança na temperatura não afetou significativamente a área da curva binodal, como pode ser observado nas FIGURAS 20, 21 e 22. Nestas figuras são apresentadas curvas de equilíbrio para o sistema PEG (400, 4000 e 6000) + Na_2SO_4 + H_2O em temperaturas de 20, 40 e 60 °C, respectivamente.

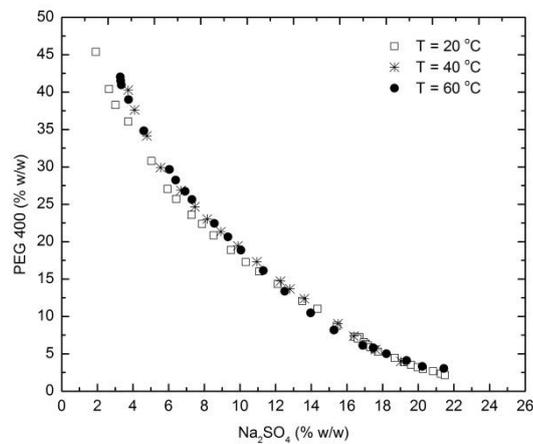


FIGURA 20 – CURVAS BINODAIS PARA O SISTEMA PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O EM DIFERENTES TEMPERATURAS

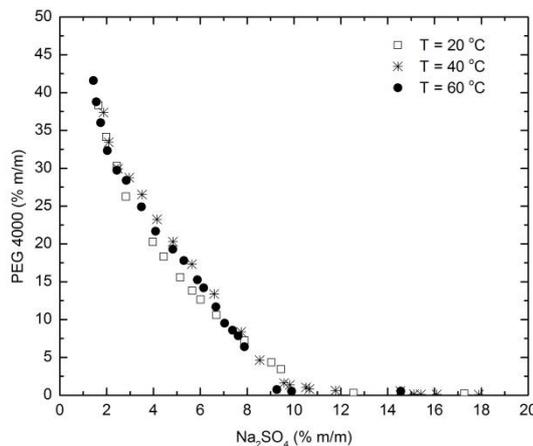


FIGURA 21 – CURVAS DE EQUILÍBRIO PARA O SISTEMA PEG 4000 + Na_2SO_4 + H_2O EM DIFERENTES TEMPERATURAS

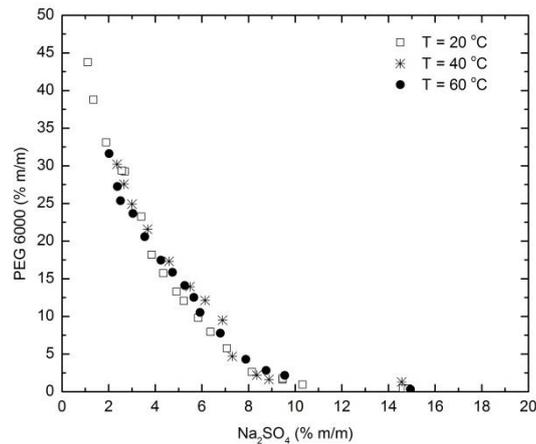


FIGURA 22 – CURVAS DE EQUILÍBRIO OBTIDAS PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Além do presente estudo, já foi demonstrado anteriormente que o efeito da temperatura sobre as curvas de equilíbrio pode ser considerado desprezível para sistemas aquosos polímero + sal inorgânico (MARTINS *et al.*, 2008), entretanto acredita-se que apesar da temperatura não apresentar influência na região de duas fases, esta pode afetar as linhas de amarração, ou seja ILA e CLA e, como consequência, influenciar o coeficiente de partição de determinadas moléculas no sistema. Assim, o presente estudou voltou a atenção para a investigação da influência da temperatura nas linhas de amarração do sistema PEG + Na₂SO₄ + H₂O. Para tanto, foi fixada uma massa molar de PEG e variou-se a temperatura na determinação das LA, o que está apresentado na próxima subseção.

Para o levantamento das linhas de amarração do sistema PEG + Na₂SO₄ + H₂O, com finalidade de estudar o efeito da temperatura sobre as mesmas, optou-se por utilizar o polietilenoglicol com massa molar 400 g.mol⁻¹ devido a alguns fatores relacionados ao fato de esse polímero ser líquido à temperatura ambiente, a saber: (a) alta solubilidade em água, de forma que a fase rica nesse componente apresente menor viscosidade e (b) a menor massa molar do polímero e o menor tamanho de suas moléculas permitem maior transferência de massa da molécula alvo a ser particionada.

Nas FIGURAS 23, 24 e 25 estão apresentadas a binodal, as linhas de amarração e as composições globais utilizadas para a obtenção das linhas de amarração do sistema PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O às temperaturas de 20, 40 e 60 °C, respectivamente. Nessas FIGURAS pode-se notar que houve paralelismo entre as

linhas de amarração e que, portanto, a escolha da composição global do sistema não apresentou efeito significativo na inclinação das linhas de amarração.

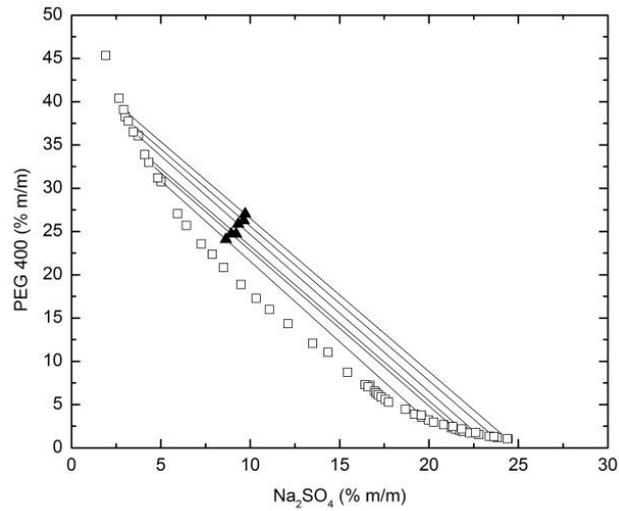


FIGURA 23 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 20 °C

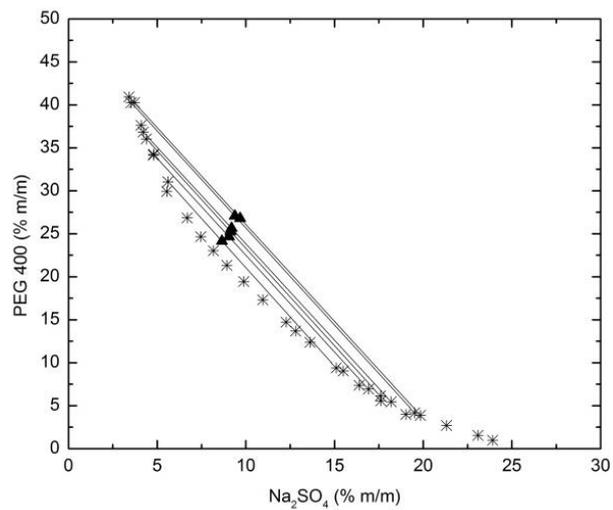


FIGURA 24 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 40 °C

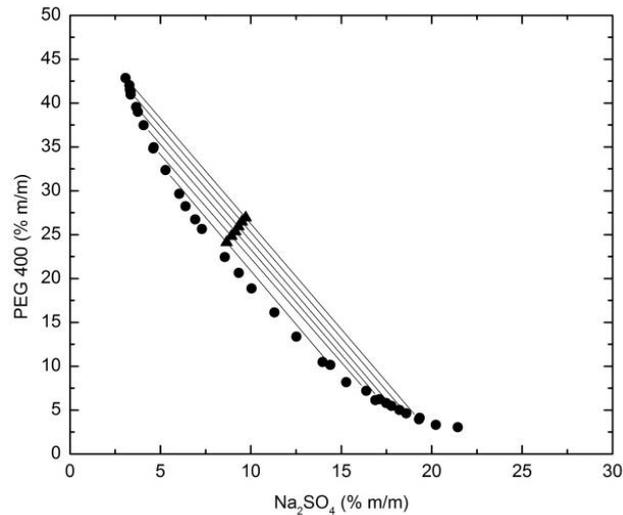


FIGURA 25 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O EM $T = 60\text{ }^\circ\text{C}$

Na FIGURA 26 são apresentadas, concomitantemente, as linhas de amarração para o sistema PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O às três temperaturas investigadas (20, 40 e 60 $^\circ\text{C}$) com o objetivo de melhor visualizar o efeito da temperatura na inclinação das linhas de amarração.

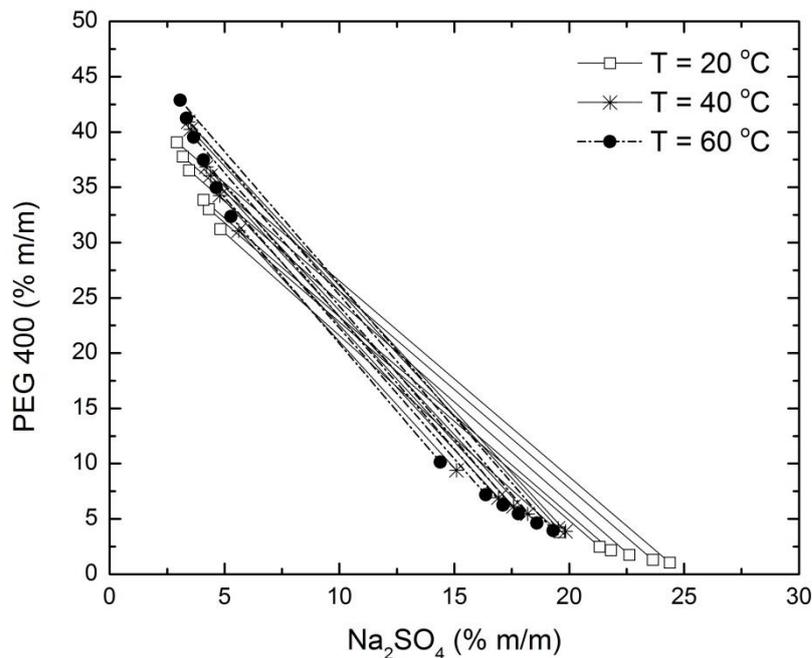


FIGURA 26 – LINHAS DE AMARRAÇÃO O SISTEMA PEG 400 + Na_2SO_4 + H_2O À 20, 40 E 60 $^\circ\text{C}$

As composições globais e das fases de topo e de fundo, bem como o comprimento das linhas de amarração (CLA) e inclinação da linha de amarração (ILA) podem ser observadas na TABELA 14. Como esperado, pode-se verificar que

a fase topo é preferencialmente composta por PEG enquanto que a fase fundo é preferencialmente composta por sal; em relação ao CLA, pode-se verificar que seu valor aumenta de acordo com o aumento da diferença entre as composições das fases.

TABELA 14 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 20, 40 E 60 °C

T (°C)	TL	COMPOSIÇÃO GLOBAL		COMPOSIÇÃO TOPO		COMPOSIÇÃO FUNDO		CLA	ILA
		Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 400 (%m/m)	Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 400 (%m/m)	Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 400 (%m/m)		
20	1	8,6	24,1	4,8	30,9	19,5	4,6	31,1	-1,86
	2	8,9	24,7	4,3	32,7	21,3	3,2	35,0	-1,80
	3	9,2	24,7	4,1	33,6	21,7	2,9	36,3	-1,79
	4	9,3	25,9	3,5	36,2	22,5	2,4	41,5	-1,82
	5	9,6	26,3	3,2	37,5	23,5	1,9	41,8	-1,78
	6	9,7	27,0	3,0	38,8	24,3	1,6	43,4	-1,77
40	1	8,7	24,1	5,62	31,1	15,1	9,4	23,7	-2,29
	2	9,0	24,7	4,80	34,3	16,9	6,9	29,9	-2,25
	3	9,4	27,1	3,54	40,3	19,5	4,2	39,5	-2,26
	4	9,7	26,8	3,42	40,9	19,8	3,9	40,5	-2,25
	5	9,1	25,3	4,38	36,0	17,6	6,1	32,7	-2,27
	6	9,2	25,7	4,21	36,8	18,2	5,5	34,3	-2,24
60	1	8,7	24,1	5,3	32,4	14,4	10,1	24,0	-2,44
	2	8,9	24,8	4,6	35,0	16,4	7,2	30,1	-2,37
	3	9,1	25,4	4,1	37,5	17,1	6,2	33,8	-2,39
	4	9,3	25,9	3,7	39,5	17,8	5,5	36,9	-2,41
	5	9,5	26,5	3,4	41,2	18,6	4,6	39,7	-2,40
	6	9,7	26,9	3,1	42,9	19,3	3,9	42,2	-2,40

Os valores médios das inclinações das linhas de amarração para as temperaturas estudadas estão apresentados na TABELA 15. Pode ser observado que quanto maior a temperatura, maior a inclinação (valor absoluto) da linha de amarração. Embora em baixas massa molares de PEG, como é o caso do PEG 400, esse efeito possa ser indistinguível (OLIVEIRA *et al.*, 2008), essa tendência de aumento na ILA com o aumento da temperatura pode ser atribuída à transferência de moléculas de água da fase rica em PEG (topo) para a fase rica em sal devido ao

aumento da hidrofobicidade da fase rica em PEG com o aumento da temperatura. O mesmo comportamento foi observado em outros estudos de SDFA de PEG + Sal inorgânico + H₂O relatados na literatura (MARTINS *et al.*, 2010; MARTINS *et al.* 2008; CARVALHO *et al.*, 2007), mostrando que os dados obtidos neste trabalho estão de acordo com a literatura.

TABELA 15 – INCLINAÇÃO MÉDIA DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO DO SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Temperatura (°C)	Inclinação das LA
20	-1,80 ± 0,02
40	-2,26 ± 0,01
60	-2,40 ± 0,02

As TABELAS 16 e 17 apresentam os dados relacionados à verificação da consistência termodinâmica das linhas de amarração obtidas experimentalmente, por meio das correlações de Othmer e Tobias (1942) e de Hand (1930), respectivamente. Os gráficos de correlação para esse sistema estão apresentados no APÊNDICE III. A partir da análise das TABELAS 16 e 17 pode-se afirmar que os dados obtidos apresentam consistência termodinâmica, pois os coeficientes de determinação (R²) apresentaram valores próximos de 1.

TABELA 16 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na₂SO₄ (3) + H₂O (2)

Temperatura (°C)	F	G	R ²
20	-1,04	1,32	0,96
40	-1,46	1,32	0,99
60	-1,58	1,32	0,97

TABELA 17 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na₂SO₄ (3) + H₂O (2)

Temperatura (°C)	F'	G'	R ²
20	-1,18	1,43	0,96
40	-1,78	1,56	0,99
60	-1,95	1,59	0,97

4.2.1.3 Efeito do sal inorgânico na região de duas fases dos sistemas e nas linhas de amarração

Para avaliar o efeito do sal inorgânico nos dados de ELL dos SDFA convencionais foram investigados os sistemas PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O (sal de ânion cosmotrópico) e PEG 1500 + NaNO₃ + H₂O (sal de ânion caotrópico) a 25 °C. Visto que sais ânions caotrópicos tendem a diminuir a tensão superficial entre as fases é conveniente esperar que, para uma determinada concentração de solução de PEG (m/m) maior concentração de sal de ânion caotrópico será necessária para formar fase, quando comparado com sal de ânion cosmotrópico. Isto também pode ser atribuído devido a esse sal romper as ligações de hidrogênio das moléculas de água, o que desorganiza sua rede tridimensional diminuindo a região hidrofóbica da solução salina. Tal fato pode ser facilmente percebido através da análise das curvas binodais para os SDFA formados por cada um destes sais e PEG. Nas FIGURAS 27 e 28 estão apresentadas as curvas de equilíbrio obtidas neste trabalho para os sistemas PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O e PEG 1500 + NaNO₃ + H₂O a 25 °C. Os dados de binodal para esses sistemas estão apresentados no APÊNDICE II.

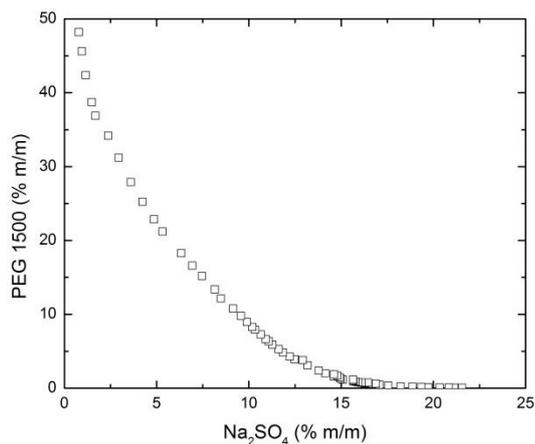


FIGURA 27 - CURVA DE EQUILÍBRIO OBTIDA NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 25 °C

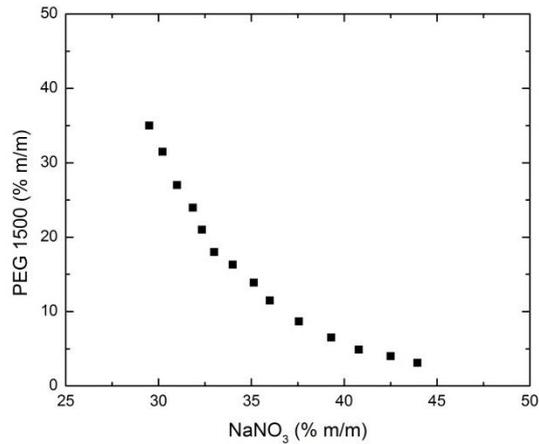


FIGURA 28 - CURVA DE EQUILÍBRIO OBTIDA NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA PEG 1500 + NaNO₃ + H₂O EM T = 25 °C

Analisando as FIGURAS 27 e 28, pode-se perceber que, como esperado, quando o sal de ânion caotrópico é utilizado é necessário que haja uma concentração muito maior de sal para formar a região bifásica. Por exemplo, se se fixar a concentração de PEG 1500 em 30% (m/m) em um SDFA empregando Na₂SO₄ será necessário aproximadamente 3% (m/m) de sal (e o restante de água) para formar duas fases (vide FIGURA 27). Por outro lado em um SDFA empregando NaNO₃ será necessário mais de 10 vezes essa quantidade de sal (aproximadamente 30%, vide FIGURA 28).

O estudo dos dados de ELL do sistema PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O a 25 °C foi reportado na literatura por Martins *et al.* (2008), entretanto, estes autores não apresentaram dados de binodal e aplicaram as análises de refratometria, condutivimetria e liofilização para determinação das composições das fases.

A fim de comparar os dados obtidos neste trabalho com os dados reportados por Martins *et al.* (2008), na FIGURA 29 estão apresentadas as linhas de amarração de ambos os trabalhos.

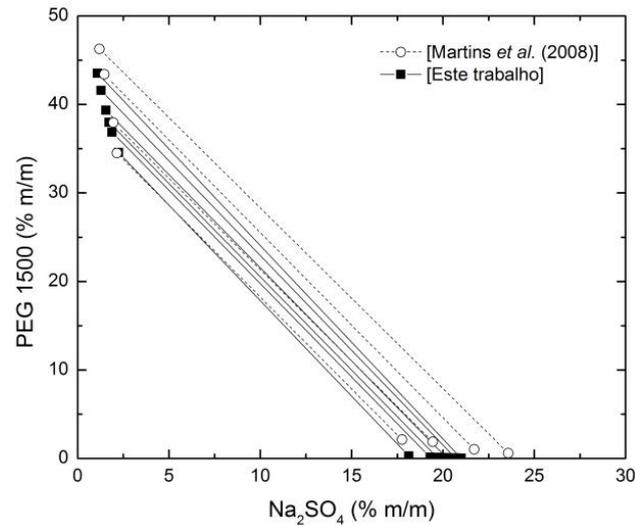


FIGURA 29 – LINHAS DE AMARRAÇÃO OBTIDAS NESTE TRABALHO E REPORTADAS POR MARTINS *et al.* (2008) PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 25 °C

Analisando a FIGURA 29 pode-se perceber que os dados experimentais obtidos no presente trabalho estão de acordo com os dados obtidos por Martins *et al.* (2008), já que as linhas de amarração apresentam a inclinação semelhante (com erro absoluto entre os valores médios inferior a 1%), assim, esses dados corroboram para a validação da metodologia aplicada neste trabalho (Merchuk *et al.*, 1998) para determinação das linhas de amarração. A diferença observada nas composições das fases fundo pode estar relacionada com uma diferença no tempo de equilíbrio ao qual os sistemas foram submetidos, embora em seu trabalho Martins *et al.* afirmem que suas amostras também permaneceram no banho à temperatura desejada por 24 horas. Embora tenha sido observada esta diferença, vale destacar que as linhas de amarração obtidas no presente estudo estão ancoradas na curva binodal também obtida experimentalmente.

Em relação ao sistema PEG 1500 + NaNO₃ + H₂O, não foram encontrados dados de ELL na literatura pesquisada, entretanto é possível encontrar dados para PEG com diferentes MM (4000 e 6000 g.mol⁻¹). Na FIGURA 30 estão apresentadas as curvas de equilíbrio reportadas na literatura e obtida experimentalmente no presente estudo.

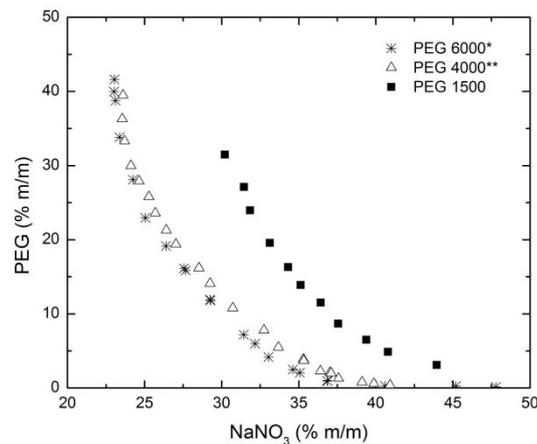


FIGURA 30 - CURVAS DE EQUILÍBRIO PARA O SISTEMA PEG + NaNO₃ + H₂O EM T = 25 °C (*) GRABER *et al.* (2001) (**) GRABER e TABOADA (2000)

Como pode ser observado na FIGURA 30, ocorre o aumento da região bifásica do sistema com o aumento da MM do PEG. Assim, tal comportamento, que foi observado para os sistemas aplicando sal inorgânico com ânion cosmotrópico (Na₂SO₄, seção 4.2.1.1), também pôde ser observado quando se utilizou o sal inorgânico com ânion caotrópico (NaNO₃).

Na TABELA 18 estão apresentados os parâmetros ajustáveis de Merchuk (Equação 7) para as curvas apresentadas nas FIGURAS 27 e 28. Pode-se observar que houve um bom ajuste, visto que os valores obtidos de R² foram próximos de 1 nos sistemas investigados.

TABELA 18 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DE MERCHUK (EQUAÇÃO 7) PARA AS CURVAS BINODAIS DOS SISTEMAS PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H₂O EM T = 25 °C

SAL	A	B	C	R ²
Na ₂ SO ₄	72,52	-0,49	5,90 x 10 ⁻⁴	0,99
NaNO ₃	30526,87	-1,15	2,06 x 10 ⁻⁵	0,99

Os parâmetros apresentados na TABELA 18 foram usados para o cálculo das composições das fases dos SDFA formados por PEG 1500 + Sal de Sódio + H₂O a 25 °C.

Na TABELA 19, a seguir, estão apresentados os dados de composição global e das fases topo e fundo, bem como os dados de CLA e ILA obtidos neste trabalho para estes sistemas. Os diagramas de fase para esses sistemas estão apresentados nas FIGURAS 31 e 32. No APÊNDICE IV, estes diagramas estão apresentados

simultaneamente, com o objetivo de facilitar a visualização do efeito do sal inorgânico na região de duas fases e nas linhas de amarração.

TABELA 19 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H₂O EM T = 25 °C

SDFA: PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O								
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL		COMPOSIÇÃO TOPO		COMPOSIÇÃO FUNDO		CLA	ILA
	PEG	SAL	PEG	SAL	PEG	SAL		
	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)		
1	26,8	5,9	33,7	2,4	1,4 x 10 ⁻¹	19,1	37,8	-2,16
2	28,0	6,0	36,8	1,9	1,2 x 10 ⁻¹	19,3	40,6	-2,11
3	28,7	6,1	37,8	1,7	0,8 x 10 ⁻¹	19,8	41,9	-2,11
4	29,3	6,3	39,3	1,5	0,6 x 10 ⁻¹	20,2	44,1	-2,11
5	30,3	6,6	41,6	1,3	0,4 x 10 ⁻¹	20,7	45,8	-2,14
6	31,0	6,8	43,5	1,0	0,3 x 10 ⁻¹	21,0	47,8	-2,18

SDFA: PEG 1500 + NaNO ₃ + H ₂ O								
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL		COMPOSIÇÃO TOPO		COMPOSIÇÃO FUNDO		CLA	ILA
	PEG	SAL	PEG	SAL	PEG	SAL		
	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)		
1	15,0	35,2	20,6	32,9	8,5	38,0	13,1	-2,38
2	15,4	35,5	24,3	31,9	7,3	38,8	18,4	-2,45
3	15,6	36,1	27,1	31,2	5,2	40,6	23,9	-2,33
4	16,1	36,3	29,6	30,7	4,6	41,2	48,2	-2,37
5	16,1	36,6	30,9	30,4	4,4	41,4	28,7	-2,40
6	16,6	36,9	33,5	29,9	3,8	42,1	31,6	-2,42

Como pode ser observado na TABELA 19, a média da inclinação das linhas de amarração (ILA) é semelhante para os dois sistemas (-2,14 e -2,39; respectivamente), indicando que o sal inorgânico não apresenta grande influência nesse quesito.

Por outro lado, quando se compara os comprimentos das linhas de amarração (CLA), pode-se observar que, em geral, o CLA do sistema envolvendo sal cosmotrópico (Na₂SO₄) foi maior do que o CLA do sistema envolvendo sal caotrópico (NaNO₃). Isto ocorreu pois, para este último sistema, os valores dos dados de ELL nos extremos da binodal e linhas de amarração foram interrompidos

pela precipitação do sal, resultando em um sistema sólido-líquido, de forma que o envelope líquido-líquido do sistema com NaNO_3 , apresentou-se menor quando comparado com o sistema com Na_2SO_4 .

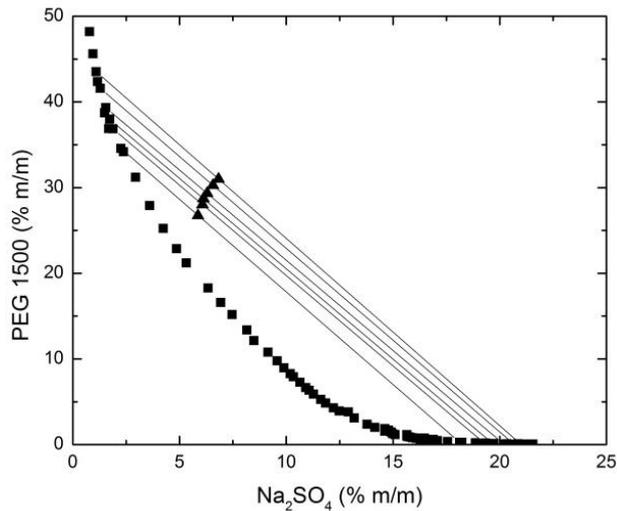


FIGURA 31 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na_2SO_4 + H_2O EM $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

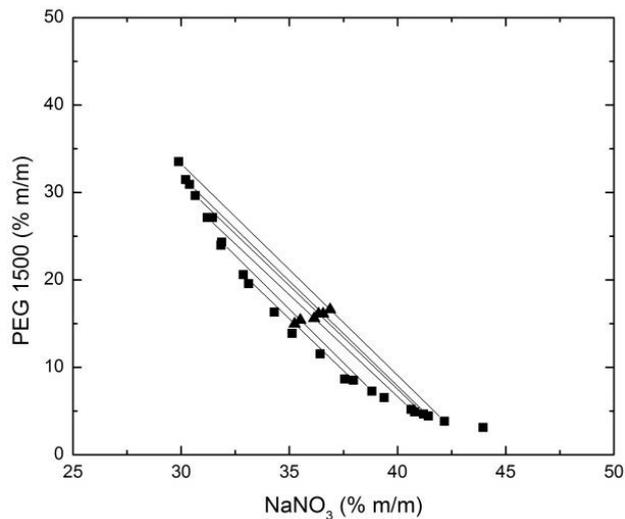


FIGURA 32 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + NaNO_3 + H_2O EM $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

As informações referentes à verificação da consistência termodinâmica dos dados de ELL obtidos neste trabalho para os sistemas PEG 1500 + Sais de Sódio + H_2O estão apresentadas nas TABELAS 20 e 21. Os gráficos de correlação estão apresentados no APÊNDICE III. De acordo com os valores do coeficiente de

determinação (R^2), que estão próximos de 1, pode-se afirmar que há consistência nos dados obtidos, segundo as correlações de Othmer-Tobias (1942) e Hand (1930).

TABELA 20 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O (2)

SAL	F	G	R ²
Na ₂ SO ₄	-3,83	3,09	0,95
NaNO ₃	-0,40	3,50	0,97

TABELA 21 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O (2)

SAL	F'	G'	R ²
Na ₂ SO ₄	-3,72	3,00	0,95
NaNO ₃	-1,63	6,98	0,97

4.2.2 LI-SDFA

O líquido iônico tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.BF₄), foi investigado quanto à possibilidade de sua utilização como substituinte do PEG no SDFA. Os LI-SDFA foram estudados em relação ao efeito do sal inorgânico como formador de fase. Para tanto, primeiramente foram obtidos os dados de ELL dos sistemas (sem adição de cafeína) e após foram realizados os experimentos de partição (com consequente obtenção de dados de ELL para os sistemas com adição de cafeína). Nesta seção são apresentados os dados de ELL dos sistemas sem adição de cafeína. Todos os experimentos foram realizados a 25 °C.

De acordo com Neves *et al.* (2009), os SDFA compostos por LI + sal inorgânico são mais complexos quando comparados aos SDFA típicos compostos por PEG + sal inorgânico devido à possibilidade de trocas iônicas e/ou pareamento iônico entre as duas fases salinas. Entretanto vale salientar que foi observado por Brigdes *et al.* (2007) que, de um ponto de vista operacional, essas trocas iônicas podem ser desconsideradas, de forma que a interpretação da composição das fases pode ser baseada na concentração total de sal e não na concentração individual de

íons. Nesse sentido, neste trabalho não foi considerada a troca iônica e a composição das fases foi baseada na concentração total de seus componentes.

Nas TABELA 22 e FIGURAS 33 e 34 estão apresentados, respectivamente, as composições das fases de topo e de fundo, bem como o comprimento das linhas de amarração (CLA) e a inclinação das linhas de amarração (ILA) e os diagramas de fases obtidos neste trabalho para o sistema BMI.BF₄ + Sal de Sódio + H₂O a 25 °C. Os dados de binodal para esses sistemas estão apresentados no APÊNDICE II, já no APÊNDICE IV, estes diagramas estão apresentados simultaneamente, com o objetivo de facilitar a visualização do efeito do sal inorgânico na região de duas fases e nas linhas de amarração.

Pode-se observar que para esse sistema o valor médio absoluto da ILA para o sistema BMI.BF₄ + Na₂SO₄ + H₂O (-7,22 ± 0,02) foi superior quando comparado com o valor médio para os sistemas polímero-sal inorgânico apresentados neste trabalho, enquanto que para o sistema BMI.BF₄ + NaNO₃ + H₂O, isto não ocorreu. Tal fato pode, novamente, estar relacionado com as características cosmotrópicas e caotrópicas dos ânions. No primeiro caso, com maior valor médio absoluto de ILA, o ânion cosmotrópico (SO₄²⁻) favorece a separação e a diferença entre composição das fases, promovendo maiores ILA. Outra diferença observada foi que, para este sistema, a fase fundo apresentou-se rica em BMI.BF₄, diferente dos sistemas estudados até então neste trabalho, nos quais a fase fundo apresentou-se rica em sal inorgânico. Ao contrário do que foi observado neste trabalho, em vários estudos envolvendo SDFAs formados por LI + sal inorgânico, o líquido iônico é o componente principal da fase topo (DESAI *et al.* 2014; JIANG *et al.* 2015; TAN *et al.* 2012a; TAN *et al.*, 2012b).

Li *et al.* (2010) estudaram a formação de SDFAs contendo BMI.BF₄ + Sais Inorgânicos cosmotrópico + H₂O, dentre os sais estudados está o Sulfato de Sódio. Entretanto, em seu trabalho Li *et al.* (2010) não se aprofundaram neste sistema de forma que não foram apresentados dados de linha de amarração (composição, inclinação, comprimento).

TABELA 22 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF₄ + SAL DE SÓDIO + H₂O EM T = 25 °C

LI-SDFA: BMI.BF ₄ + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O								
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL		COMPOSIÇÃO TOPO		COMPOSIÇÃO FUNDO		CLA	ILA
	LI	SAL	LI	SAL	LI	SAL		
	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)		
1	26,9	5,8	16,0	7,3	58,8	1,4	43,3	-7,23
2	27,9	6,3	13,8	8,3	65,4	1,1	52,0	-7,20
3	29,0	6,1	14,0	8,1	64,6	1,1	51,0	-7,21
4	29,6	6,4	13,1	8,7	67,8	1,0	55,2	-7,19
5	29,8	6,4	13,0	8,7	68,8	1,0	56,2	-7,26
6	31,3	6,6	12,1	9,2	72,2	0,9	60,7	-7,21

LI-SDFA: BMI.BF ₄ + NaNO ₃ + H ₂ O								
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL		COMPOSIÇÃO TOPO		COMPOSIÇÃO FUNDO		CLA	ILA
	LI	SAL	LI	SAL	LI	SAL		
	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)		
1	48,6	22,2	39,3	26,5	67,8	13,4	31,3	-2,17
2	58,0	19,0	34,4	29,8	74,2	11,5	44,2	-2,17
3	49,7	22,5	35,4	29,1	72,8	11,9	41,3	-2,17
4	50,0	22,8	33,9	30,2	74,2	11,5	42,0	-2,16
5	51,0	23,0	31,2	32,2	78,3	10,4	51,8	-2,17
6	56,0	21,0	30,3	32,9	79,4	10,2	53,1	-2,16

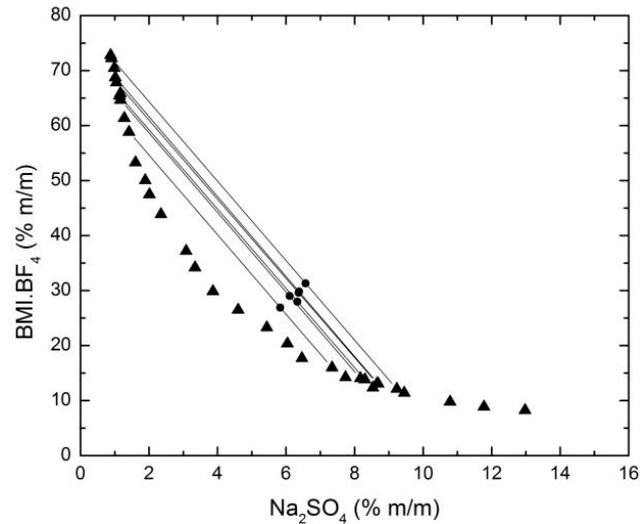


FIGURA 33 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF₄ + Na₂SO₄ + H₂O EM T = 25 °C

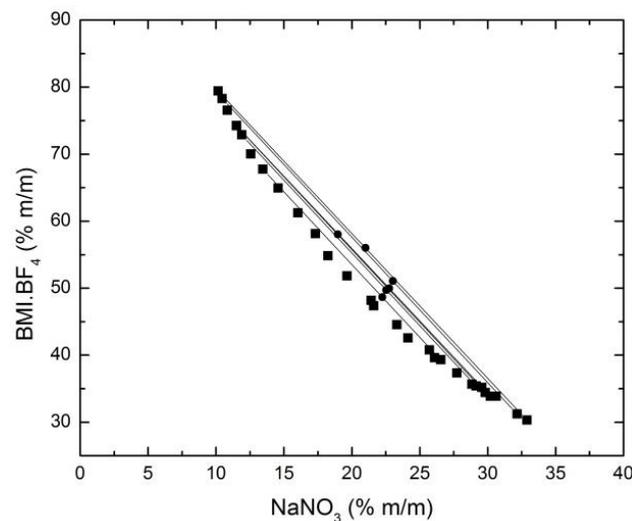


FIGURA 34 - CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF₄ + NaNO₃ + H₂O EM T = 25 °C

Assim como ocorreu para os SDFAs envolvendo polímero, os LI-SDFAs estudados neste trabalho mostraram-se dependentes do sal inorgânico no sentido da aplicação do sal cosmotrópico não favorecer a formação da região bifásica visto que mais sal (concentração m/m) é necessário para que seja atingida a composição de equilíbrio. Além disto, é possível observar, que o CLA do sistema envolvendo NaNO₃ novamente foi, em geral, menor do que o CLA do sistema envolvendo Na₂SO₄, indicando que um menor envelope líquido-líquido promovido pelo sal cosmotrópico ocorre tanto para SDFAs tradicionais, aplicando polímeros, quanto para LI-SDFAs.

Na TABELA 23 estão apresentados os parâmetros ajustáveis de Merchuk (Equação 7) para as binodais apresentadas nas FIGURAS 32 e 33. Pode-se observar que houve um bom ajuste dos parâmetros já que, nos sistemas investigados, os valores obtidos de R^2 foram próximos de 1.

TABELA 23 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DE MERCHUK (EQUAÇÃO 7) PARA AS CURVAS BINODAIS DOS SISTEMAS BMI.BF₄ + SAL DE SÓDIO + H₂O EM T = 25 °C

SAL	A	B	C	R ²
Na ₂ SO ₄	163,69	-0,86	-1,47 x 10 ⁻⁵	0,99
NaNO ₃	220,01	-0,32	4,43 x 10 ⁻⁶	0,99

Nas TABELAS 24 e 25, estão apresentadas as informações referentes ao ajuste das correlações de Othmer-Tobias e Hand aos dados de experimentais de ELL dos LI-SDFA estudados no presente trabalho, a fim de verificar sua consistência termodinâmica. Os gráficos de correlação estão apresentados no APÊNDICE III. Como pode ser verificado, visto que os coeficientes de determinação R^2 apresentaram valores superiores a 0,95, pode-se afirmar que os dados extraídos são termodinamicamente consistentes.

TABELA 24 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O (2)

SAL	F	G	R ²
Na ₂ SO ₄	-6,35	2,37	0,99
NaNO ₃	-2,76	2,00	0,99

TABELA 25 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA BMI.BF₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O (2)

SAL	F'	G'	R ²
Na ₂ SO ₄	-7,18	2,90	0,99
NaNO ₃	-2,62	5,38	0,99

4.3 SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS COM ADIÇÃO DE CAFEÍNA: DADOS DE ELL E COEFICIENTES DE PARTIÇÃO

Nesta seção são apresentados os dados de ELL dos SDFA convencionais e compostos por LI (LI-SDFA) com adição de cafeína. Todos os sistemas apresentados na seção anterior foram avaliados quanto à partição deste componente. Além destes, foram acrescentados dois SDFA com adição de cafeína (PEG 4000 + Na₂SO₄ + H₂O e PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O em T = 25 °C) com o objetivo de investigar o efeito da massa molar do polímero na partição da cafeína.

4.3.1 SDFA convencionais

4.3.1.1 Efeito da MM de PEG na partição da cafeína

Nos experimentos de partição com o objetivo de avaliar a influencia da MM do PEG na partição da cafeína foram utilizados PEG de duas MM (4000 e 6000 g.mol⁻¹) e a temperatura de 25 °C. Nas FIGURAS 35 e 36 estão apresentados os diagramas de fases para o sistema aquoso PEG (4000/6000) + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA na temperatura de 25 °C. Na TABELA 26 estão apresentadas composições das fases de topo e de fundo, o comprimento e a inclinação das linhas de amarração, bem como o coeficiente de partição da cafeína nos sistemas.

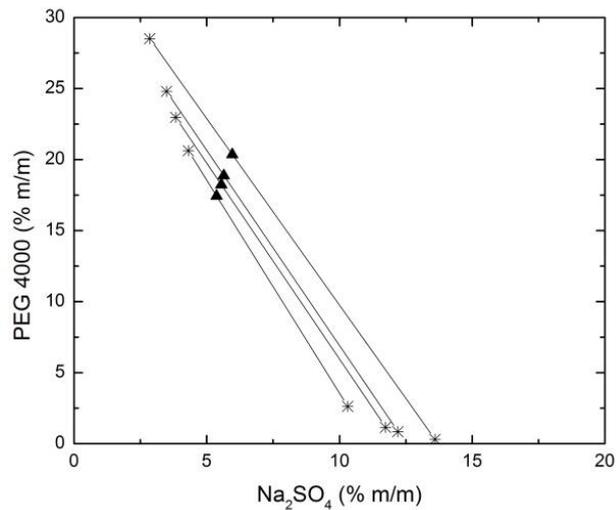


FIGURA 35 – LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 4000 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

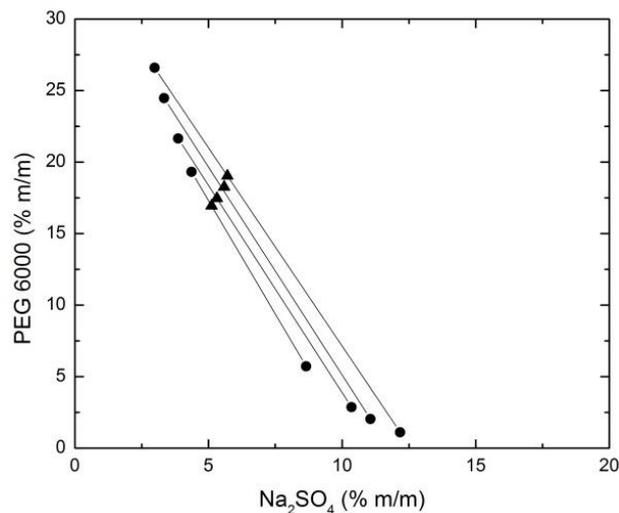


FIGURA 36 – LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

Analisando a TABELA 26, pode-se perceber que ambos os sistemas envolvendo PEG 4000 e PEG 6000 apresentaram comportamento de ELL e de partição de cafeína similares. Em relação ao coeficiente de partição, pode-se observar que para todas as condições investigadas, este apresentou valores maiores que 1 ($k > 1$), indicando que a cafeína particionou preferencialmente na fase de topo (fase orgânica, rica em PEG).

TABELA 26 – COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DE CAFÉINA PARA O SISTEMA PEG 4000/6000 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

SDFA: PEG 4000 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA												
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL			COMPOSIÇÃO TOPO			COMPOSIÇÃO FUNDO			CLA	ILA	k
	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)			
1	17,4	5,4	3,86 x 10 ⁻¹	20,6	4,3	4,22 x 10 ⁻¹	2,6	10,3	2,20 x 10 ⁻¹	19,0	-3,00	2,22
2	18,2	5,5	3,83 x 10 ⁻¹	23,0	3,8	4,24 x 10 ⁻¹	1,1	11,7	2,19 x 10 ⁻¹	24,8	-2,76	2,31
3	18,9	5,6	3,82 x 10 ⁻¹	24,8	3,5	4,29 x 10 ⁻¹	0,9	12,2	2,15 x 10 ⁻¹	25,5	-2,75	2,42
4	20,3	6,0	3,77 x 10 ⁻¹	28,5	2,8	4,36 x 10 ⁻¹	0,3	13,6	2,01 x 10 ⁻¹	30,2	-2,63	2,72

SDFA: PEG 6000 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA												
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL			COMPOSIÇÃO TOPO			COMPOSIÇÃO FUNDO			CLA	ILA	k
	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)			
1	16,9	5,1	3,88 x 10 ⁻¹	19,3	4,4	4,19 x 10 ⁻¹	5,7	8,7	2,45 x 10 ⁻¹	14,2	-3,17	1,92
2	17,5	5,3	3,86 x 10 ⁻¹	21,6	3,9	4,25 x 10 ⁻¹	2,9	10,3	2,50 x 10 ⁻¹	19,9	-2,90	1,98
3	18,3	5,6	3,84 x 10 ⁻¹	24,5	3,3	4,24 x 10 ⁻¹	2,0	11,0	2,55 x 10 ⁻¹	25,0	-2,80	2,00
4	19,0	5,7	3,76 x 10 ⁻¹	26,6	3,0	4,49 x 10 ⁻¹	1,1	12,1	2,04 x 10 ⁻¹	27,1	-2,76	2,71

Ferreira *et al.* (2011) estudaram a influência de adição de sais na partição de diversos solutos não iônicos, inclusive cafeína, em SDFA empregando PEG 8000 e Na₂SO₄. No trabalho desses autores também foram encontrados valores de coeficientes de partição maiores que 1 ($k \approx 1,9$). No presente trabalho, o valor médio de coeficiente de partição de cafeína encontrado para o sistema com PEG 4000 (k médio = 2,42) é ligeiramente superior ao coeficiente de partição de cafeína do sistema com PEG 6000 (k médio = 2,15) e ambos são superiores ao valor encontrado por Ferreira *et al.* (2011).

O menor valor de coeficiente de partição encontrado por Ferreira *et al.* (2011) pode estar relacionado com a maior massa molar do PEG 8000 quando comparada aos PEG 4000 e 6000 (empregados neste trabalho). O volume ocupado pelo PEG 8000 na fase topo é maior, e então menos espaço livre é remanescente para a cafeína nessa fase, reduzindo o valor do coeficiente de partição.

Analisando a TABELA 26 observa-se também que o coeficiente de partição aumentou com o aumento do comprimento da linha de amarração (CLA). Este comportamento foi observado para diferentes biomoléculas em diferentes SDFA envolvendo PEG e sal inorgânico (FARAVASH *et al.* 2007; RAMYADEVI *et al.* 2012; NAGARAJA e IYYASWAMI 2013), embora se saiba que existe um CLA no qual a alta concentração dos componentes nas fases pode influenciar negativamente (diminuir) o coeficiente de partição, ou seja a afinidade da molécula com a fase.

As linhas de amarração obtidas do experimento de partição foram testadas quanto à sua consistência termodinâmica. Na TABELA 27 estão apresentados os dados referentes à correlação de Othmer-Tobias (1942). Já na TABELA 28 estão apresentados os dados referentes à correlação de Hand (1930). Os gráficos de correlação estão apresentados no APÊNDICE III. Analisando os coeficientes de determinação (R^2) pode-se afirmar que há consistência termodinâmica nos dados obtidos já que estes valores são próximos de 1, indicando que há correlação.

TABELA 27 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

MM PEG	F	G	R ²
4000	-1,60	1,33	0,97
6000	2,39	0,24	0,97

TABELA 28 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

MM PEG	F'	G'	R ²
4000	-1,78	1,45	0,98
6000	2,34	0,18	0,97

4.3.1.2 Efeito da temperatura na partição da cafeína

Neste caso, utilizou-se SDFA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O pois a transferência de massa é facilitada devido à menor MM do polímero. As mesmas temperaturas utilizadas nas seções anteriores (20, 40 e 60 °C) foram investigadas quanto ao seu efeito na partição da cafeína. Foi analisado também se a adição da cafeína ao SDFA apresenta algum efeito nos dados de ELL do sistema.

Nas FIGURAS 37, 38 e 39 estão apresentados os diagramas de fases para o sistema aquoso PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + Cafeína nas temperaturas de 20, 40 e 60 °C, respectivamente. Na TABELA 29 estão apresentadas composições das fases de topo e de fundo, bem como o comprimento das linhas de amarração (CLA) e a inclinação das linhas de amarração (ILA) e o coeficiente de partição de cafeína para os mesmos sistema e temperaturas. No APÊNDICE IV, as linhas de amarração para tais sistemas são apresentadas concomitantemente.

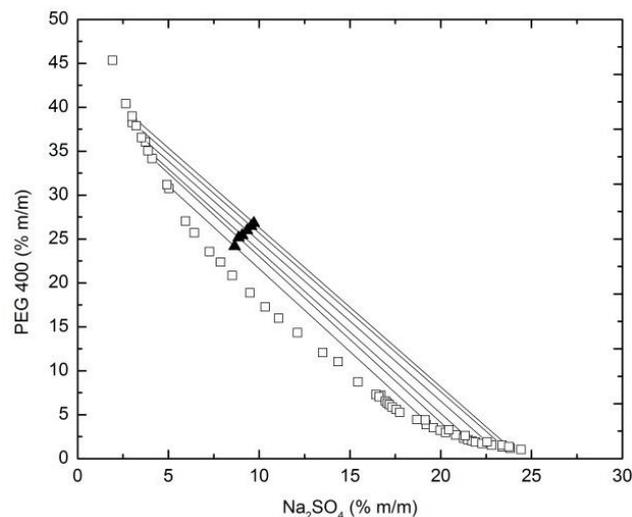


FIGURA 37 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 20 °C

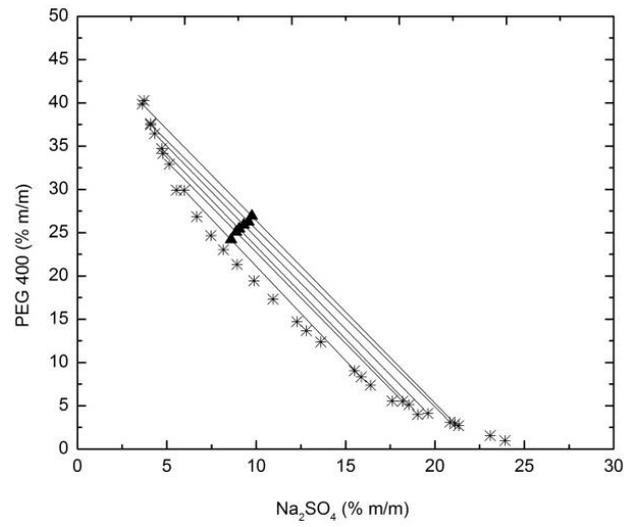


FIGURA 38 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 40 °C

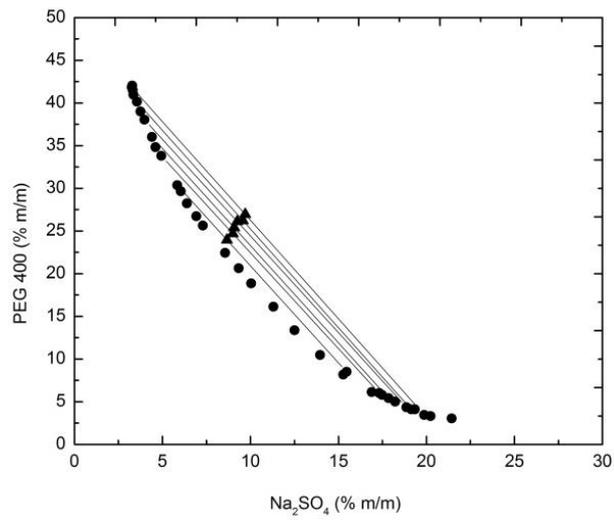


FIGURA 39 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 60 °C

TABELA 29 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DE CAFEÍNA PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 20, 40 E 60 °C

T (°C)	LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL			COMPOSIÇÃO TOPO			COMPOSIÇÃO FUNDO			CLA	ILA	k
		Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 400 (%m/m)	Cafeína (%m/m)	Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 400 (%m/m)	Cafeína (%m/m)	Na ₂ SO ₄ (%m/m)	PEG 400 (%m/m)	Cafeína (%m/m)			
20	1	8,6	24,2	3,36 x 10 ⁻¹	4,9	31,2	4,1 x 10 ⁻¹	19,1	4,4	1,2 x 10 ⁻¹	30,3	-1,88	3,94
	2	8,9	25,2	3,30 x 10 ⁻¹	4,1	34,2	4,2 x 10 ⁻¹	20,5	3,3	1,0 x 10 ⁻¹	35,0	-1,89	5,10
	3	9,1	25,4	3,28 x 10 ⁻¹	3,9	35,0	-	21,3	2,6	-	36,8	-1,86	NA*
	4	9,3	26,0	3,23 x 10 ⁻¹	3,5	36,6	4,4 x 10 ⁻¹	22,6	1,9	5,3 x 10 ⁻²	41,3	-1,82	10,45
	5	9,6	26,5	3,20 x 10 ⁻¹	3,2	37,9	-	23,4	1,5	-	41,6	-1,81	NA*
	6	9,7	26,8	3,17 x 10 ⁻¹	3,0	39,0	4,5 x 10 ⁻¹	23,8	1,4	4,1 x 10 ⁻²	42,8	-1,81	13,97
40	1	8,6	24,2	3,36 x 10 ⁻¹	6,0	29,9	4,2x10 ⁻¹	15,9	8,3	9,0x10 ⁻²	23,7	-2,18	5,57
	2	8,9	25,1	3,30 x 10 ⁻¹	5,1	32,9	-	18,2	5,5	-	30,4	-2,10	NA*
	3	9,0	25,4	3,28 x 10 ⁻¹	4,7	34,7	4,4x10 ⁻¹	18,5	5,1	8,9x10 ⁻²	32,7	-2,14	6,21
	4	9,3	25,9	3,24 x 10 ⁻¹	4,3	36,4	4,4x10 ⁻¹	19,6	4,1	7,6x10 ⁻²	35,7	-2,11	7,57
	5	9,6	26,2	3,22 x 10 ⁻¹	4,1	37,5	-	20,8	3,1	-	38,2	-2,05	NA*
	6	9,8	26,9	3,17 x 10 ⁻¹	3,6	39,9	4,6x10 ⁻¹	21,1	2,9	5,3x10 ⁻²	40,9	-2,11	11,56
60	1	8,7	24,0	3,37 x 10 ⁻¹	5,8	30,4	4,4x10 ⁻¹	15,5	8,5	9,9x10 ⁻²	23,9	-2,27	5,26
	2	9,0	24,7	3,32 x 10 ⁻¹	4,9	33,8	4,5x10 ⁻¹	17,3	6,0	8,8x10 ⁻²	30,4	-2,24	6,42
	3	9,1	25,4	3,28 x 10 ⁻¹	4,4	36,0	4,7x10 ⁻¹	17,9	5,4	6,9x10 ⁻²	33,4	-2,28	8,66
	4	9,2	26,1	3,23 x 10 ⁻¹	4,0	38,0	-	18,9	4,4	-	36,8	-2,26	NA*
	5	9,6	26,2	3,22 x 10 ⁻¹	3,6	40,1	-	19,1	4,1	-	39,3	-2,31	NA*
	6	9,7	26,9	3,17 x 10 ⁻¹	3,3	41,8	4,9x10 ⁻¹	19,9	3,5	4,4x10 ⁻²	41,8	-2,31	15,43

*NA = Não Avaliado. (Mesmo para os casos nos quais era possível montar 6 sistemas, optou-se por avaliar a partição da cafeína em apenas 4 sistemas, escolhidos aleatoriamente, com o objetivo de manter o padrão na quantidade de sistemas analisados)

Em relação ao coeficiente de partição da cafeína, como pode ser observado na TABELA 29, houve um aumento deste com o aumento do comprimento da linha de amarração em todas as temperatura estudadas. Isto já era esperado, conforme visto e discutido anteriormente na subseção 4.3.1.1. Entretanto, vale salientar que para o sistema em questão (PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O) os coeficientes de partição, em todas as temperaturas investigadas, apresentaram valores superiores aos obtidos para os sistemas PEG 4000/6000 + Na₂SO₄ + H₂O em T = 25 °C, apresentados subseção 4.3.1.1.

Da TABELA 29, pode-se notar que o maior valor de coeficiente de partição (15,44) foi obtido na temperatura de 60 °C. Visto que para os sistemas PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O em todas as temperaturas investigadas as composições globais das linhas de amarração apresentaram valores similares e que, assim, a diferença entre eles, atribuída pela temperatura, é a inclinação média da linha de amarração, pode-se deduzir que o coeficiente de partição de cafeína no SDFA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O aumenta com o aumento do valor absoluto médio da inclinação da linha de amarração.

Na TABELA 30 estão apresentados os valores médios da inclinação da linha de amarração em cada temperatura investigada. Para o sistema com adição de cafeína, pode-se observar que a adição deste componente não exerce grande influência sobre os dados de equilíbrio do sistema (para comparação, vide FIGURAS 23, 24 e 25 e TABELA 15), principalmente para a temperatura mais baixa (20 °C). Nas temperaturas maiores (40 e 60 °C), as diferenças entre as composições das fases topo (rica em PEG) e da fase fundo (rica em sal) estão relacionadas com a inclinação das linhas de amarração, que para os sistemas com adição de cafeína apresentou valores médios mais baixos. Esta diminuição na inclinação média da linha de amarração pode estar relacionada com o comportamento hidrofílico das moléculas de cafeína, que podem carregar moléculas de água para a fase rica em PEG (na qual se particionam) diminuindo a concentração de PEG nessa fase.

TABELA 30 – INCLINAÇÃO MÉDIA DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO DO SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Temperatura (°C)	Inclinação das LA
20	-1,84 ± 0,03
40	-2,11 ± 0,03
60	-2,28 ± 0,03

Os dados de ELL dos sistemas PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA utilizados no estudo de partição foram testados quanto à sua consistência termodinâmica. Nas TABELAS 31 e 32 estão apresentados os dados relacionados do ajuste das correlações de Othmer-Tobias (1942) e de Hand (1930), respectivamente. Os gráficos de correlação para esse sistema com adição de cafeína estão apresentados no APÊNDICE III. Visto que os coeficientes de determinação (R^2) apresentaram valores próximos de 1 pode-se afirmar que os dados obtidos apresentam consistência termodinâmica.

TABELA 31 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na₂SO₄ (3) + H₂O + CAFEÍNA (2)

Temperatura (°C)	F	G	R ²
20	-0,87	1,14	0,99
40	-1,13	1,20	0,96
60	-1,96	1,66	0,97

TABELA 32 - PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (1) + Na₂SO₄ (3) + H₂O + CAFEÍNA (2)

Temperatura (°C)	F'	G'	R ²
20	-1,00	1,23	0,98
40	-1,39	1,39	0,96
60	-2,37	1,97	0,97

Os valores de coeficiente de partição apresentados na TABELA 29 estão graficamente representados na FIGURA 40.

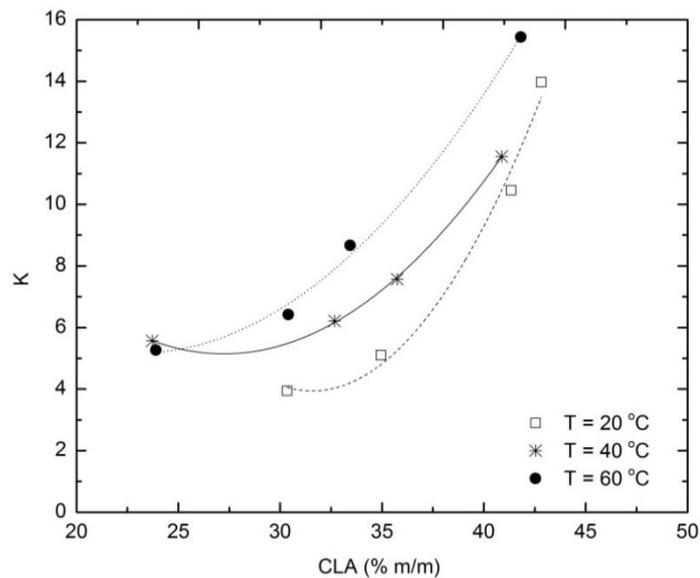


FIGURA 40 – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO COMPRIMENTO DA LINHA DE AMARRAÇÃO NO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DA CAFEÍNA EM PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O

Analisando os resultados apresentados nesta seção juntamente com os apresentados na subseção 4.3.1.1 (avaliação da influência da MM do PEG na partição da cafeína) pode-se afirmar que o efeito *salting-out* foi mais pronunciado na partição da cafeína no sistema aquoso PEG + Na₂SO₄ já que o coeficiente de partição apresentou valores que confirmam (além da análise espectrofotométrica) que a concentração de cafeína é maior na fase topo do que na fase fundo. Além disso, é possível afirmar que o efeito *salting-out* apresentou maior influência do que o comportamento hidrofílico da cafeína (que levaria a molécula a particionar na fase fundo, mais hidrofílica). Isto pode ter acontecido devido ao fato de a alta concentração de sal na fase fundo aumentar a hidrofobicidade desta fase, levando à diminuição da solubilidade dada a grande quantidade de íons de sal competindo pelas moléculas de água (ZASLAVSKY *et al.*, 1982).

4.3.1.3 Efeito do sal inorgânico na partição da cafeína

Baseado no conhecimento de diferentes efeitos causados por ânions caotrópicos ou cosmotrópicos na solubilidade de uma molécula em soluções aquosas, a influência do sal inorgânico na partição de cafeína foi investigada. Na TABELA 33 estão apresentados os dados de ELL provenientes do experimento de partição, bem como o coeficiente de partição da cafeína nos sistemas estudados. Os diagramas de fases obtidos neste trabalho para o sistema PEG 1500 + Sal de Sódio + H₂O + Cafeína a 25 °C estão apresentados nas FIGURAS 41 e 42. No APÊNDICE IV, os mesmos diagramas são apresentados simultaneamente.

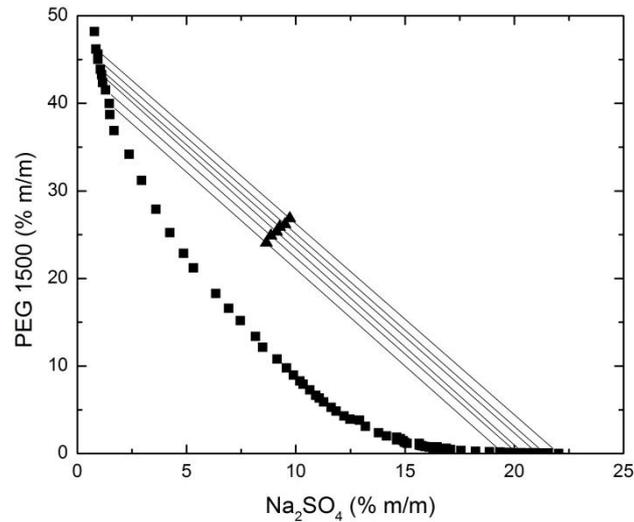


FIGURA 41 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + Na_2SO_4 + H_2O + CAFEÍNA EM $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

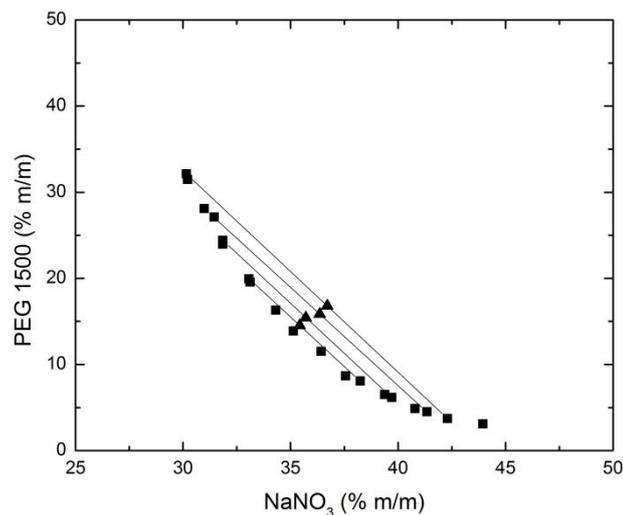


FIGURA 42 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA PEG 1500 + NaNO_3 + H_2O + CAFEÍNA EM $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

Como pode ser observado na TABELA 33, o coeficiente de partição de cafeína (K) aumentou de acordo com o aumento no CLA tanto no sistema com sal cosmotrópico (Na_2SO_4) quanto no sistema com sal caotrópico (NaNO_3). No entanto, no primeiro caso foram atingidos maiores coeficientes de partição. No caso do NaNO_3 , pode-se sugerir que a cafeína não particionou nem na fase topo, nem na fase fundo e sim na interface do sistema, já que os coeficientes de partição foram próximos de 1. Isto pode ser decorrente do fato de que o sal caotrópico está associado ao efeito *salting-in* e juntamente com efeito de exclusão do polímero (PEG 1500), a cafeína não mostrou grande afinidade por nenhuma das fases.

TABELA 33 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DA CAFEÍNA PARA O SISTEMA PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

SDFA: PEG 1500 + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA												
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL			COMPOSIÇÃO TOPO			COMPOSIÇÃO FUNDO			CLA	ILA	k
	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)			
1	24,1	8,6	3,36 x 10 ⁻¹	40,0	1,5	5,0 x 10 ⁻¹	0,1	19,5	8,9 x 10 ⁻²	43,7	-2,22	7,76
2	24,9	8,9	3,31 x 10 ⁻¹	41,5	1,3	5,1 x 10 ⁻¹	0,7x10 ⁻¹	20,1	7,2 x 10 ⁻²	45,5	-2,20	9,81
3	25,3	9,1	3,28 x 10 ⁻¹	43,3	1,1	-	0,5x10 ⁻¹	20,4	-	47,3	-2,24	NA*
4	25,9	9,3	3,24 x 10 ⁻¹	43,9	1,0	5,1 x 10 ⁻¹	0,3x10 ⁻¹	21,0	6,3 x 10 ⁻²	48,6	-2,19	11,64
5	26,2	9,5	3,22 x 10 ⁻¹	45,0	0,9	-	0,2x10 ⁻¹	21,4	-	49,4	-2,20	NA*
6	26,9	9,7	3,17 x 10 ⁻¹	46,2	0,8	5,1 x 10 ⁻¹	0,1x10 ⁻¹	22,0	4,6 x 10 ⁻²	50,8	-2,18	16,29

SDFA: PEG 1500 + NaNO ₃ + H ₂ O + CAFEÍNA												
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL			COMPOSIÇÃO TOPO			COMPOSIÇÃO FUNDO			CLA	ILA	k
	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)	PEG (%m/m)	SAL (%m/m)	Cafeína (%m/m)			
1	14,5	35,4	2,50 x 10 ⁻¹	19,9	33,1	2,47 x 10 ⁻¹	8,1	38,2	2,54 x 10 ⁻¹	12,9	-2,29	1,11
2	15,4	35,7	2,44 x 10 ⁻¹	24,4	31,8	2,44 x 10 ⁻¹	6,1	39,7	2,45 x 10 ⁻¹	19,9	-2,32	1,23
3	15,9	36,3	2,39 x 10 ⁻¹	28,1	31,0	2,48 x 10 ⁻¹	4,5	41,3	2,30 x 10 ⁻¹	47,6	-2,28	1,43
4	16,8	36,7	2,32 x 10 ⁻¹	32,1	30,1	2,35 x 10 ⁻¹	3,7	42,3	2,30 x 10 ⁻¹	30,2	-2,34	1,46

*NA = Não Avaliado. (Mesmo para os casos nos quais era possível montar 6 sistemas, optou-se por avaliar a partição da cafeína em apenas 4 sistemas, escolhidos aleatoriamente, com o objetivo de manter o padrão na quantidade de sistemas analisados)

Nas TABELAS 34 e 35 estão apresentados os parâmetros ajustáveis das correlações de Othmer-Tobias e Hand, respectivamente, a fim de verificar a consistência termodinâmica dos dados obtidos. Os gráficos de correlação para análise de consistência termodinâmica desses sistemas estão apresentados no APÊNDICE III. Com base nessas informações pode-se verificar que há consistência termodinâmica dos dados obtidos, já que o coeficiente de determinação (R^2) apresenta valores superiores a 0,95.

TABELA 34 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O + CAFEÍNA (2)

SAL	F	G	R ²
Na ₂ SO ₄	-1,91	1,62	0,97
NaNO ₃	-0,37	3,66	0,99

TABELA 35 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O + CAFEÍNA (2)

SAL	F'	G'	R ²
Na ₂ SO ₄	-1,86	1,58	0,97
NaNO ₃	-1,54	6,99	0,99

4.3.2 LI-SDFA

Nesta subseção são apresentados os dados de ELL dos LI-SDFA com presença de cafeína e a partição de cafeína nesses sistemas foi investigada. Na TABELA 36 estão apresentados, as composições globais utilizadas, as composições das fases de topo e de fundo, bem como o comprimento das linhas de amarração (CLA) e a inclinação das linhas de amarração (ILA), obtidos após o período de equilíbrio. Os diagramas de fases obtidos neste trabalho para o sistema BMI.BF₄ + Sal de Sódio + H₂O + Cafeína a 25 °C estão apresentados nas FIGURAS 43 e 44. No APÊNDICE IV, tais diagramas são apresentados simultaneamente, com o objetivo de se obter uma melhor visualização da diferença apresentada pelos mesmos.

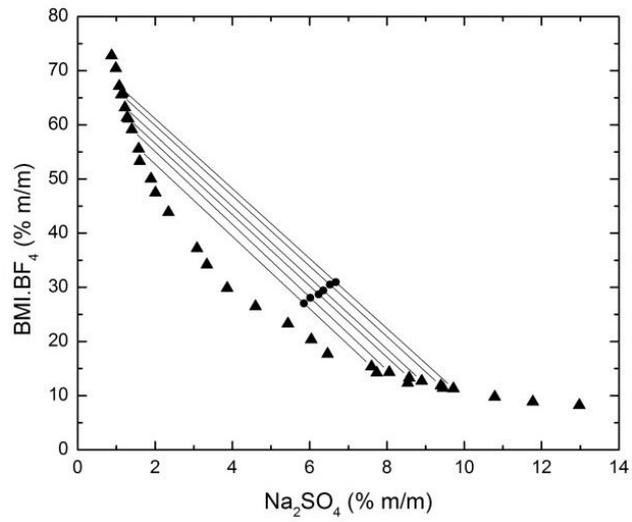


FIGURA 43 – CURVA BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO PARA O SISTEMA BMI.BF₄ + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

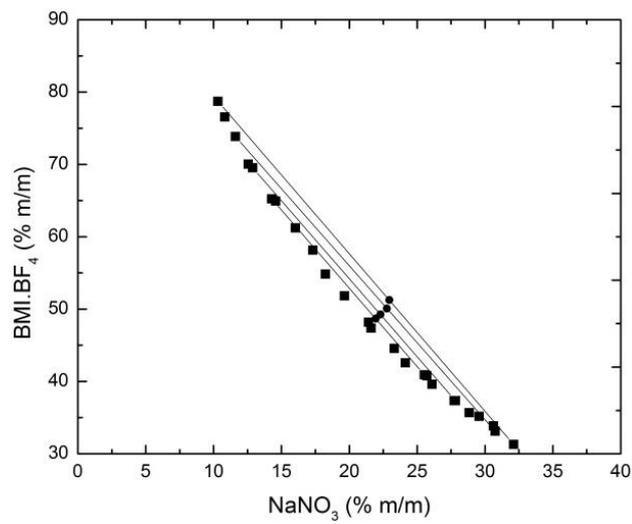


FIGURA 44 – BINODAL E LINHAS DE AMARRAÇÃO OBTIDAS NESTE TRABALHO PARA O SISTEMA BMI.BF₄ + NaNO₃ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

TABELA 36 - COMPOSIÇÕES GLOBAIS E DAS FASES DE TOPO E DE FUNDO, COMPRIMENTO E INCLINAÇÃO DAS LINHAS DE AMARRAÇÃO E COEFICIENTE DE PARTIÇÃO DA CAFEÍNA PARA O SISTEMA BMI.BF₄ + SAL DE SÓDIO + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C

LI-SDFA: BMI.BF ₄ + Na ₂ SO ₄ + H ₂ O + CAFEÍNA												
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL			COMPOSIÇÃO TOPO			COMPOSIÇÃO FUNDO			CLA	ILA	k
	LI (%/m/m)	SAL (%/m/m)	Cafeína (%/m/m)	LI (%/m/m)	SAL (%/m/m)	Cafeína (%/m/m)	LI (%/m/m)	SAL (%/m/m)	Cafeína (%/m/m)			
1	27,0	5,8	3,36 x 10 ⁻¹	15,4	7,6	-	55,6	1,6	-	40,7	-6,68	NA*
2	28,1	6,0	3,29 x 10 ⁻¹	14,3	8,1	2,56 x 10 ⁻¹	59,1	1,4	4,96 x 10 ⁻¹	45,3	-6,73	3,81
3	28,7	6,2	3,25 x 10 ⁻¹	13,3	8,6	-	61,1	1,3	-	48,4	-6,58	NA*
4	29,4	6,3	3,21 x 10 ⁻¹	12,7	8,9	2,38 x 10 ⁻¹	63,2	1,2	4,88 x 10 ⁻¹	51,1	-6,58	4,51
5	30,5	6,5	3,15 x 10 ⁻¹	11,8	9,4	2,19 x 10 ⁻¹	65,6	1,1	4,96 x 10 ⁻¹	54,4	-6,50	5,37
6	31,0	6,7	3,12 x 10 ⁻¹	11,3	9,7	2,46 x 10 ⁻¹	67,2	1,1	4,33 x 10 ⁻¹	56,5	-6,46	4,38

LI-SDFA: BMI.BF ₄ + NaNO ₃ + H ₂ O + CAFEÍNA												
LA	COMPOSIÇÃO GLOBAL			COMPOSIÇÃO TOPO			COMPOSIÇÃO FUNDO			CLA	ILA	k
	LI (%/m/m)	SAL (%/m/m)	Cafeína (%/m/m)	LI (%/m/m)	SAL (%/m/m)	Cafeína (%/m/m)	LI (%/m/m)	SAL (%/m/m)	Cafeína (%/m/m)			
1	48,7	21,9	1,47 x 10 ⁻¹	40,9	25,5	6,46 x 10 ⁻²	65,2	14,3	1,85 x 10 ⁻¹	26,8	-2,16	1,75
2	49,2	22,3	1,42 x 10 ⁻¹	37,3	27,8	5,38 x 10 ⁻²	69,5	12,9	1,94 x 10 ⁻¹	35,5	-2,16	1,82
3	50,1	22,8	1,36 x 10 ⁻¹	33,1	30,7	3,99 x 10 ⁻²	73,9	11,6	2,04 x 10 ⁻¹	42,4	-2,13	2,05
4	51,2	22,9	1,29 x 10 ⁻¹	31,3	32,1	3,30 x 10 ⁻²	78,7	10,3	1,99 x 10 ⁻¹	55,0	-2,18	1,81

*NA = Não Avaliado. (Mesmo para os casos nos quais era possível montar 6 sistemas, optou-se por avaliar a partição da cafeína em apenas 4 sistemas, escolhidos aleatoriamente, com o objetivo de manter o padrão na quantidade de sistemas analisados)

Analisando a TABELA 36 é possível observar que a adição de cafeína ao IL-SDFA não apresenta grande influência nos dados de ELL do sistema, visto que há apenas uma leve diminuição no valor absoluto da média da ILA para o sistema BMI.BF₄ + Na₂SO₄ + H₂O + Cafeína. Isso, mais uma vez, pode ser explicado pela alta afinidade com água apresentada pela cafeína, que também tem mais afinidade pela fase rica em LI, reduzindo a concentração de LI nesta fase (pela presença de água e da própria cafeína).

A afinidade da cafeína pela fase rica em LI pode ser confirmada pelo coeficiente de partição (k) que apresentou valores maiores que 1 nos sistemas investigados. Entretanto é possível perceber que para o sistema envolvendo NaNO₃ (ânion caotrópico), o efeito do sal como agente particionante foi consideravelmente inferior, de forma que o coeficiente de partição da cafeína neste sistema foi reduzido praticamente pela metade.

Ventura *et al.* (2009) observaram que os íons do líquido iônico que induzem ao efeito *salting-in* tendem a favorecer a partição da molécula para a fase rica em líquido iônico, enquanto que os íons indutores do efeito *salting-out* tendem a inibir esse comportamento. Além disso, para o líquido iônico utilizado neste trabalho, acredita-se que o cátion [BMI]⁺ seja cosmotrópico (*induz ao salting-out*) e o ânion BF₄⁻, caotrópico (*induz ao salting-in*) (ZHAO, 2006), sabendo que o efeito do ânion é mais pronunciado do que o efeito do cátion, o líquido iônico utilizado induz ao *salting-in*, o que corrobora o coeficiente de partição obtido no presente trabalho. Assim, pode-se afirmar que o coeficiente de partição tende a seguir a série de Hofmeister.

Os dados de experimentais de ELL dos LI-SDFA com adição de cafeína estudados no presente trabalho foram investigados quanto à sua consistência termodinâmica e as informações referentes ao ajuste das correlações de Othmer-Tobias e Hand estão apresentadas nas TABELAS 37 e 38, respectivamente. Os gráficos das correlações estão disponíveis no APÊNDICE III. Como pode ser verificado nas TABELAS 37 e 38, os dados obtidos são termodinamicamente consistentes, visto que os coeficientes de determinação R² apresentaram valores superiores a 0,95.

TABELA 37 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O + CAFEÍNA (2)

SAL	F	G	R ²
Na ₂ SO ₄	-4,68	1,78	0,99
NaNO ₃	-2,72	1,98	0,96

TABELA 38 – PARÂMETROS AJUSTÁVEIS DA CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA BMI.BF₄ (1) + SAL DE SÓDIO (3) + H₂O + CAFEÍNA (2)

SAL	F'	G'	R ²
Na ₂ SO ₄	-5,25	2,15	0,99
NaNO ₃	-2,59	5,35	0,95

4.3.3 SDFA versus LI-SDFA para partição da cafeína

Nesta subseção é apresentada uma análise comparativa entre os resultados de coeficiente de partição de cafeína obtidos para os sistemas de duas fases aquosas convencionais (SDFA) e os sistemas compostos por líquido iônico (LI-SDFA).

Vários fatores devem ser considerados para avaliação desse parâmetro, entre eles: MM do polímero, temperatura dos sistemas, composições globais dos sistemas (e conseqüentemente CLA) e natureza do sal inorgânico. Nesse sentido, a partir dos resultados obtidos neste trabalho, pode ser facilmente observado que:

- (a) Para todos os sistemas envolvendo o sal de ânion cosmotrópico, Na₂SO₄, independente da temperatura, os SDFA compostos por PEG de alta MM (4000 e 6000 g.mol⁻¹) apresentaram menor valor de coeficiente de partição quando comparado aos valores obtidos nos SDFA compostos por PEG de baixa MM (400 e 1500 g.mol⁻¹) ou BMI.BF₄, conforme ilustrado na FIGURA 45.

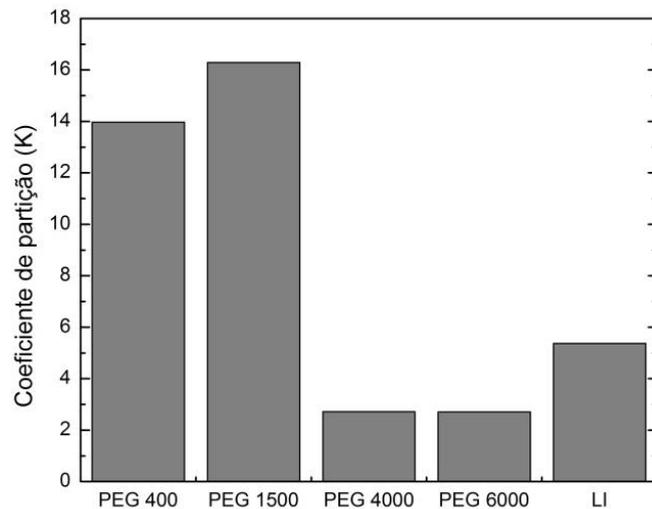


FIGURA 45 – MELHORES VALORES DE COEFICIENTE DE PARTIÇÃO PARA OS SISTEMAS PEG*/BMI.BF₄** + Na₂SO₄ + H₂O (onde *T = 20 °C e **T = 25 °C)

(b) Para todos os sistemas envolvendo o sal de ânion caotrópico, NaNO₃, independente da fase orgânica (PEG ou LI), os valores de coeficiente de partição obtidos foram sempre inferiores aos valores obtidos aplicando Na₂SO₄. No entanto, para o sistema composto por LI o coeficiente de partição obtido foi ligeiramente superior comparado ao valor obtido para o SDFA convencional, conforme pode ser verificado na FIGURA 46.

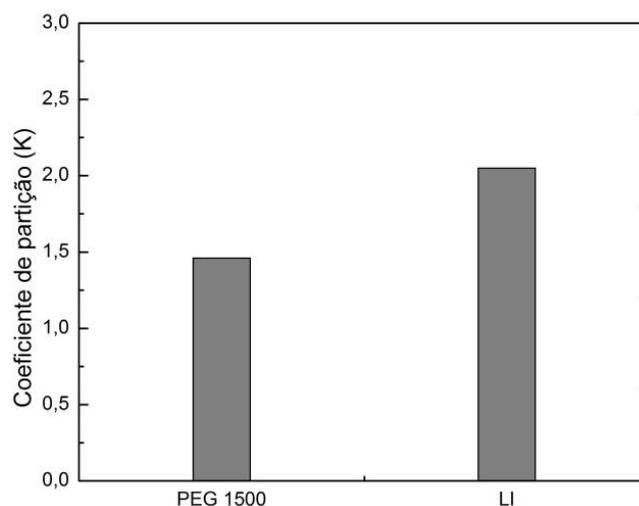


FIGURA 46 – MELHORES VALORES DE COEFICIENTE DE PARTIÇÃO PARA OS SISTEMAS PEG/BMI.BF₄ + NaNO₃ + H₂O EM T = 25 °C

(c) Analisando os resultados, é possível afirmar que para os sistemas convencionais o melhor valor de coeficiente de partição foi obtido no sistema

PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O em T = 25 °C. Comparando esse valor com o melhor valor obtido aplicando LI-SDFA (BMI.BF₄ + Na₂SO₄ + H₂O em T = 25 °C), pode-se observar que o primeiro é cerca de 3 vezes maior. Isto, juntamente com as vantagens dos sistemas convencionais aplicando PEG (disponibilidade, estabilidade, baixo custo), sugere que dentre os sistemas investigados neste trabalho, os convencionais são mais indicados para extração de cafeína em sistema de duas fases aquosas.

5. CONCLUSÕES

Neste trabalho SDFAs constituídos por polietileno glicol (PEG) ou BMI.BF₄ e sais de sódio foram avaliados para a partição de cafeína. A influência de vários fatores (como MM do PEG, natureza do sal inorgânico e temperatura) foi investigada tanto em relação aos dados de ELL dos sistemas quanto em relação ao coeficiente de partição da cafeína.

Para a investigação do efeito da massa molar do polietilenoglicol nas curvas binodais foram aplicados os sistemas PEG 400/4000/6000 + Na₂SO₄ + H₂O em diferentes temperaturas (T = 20, 40 e 60 °C), já nos experimentos de partição foram utilizados os sistemas PEG 400/4000/6000 + Na₂SO₄ + H₂O somente a 25 °C. Foi observado que, para todas as temperaturas, quanto maior a MM do polímero maior a região de duas fases do sistema, porém menor é o coeficiente de partição devido ao espaço ocupado pelo polímero nas fases em que a cafeína se particiona.

A temperatura de equilíbrio do sistema também apresentou influência no coeficiente de partição, apesar de não ter apresentado grande influência nas das curvas binodais, ou seja na região bifásica. Com o aumento da temperatura foi observado o aumento do valor absoluto médio da inclinação da linha de amarração repercutindo no aumento do coeficiente de partição, que por sua vez, de todos os sistemas investigados, atingiu valor máximo (K = 15,43) para o sistema PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O em T = 60 °C.

Em relação à natureza do sal inorgânico, foi observado que, quando o sal de ânion caotrópico é utilizado, é necessário que haja uma concentração muito maior de sal para formar a região bifásica e que o envelope bifásico do sistema é muito menor quando comparado ao sal de ânion cosmotrópico, o que pode ser confirmado pelos menores valores de comprimento de linha de amarração (CLA) apresentados pelo sistema com utilização de sal de ânion caotrópico. A maior dificuldade em formar a região bifásica apresentada pelo sistema PEG 1500 + NaNO₃ + H₂O em T = 25 °C quando comparado ao sistema PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O na mesma temperatura, somado ao fato de sais caotrópicos induzirem ao efeito *salting-in*, foi refletida em menores coeficientes de partição de cafeína no sistema PEG 1500 +

$\text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ de forma que o maior coeficiente observado foi $K = 16,29$, quando aplicado o sal cosmostrópico.

Em relação à substituição do PEG por BMI.BF_4 notou-se que a cafeína tem afinidade pela fase rica em líquido iônico e, assim como ocorreu para os sistemas utilizando PEG, foi observado que maiores coeficientes de partição de cafeína foram conseguidos quando se utilizou o sal de ânion cosmotrópico (Na_2SO_4) como formador de fase. O sistema $\text{BMI.BF}_4 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ apresentou valor absoluto médio de ILA maior do que comparado aos sistemas aplicando PEG, o que foi traduzido na apresentação de uma fase rica em líquido iônico com baixa presença de água e sal inorgânico.

Foi observado que a cafeína tem maior afinidade pelas fases pobres em sais inorgânicos, ou seja, o efeito *salting-out* do sal inorgânico para todos os casos investigados foi mais pronunciado. De forma geral, os SDFA compostos por PEG de alta MM (4000 e 6000 g.mol^{-1}) apresentaram baixo coeficiente de partição quando comparado aos sistemas compostos por PEG de baixa MM (400 e 1500 g.mol^{-1}) ou aos LI-SDFA. De todos os sistemas estudados, o convencional constituído por PEG 1500 + $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ em $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$ apresentou o melhor valor de coeficiente de partição de cafeína ($K = 16,29$) que, por sua vez é cerca de três vezes maior do que o melhor valor obtido aplicando LI-SDFA ($\text{BMI.BF}_4 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ em $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$).

Os resultados sugerem que os SDFA convencionais estudados neste trabalho possivelmente sejam mais indicados para a extração de cafeína, considerando-se que apresentaram maiores valores de coeficiente de partição, associados a vantagens tais como disponibilidade, estabilidade e baixo custo. Tal análise, porém, não pode ser generalizada para todos os SDFA convencionais, bem como para os LI-SDFA. Ainda assim, a pesquisa aqui realizada com relação à utilização de Líquido Iônico em SDFA traz dados relevantes para a literatura no que diz respeito ao equilíbrio líquido-líquido do LI-SDFA, envolvendo BMI.BF_4 .

Espera-se, portanto, que os resultados obtidos e apresentados nesta pesquisa possam contribuir para o desenvolvimento de trabalhos futuros no que concerne à utilização de sistemas de extração de compostos de origem biológica nas indústrias farmacêutica, química e de alimentos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTSSON, P. A. **Partition of Cell Particles and Macromolecules**. Nova Iorque: Wiley, 3 ed. 1986.

ALBERTSSON, P.; TJERNELD, F. **Phase Diagrams. Methods in Enzymology**, v. 228, p. 3-13, 1994.

ÁLVARES, M. S.; MOSCOSO, F., RODRÍGUES, A.; SANROMÁN, M. A.; DEIVE, F. J. Triton X surfactants to form aqueous biphasic systems: Experiment and correlation. **Journal of Chemistry Thermodynamics**, v. 54, p. 385-392, 2012.

ANTOV, M. G.; JUGOVIC, B. Z.; GVOZDENOVIC, M., KNEZEVIC JUGOVIC, Z. D. Partitioning of cellulolytic activity in the polyethylene glycol/dextran two-phase systems. **APTEEF**, v. 43, p. 151-158, 2012.

AZIZI, S. N.; SHAKERI, P.; CHAICH, M. J.; BEKHRADNIA, A.; TAGHAVI, M.; GHAEY M. The use of imidazolium ionic liquid/copper complex as Novel and green catalyst for chemiluminescent detection of folic acid by Mn-doped ZnS nanocrystals. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 122, p. 482–488, 2014.

BABU, R. H.; RASTOGI, N. K. RAGHAVARAO, K. S. M. S. Liquid–liquid extraction of bromelain and polyphenol oxidase using aqueous two-phase system. **Chemical Engineering and Processing**, v. 47, p. 83–89, 2008.

BERMEJO D. V., MENDIOLA, J. A., IBÁÑEZ, E., REGLERO, G., FORNARI, T. Pressurized liquid extraction of caffeine and catechins from green tea leaves using ethyl lactate, water and ethyl lactate + water mixtures. **Food and bioproducts processing**, v. 96, p. 106–112, 2015.

BERTHOD, A.; CARDA-BROCH, S. Determination of liquid–liquid partition coefficients by separation methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1037, p. 3–14, 2004.

BI, W., ZHOU, J. ROW, K. H. Decaffeination of coffee bean waste by solid-liquid extraction. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n.1, p. 221-224, 2010.

BOLAND, J.M; HESSELINK P. G. M; PAPAMICHAEL, N.; HUSTEDT, H. Extractive purification of enzymes from animal using aqueous two-phase systems: Pilot scale studies. **Journal of Biotechnology**, v.19, p. 19-34, 1991.

BOLAR, S.; BELUR, P. D.; IYYASWAMI, R. Partitioning Studies of Glutaminase in Polyethylene Glycol and Salt-Based Aqueous Two-Phase Systems. **Chemical Engineering Technology**, v. 36, n. 8, p 1378-1386, 2013.

BRIDGES, N. J.; GUTOWSKI, K. E.; ROGERS, R.D. Investigation of biphasic systems formed from solutions of chaotropic salts with kosmotropic salts (salt-salt ABS). **Green Chemistry**, v. 9, p. 177–1893, 2007.

CACACE, M. G.; LANDAU, E. M.; RAMSDEN, J. J. The Hofmeister series: salt and solvent effects on interfacial phenomena. **Quarterly Reviews of Biophysics**, v. 30, n. 3, p. 241–277, 1997.

CAMILO, N. S. **Reação de a-amidoalquilação de íons N-acilimínio com nucleófilos de carbono em sistema micelar SDS/água, na ausência de solvente em líquido iônico. Aplicação na síntese de um análogo da febrifugina.** 234 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

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

CHEN, Y., LIU, X., LU, Y., ZHANG, X. Investigation of Gallium Partitioning Behavior in Aqueous Two-Phase Systems Containing Polyethylene Glycol and Ammonium Sulfate. **Journal of Chemical and Engineering Data**. v. 54, p. 2002-2004, 2009.

CHIANG, H. L.; WANG, S. S. Extractive partition of l-aspartase and fumarase from Escherichia Coli using aqueous polyethylene glycol-ammonium sulfate systems. **Biotechnology Techniques**. v. 2, n. 4, p. 283-288, 1988.

CHIARO, S. S. X. **Atividade hidrogenante de Pg, Pt e Rh em catalisadores contendo líquido iônico imobilizado.** 275 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

DESAI, R. K.; MATHIEU, S.; WIJFFELSA, R. H.; EPPINKA, M. H. M. Extraction and stability of selected proteins in ionic liquid based aqueous two phase systems. **Green Chemistry**, v. 16, p. 2670–2679, 2014.

DIAMOND, A. D., HSU, J. T. Aqueous two phase systems for biomolecule separation. **Advances in Biochemistry Engineering**, v. 47, p. 89-135, 1992.

DING, X.; WANG, Y.; ZENG, Q.; CHEN, J.; HUANG, Y.; XU, K. Design of functional guanidinium ionic liquid aqueous two-phase systems for the efficient purification of protein. **Analytica Chimica Acta**, v. 815, p. 22–32, 2014.

DONG, Y.; ZHANG, F.; WANG Z.; DU, L.; HAO, A.; JIANG, B.; TIAN, M.; LI, Q.; JIA, Q.; WANG, S.; XIU, Z. Extraction and purification of recombinant human serum albumin from *Pichia pastoris* broths using aqueous two-phase system combined with hydrophobic interaction chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1245, p. 143-149, 2012.

DUPONT, J. CONSORTI, C. S.; SUAREZ, P. A. Z.; de SOUZA, R. F. Preparation of 1-butyl-3-methyl imidazolium-based room temperature ionic liquids. **Organic Syntheses**. v. 79, 236. 2002.

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

FARRELL, M.; BEUDOIN, S. Surface forces and protein adsorption on dextran- and polyethylene glycol-modified polydimethylsiloxane. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, p. 468-475, 2010.

FERREIRA, L. A.; TEIXEIRA, J. A. MIKHEEVA, L. M.; CHAIT, A.; ZASLAVSKY, B. Y. Effect of salt additives on partition of nonionic solutes in aqueous PEG–sodium sulfate two-phase system. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 5031– 5039, 2011.

FERREIRA, L.; MADEIRA, O. P.; MIKHEEVA, L.; UVERSKY, V. N.; ZASLAVSKY, B. Effect of salt additives on protein partition in polyethylene glycol-sodium sulfate aqueous two-phase systems. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1834, p. 2859-2866, 2013.

FREEMANTLE, M. **An Introduction to Ionic Liquids**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2010.

FREIRE, M. G.; NEVES, C. M. S. S.; MARRUCHO, I. M.; LOPES, J. N. C.; REBELO, L. P. N.; COUTINHO, J. A. P. High-performance extraction of alkaloids using aqueous two-phase systems with ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 12, p. 1715–1718, 2010.

FREIRE, M. G.; LOUROS, C. L. S.; REBELO, L. P. N.; COUTINHO, J. A. P. Aqueous biphasic systems composed of a water-stable ionic liquid + carbohydrates and their applications. **Green Chemistry**, v. 13, p. 1536–1545, 2011.

FRIEDEL, C.; CRAFTS, J. M.; **Comptes Rendus**, v. 84, p. 1392-1450, 1877.

GADKARI, P. V.; KADIMI, U. S.; BALARAMAN, M. Catechin concentrates of garden tea leaves (*Camellia sinensis* L.): extraction/isolation and evaluation of chemical composition. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 94, p. 2921–2928, 2014.

GAO, J. K. Polyethylene Glycol as an Embedment for Microscopy and Histochemistry, Boca Raton: CRC Press, 1993.

GRABER, T. A.; TABOADA, M. E.; Liquid-Liquid Equilibrium of the Poly(ethylene glycol) + Sodium Nitrate + Water System at 298.15 K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v.45, p. 182-184, 2000.

GRABER, T. A.; TABOADA, M. E.; ASENJO, J. A. ANDREWS, B. A. Influence of Molecular Weight of the Polymer on the Liquid-Liquid Equilibrium of the Poly(ethylene glycol) + NaNO₃ + H₂O System at 298.15 K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v.46, p. 765-768, 2001.

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

HAND, D. B. Dimeric distribution. **Journal of Physical Chemistry**, v. 34 n. 9, p.1961–2000, 1930.

HARRIS, J. M. **Poly(Ethylene Glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications**. Nova Iorque: Springer, 1992.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and Health: A Review of Recent Human Research, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n.2, p. 101-123, 2006;

HOFMEISTER, F. Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Zweite Mittheilung. Naunyn-Schmiedeberg's. **Archives of Pharmacology**, v. 24, p. 247-260, 1888.

IGARASHI, L. **Extração de Biomoléculas em Sistemas de Duas Fases Aquosas Convencionais e com Polímeros Termossensíveis**. 130 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

JIANG, B.; FENG, Z.; LIU, C.; XU, Y.; LI, D.; JI, G. Extraction and purification of wheat-esterase using aqueous two-phase systems of ionic liquid and salt. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p.2878-2885, 2015.

JOHANSSON, G. Partitioning Procedures and Techniques: Small Molecules and Macromolecules. **Methods in Enzymology**, v. 228, p. 28-42, 1994.

KARAKATSANIS, A.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Comparison of PEG/fractionated dextran and PEG/industrial grade dextran aqueous two-phase systems for the enzymic hydrolysis of starch. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 1213-1217, 2007.

KAUL, A. The Phase Diagram. "In": HATTI-KAUL, R. Aqueous Two-Phase System Methods and Protocols. **Methods in Biotechnology**, v. 11; 2000. p. 11-21.

KIM, J.; KIM, S. Preparation and electrochemical property of ionic liquid-attached graphene nanosheets for an application of supercapacitor electrode. **Electrochimica Acta**, v. 119, p. 11–15, 2014.

KOJIMA, T.; TAKAYAMA, S. Patchy SURfaces Stabilize Dextran-Polyethylene Glycol Aqueous Two-Phase System Liquid Patterns. **Langmuir**, v. 29, p. 5508-5514, 2013.

KORENMAN, Y. I.; MOKSHINA, N. Y.; ZYKOC, A. V. Distribution Coefficients of Vitamin B2 in Hydrophilic Organic Solvent-Aqueous Salt Solution Systems. **Russian Journal of Physical Chemistry**, v. 84, n. 3, p. 415-418, 2010.

KULA, M-R, KRONER, K H.; HUSTED, T. H. Purification of enzymes by liquid-liquid extraction. **Advances in Biochemical Engineering**, v. 24, p. 73-118, 1982.

KULA, M-R, KRONER, K H.; HUSTED, T. H. Large scale protein recovery using aqueous phase systems. In: FISHER, D. E.; SUTHERLAND, I. A (eds) Separations using aqueous phase systems. London; **Phenum press**, p. 295-298, 1989.

LARRIBA, M. NAVARRO, P. GARCÍA, J. RODRÍGUES, F. Liquid-liquid extraction of toluene from n-heptane by {[emim][TCM] + [emim][DCA]} binary ionic liquid mixtures. **Fluid Phase Equilibria**, v. 364, p. 48-54, 2014.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5ª ed. São Paulo: Edgar Blucher, 1999.

LI, C.; HAN, J.; WANG, Y.; YAN, Y. PAN, J.; XU, X.; ZHANG, Z. Phase Behavior for the Aqueous Two-Phase Systems Containing the Ionic Liquid 1-Butyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate and Kosmotropic Salts. **Journal of Chemical and Engineering Data**. v. 55, p. 1087-1092, 2010.

LI, Z. G.; TENG, H.; XIU, Z.L., Aqueous two-phase extraction of 2,3-butanediol from fermentation broths using an ethanol/ammonium sulfate system. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 731-737, 2010.

LIANG, H.; LIANG, Y.; DONG, J.; LU, J.; XU, H.; WANG, H. Decaffeination of fresh green tea leaf (*Camellia sinensis*) by hot water treatment. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1451-1456, 2007.

LIN, X.; WANG, T.; ZENG, Q.; DING, X.; CHEN, J. Extraction and separation of proteins by ionic liquid aqueous two-phase system, *Analyst*, v. 138, P. 6445-6453, 2013.

LOU, S.; DI, D. Synthesis of Resins with Ionic Liquids for Purification of Flavonoids from *Hippophae rhamnoides* L. Leaves. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 60, p. 6546-6558, 2012.

LOUROS C. L. S.; CLÁUDIO, A. F. M.; NEVES, C. M. S. S.; FREIRE, M. G.; MARRUCHO, I. M.; PAULY, J.; COUTINHO, J. A. P. Extraction of Biomolecules Using Phosphonium-Based Ionic Liquids + K₃PO₄ Aqueous Biphasic Systems. **International Journal of Molecular Science**. v. 11, p. 1777-1791, 2010.

MAI, N. L.; AHN, K. KOO, Y. M. Methods for recovery of ionic liquids – A review. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 5, p. 872-881, 2014.

MARTINS, J. P.; CARVALHO, C. P.; SILVA, L. H. M.; COIMBRA, J. S. R.; SILVA, M. C. H.; RODRIGUEZ, G. D.; MINIM, L. A. Liquid–Liquid Equilibria of an Aqueous Two-Phase System Containing Poly(ethylene) Glycol 1500 and Sulfate Salts at Different Temperatures. **Journal of Chemical and Engineering Data**. v. 53, p. 238–241, 2008.

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

McCABE, W, L; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Unit Operations of Chemical Engineering**. Singapore: McGraw-Hill International Book Co., 6 ed., 2001.

MERCHUK, J. C.; ANDREWS, B. A.; ANSEJO, J. A. Aqueous two-phase systems for protein separation Studies on phase inversion. **Journal of Chromatography B**, v. 711, p. 285–293, 1998.

MIYAGISHIMA, A.; FUJIKI, S.; OKIMURAA, A.; ARAHATA, S.; INAGAKI, S.; IWAO, Y.; ITAI, S. Novel decaffeination of green tea using a special picking method and shortening of the rolling process. **Food Chemistry**, v. 125, p. 878–883, 2011.

MOHAPATRA, B. R, HARRIS, N.; NORDIN, R.; MAZUMDER, A. Purification and characterization of a novel caffeine oxidase from *Alcaligenes* species. **Journal of Biotechnology**, v. 125, n. 3 p. 319-27, 2006.

NASCIMENTO, I. S. B.; COIMBRA, J. S. R.; MARTINS, J. P.; SILVA, L. H. M.; BONOMO, R. C. F.; PIROZZI, M. R. CINQUINI, A. **Journal of Cereal Science**, v. 52, p. 270-274, 2010.

NAGARAJA, V. H.; IYYASWAMI, R. Phase demixing studies in aqueous two-phase system with polyethylene glycol (PEG) and sodium citrate. **Chemical Engineering Communications**, v. 200, n. 10, p. 1293-1308, 2013.

NAJAFABADI, A. T.; GYENGE, E. High-yield graphene production by electrochemical exfoliation of graphite: Novel ionic liquid (IL)–acetonitrile electrolyte with low IL content. **CARBON**, v. 71 p. 58–69, 2014.

NANDINI, K. E.; RASTOGI, N. K. Liquid–Liquid Extraction of Lipase Using Aqueous Two-Phase System. **Food and Bioprocess Technology**. v. 4, p. 295–303, 2011.

NEVES, C. M. S. S.; VENTURA, S. P. M.; FREIRE, M. G.; MARRUCHO, I. M.; COUTINHO, J. A. P. Evaluation of Cation Influence on the Formation and Extraction Capability of Ionic-Liquid-Based Aqueous Biphasic Systems. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, p. 5194–5199, 2009.

NGUYEN, H. X.; O'REAR, E. A. Biphasic release of protein from polyethylene glycol and polyethylene glycol/modified dextran microspheres. **Journal of biomaterials research**, v. 101, n. 9, p. 2699-2705, 2013.

OLIVEIRA, R. M.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A.; SILVA, L. H. M.; FONTES, M. P. F. Liquid-Liquid Equilibria of Biphasic Systems Composed of Sodium Citrate+Polyethylene 1500 or 4000 at different temperatures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 53, p. 895–899, 2008.

OTHMER, D. F.; TOBIAS, P. E. Tie Line Correlation. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 34, n. 6, p. 693–696, 1942.

PAPAMICHAEL, N., BORNER, B., HUSTEDT, A. Continuous aqueous-phase extraction of proteins - automated processing and recycling of process chemicals. **Journal of Chemistry Technology and Biotechnology**, v. 54, p. 47-55, 1992.

PATEL, R. KUMARI, M. KHAN, A. B. Recent Advances in the Applications of Ionic Liquids in Protein Stability and Activity: A Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 8, p. 3701-3270, 2014.

PEREIRA, J. F. B.; VENTURA, S. P. M.; SILVA, F. A.; SHAHRIARI, S.; FREIRE, M. G. COUTINHO, J. A. P. Aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and polymers: A platform for the purification of biomolecules. **Separation and Purification Technology**, v. 113, p. 83–89, 2013.

RAMOS, S. P.; SANTOS, V. B. C.; RUIZ, R. J.; PRETI, M. C. P.; VENTURA, M. C.; NOGUEIRA, M. S.; CAMPANA, F. B.; MÜLLER, S. S.; POLITO, M. D.; SIQUEIRA, C. P. C. M. Effect of exercise training and chronic caffeine intake on bone tissue of young rats. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 26, n. 2, p. 209-217, 2012.

RAMYADEVI, D.; SUBATHIRA, A.; SARAVANAN, S. Potential Recovery of Protein from Shrimp Waste in Aqueous two Phase System. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 2, n. 7, p. 47–52, 2012.

REN, H.; YING H.; SUN, Y.; WO D.; MA, Y.; WEI, X. Synthesis of poly(lactic acid)–poly(ethylene glycol) copolymers using multi-SO₃H-functionalized ionic liquid as the efficient and reusable catalyst. **Polymer Bulletin**, v. 71, n. 5, p. 1173-1195 2014.

RESCHKE, T.; BRANDENBUSCH, C.; SADOWSKI, G. Modeling aqueous two-phase systems: I. Polyethylene glycol and inorganic salts as ATPS former. **Fluid Phase Equilibria**, v. 368, p. 91-103, 2014.

ROGERS, R. D.; GUTOWSKI, K. E.; BROKER, G. A.; WILLAUER, H. D.; HUDDLESTON, J. G.; SWATLOSKI, R. P.; HOLBREY, J. D. Controlling the aqueous miscibility of ionic liquids: aqueous biphasic systems of water-miscible ionic liquids and water structuring salts for recycle, metathesis, and separations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, p. 6632–6633, 2003.

SALABAT, A.; FAR, M. R.; MOGHADAM, S. T. Partitioning of Amino Acids in Surfactant Based Aqueous Two-Phase Systems Containing the Nonionic Surfactant (Triton X-100) and Salts. **Journal of Solution Chemistry**, v. 40, p. 61-66, 2011.

SALGADO, J.; REGUEIRA, T.; LUGO, L.; VIJANDE, J.; FERNÁNDEZ, J.; GARCÍA, J. Density and viscosity of three (2,2,2-trifluoroethanol + 1-butyl-3-methylimidazolium) ionic liquid binary systems. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 70, p. 101–110, 2014.

SANAN, R.; KANG, T. S.; Mahajan, R. K. Complexation, dimerisation and solubilisation of methylene blue in the presence of amphiphilic ionic liquids: a detailed spectroscopic and electrochemical study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, p. 5667-5677, 2014.

SARAVANAN. S.; RAO, J. R.; MURUGESAN, T.; NAIR, B. U.; RAMASAMI, T. Partition of tannery wastewater proteins in aqueous two-phase poly (ethyleneglycol)-magnesium sulfate systems: Effects of molecular weights and pH. **Chemical Engineering Science**. v. 62, p. 969 – 978, 2007.

SHAHRIARI, S.; TAGHIKHANIB, V.; VOSSOUGH, M.; KORDIA, A. A. S.; ALEMZADEH, I.; PAZUKI, G. R. Measurement of partition coefficients of β -amylase and amyloglucosidase enzymes in aqueous two-phase systems containing poly(ethylene glycol) and Na₂SO₄/KH₂PO₄ at different temperatures. **Fluid Phase Equilibria**. v. 292, p. 80–86, 2010.

SHARMA, P. **Ionic liquids: syntheses, characterization and applications in analytical chemistry**. 107 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade do Texas, Arlington, 2008.

SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry**. 2^a ed. Barcelona: Reverté, 1996.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W., LANGFIRD, C. H. **Química inorgânica**. 4^a ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 848 p.

SING, P.; BANIK, R. M. Partitioning studies of L-glutaminase production by *Bacillus cereus* MTCC 1305 in different PEG-salt/dextran. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 730-734, 2012.

SONESSO, M. F. C. **Obtenção e caracterização de nanocristais de celulose a partir de algodão cru e polpa kraft**. 111 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

SONG, X.; WANG, B.; HUANG, Y.; LI, L.; LI, T.; LI, C.; ZHANG, S. A novel nanoporous film electrode based on electrochemical polymerization of ionic liquid and its application in sensitive determination of magnolol. **Talanta**, v. 119, p. 606–612, 2014.

SOUZA, R. L.; CAMPOS V. C.; VENTURA S. P. M.; SOARES, C. M. F.; COUTINHO, J. A. P.; LIMA, Á. S. Effect of ionic liquids as adjuvants on PEG-based ABS formation and the extraction of two probe dyes. **Fluid Phase Equilibria**. v. 375, p. 30–36, 2014.

SOTO, A.; ARCE, A.; KHOSHKBARCHI, M. K. Partitioning of antibiotics in a two-liquid phase system formed by water and a room temperature ionic liquid. **Separation and Purification Technology**, v. 44, n. 3, p. 242–246, 2005.

SRINIVAS, N. D.; BARHATE, R. S.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Aqueous two-phase extraction in combination with ultrafiltration for downstream processing of Ipomoea peroxidase. **Journal of Food Engineering**. v. 54, p. 1–6, 2002.

SUAREZ, P. A. Z.; EINLOFT, S.; DULLIUS, J. E. L.; SOUZA, R. F. DUPONT, J. Synthesis and physical-chemical properties of ionic liquids based on 1-n-butyl-3-methylimidazolium cation. **The Journal of Chemical Physics**, v. 95, p. 1626-1639, 1998.

TABOADA, M. E.; ROCHA, O. A. GRABER, T. A. Liquid-Liquid and Solid-Liquid Equilibria of the Poly(ethylene glycol) + Sodium Sulfate + Water System at 298.15 K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 46, p. 308–311, 2001.

TAN, Z.; LI, F.; XU, X. Isolation and purification of aloe anthraquinones based on an ionic liquid/salt aqueous two-phase system. **Separation and Purification Technology**, v. 98, p. 150–157, 2012b.

TAN, Z.; LI, F.; XU, X.; XING, J. Simultaneous extraction and purification of aloe polysaccharides and proteins using ionic liquid based aqueous two-phase system coupled with dialysis membrane. **Desalination**, v. 286, p. 389–393, 2012a.

TAN, H. P.; LI, H. P.; GUAN, C.; SONG, H.; XU, Y.; RAN, L.P.; TANG, X. K. **Advanced Materials Research**, v. 781, p. 869-874, 2013.

TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53-60, 2011.

TRINDADE, J. R.; VISAK, Z. P.; BLESIC, M.; MARRUCHO, I. M.; COUTINHO, J. A. P.; LOPES, J. N. C.; REBELO, L. P. N. Salting-Out Effects in Aqueous Ionic Liquid Solutions: Cloud-Point Temperature Shifts. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 18, p. 4737–4741, 2007.

TROMBETA, F. **Eletrólitos à base de líquido iônico tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio para a aplicação em capacitores Eletrolíticos de alumínio**. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

VENTURA, S. P. M.; BARROS, R. L. F.; BARBOSA, J. M. P.; SOARES, C. M. F.; LIMA, A. S.; COUTINHO, J. A. P. Production and purification of an extracellular lipolytic enzyme using ionic liquid-based aqueous two-phase systems. **Green Chemistry**, v.14, p. 734-730, 2012.

VENTURA, S. P. M.; NEVES, C. M. S. S.; FREIRE, M. G.; MARRUCHO, I. M.; OLIVEIRA, J.; COUTINHO, J. A. P. Evaluation of Anion Influence on the Formation and Extraction Capacity of Ionic-Liquid-Based Aqueous Biphasic Systems. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, p. 9304–9310, 2009.

VENTURA, S. P. M.; SOUSA, S. G.; FREIRE, M. G.; SERAFIM, L. S.; LIMA, A. S.; COUTINHO, J. A. P. Design of ionic liquids for lipase purification. **Journal of Chromatography B**, v. 879, p. 2679– 2687, 2011.

XIAO, L.; SU, D.; YUE, C. WU, W. Protic ionic liquids: A highly efficient catalyst for synthesis of cyclic carbonate from carbon dioxide and epoxides. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 6, p. 1–6, 2014.

YADAV U. N.; SHANKARLING, G. S. Room temperature ionic liquid choline chloride–oxalic acid: A versatile catalyst for acid-catalyzed transformation in organic reactions. **Journal of Molecular Liquids**, v. 191, p.137–141, 2014.

YAN, J.; MA, H.; PEI, J.; WANG, Z.; WU, J. Facile and effective separation of polysaccharides and proteins from *Cordyceps sinensis* mycelia by ionic liquid aqueous two-phase system. **Separation and Purification Technology**, v. 135, n.15, p. 278-284, 2014.

YANG, Z. Hofmeister effects: an explanation for the impact of ionic liquids on biocatalysis. **Journal of Biotechnology**, v. 144, n. 1, p. 12–22, 2009.

YANG, L.; HUO, D.; HOU, C.; HE, K.; LV, F.; FA, H.; LUO, X. Purification of plant-esterase in PEG1000/NaH₂PO₄ aqueous two-phase system by a two-step extraction. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 1664–167, 2010.

YAVARIA M.; PAZUKIB, G. R.; VOSSOUGHIA, M.; MIRKHANIA, S. A.; SEIFKORDIA, A. A. Partitioning of alkaline protease from *Bacillus licheniformis* (ATCC 21424) using PEG–K₂HPO₄ aqueous two-phase system. **Fluid Phase Equilibria**, v. 337, p. 1–5, 2013.

YU, C.; HAN, J.; WANG, Y.; YAN, Y.; HU, S.; LI, Y.; MA, C. Ionic liquid/Ammonium Sulfate Aqueous Two-phase System Coupled with HPLC Extraction of Sulfadimidine in Real Environmental Water Samples. **Chromatographia**, v. 74, p. 407–413, 2011.

ZASLAVSKY, B. Y.; MIHEEVA, L. M.; MESTECHKINA, N. M.; ROGOZHIN, S. V.; Physicochemical factors governing partition behavior of solutes and particles in aqueous polymeric biphasic systems 2. Effect of ionic composition on the hydration properties of the phases. **Journal of Chromatography**. v. 253, n. 2, p.149–158, 1982.

ZHAO, H. Review: Are ionic liquids kosmotropic or chaotropic? An evaluation of available thermodynamic parameters for quantifying the ion kosmotropicity of ionic liquids? **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, p. 877–891, 2006.

ZHONG, L.; ZHANG, Y. F.; LI, X. J.; CHI, R. A.; WANG, C. W.; ZHANG, M. Separation and purification of total flavonoids of *Astragalus membranaceus* with ethanol/phosphate aqueous two-phase system. **China Journal of Chinese material medica**, v. 37, p. 3395-3399, 2012.

APÊNDICE I

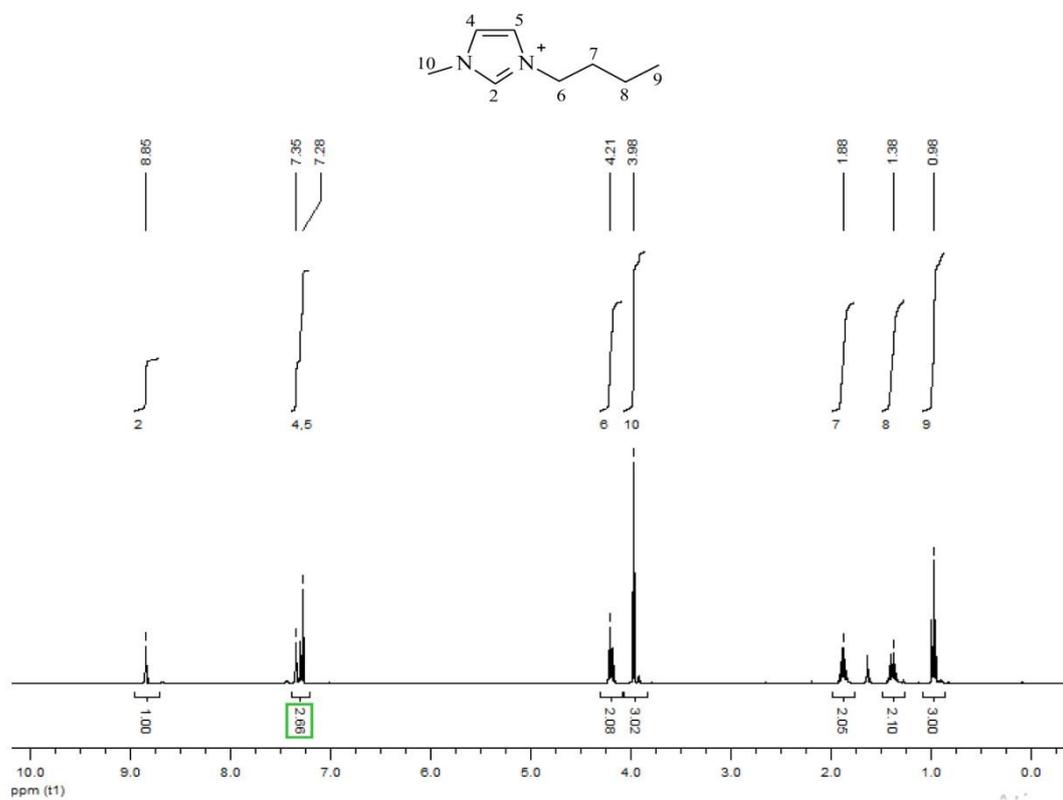


FIGURA AI 1 - ESPECTRO DE RMN DE ¹H DO LÍQUIDO IÔNICO (BMI.BF₄) SINTETIZADO NESTE TRABALHO

APÊNDICE II

TABELA AII 1 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 6000 (1) + Na₂SO₄ (2) + H₂O EM T= 20, 40 e 60 °C

T = 20 °C		T = 40 °C		T = 60 °C	
PEG 6000 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)	PEG 6000 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)	PEG 6000 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)
43,77	1,10	30,22	2,36	31,61	2,02
38,78	1,35	27,57	2,66	27,23	2,38
33,09	1,90	24,90	3,01	25,35	2,52
29,37	2,57	21,59	3,67	23,68	3,04
29,24	2,69	17,32	4,59	20,59	3,55
23,26	3,41	13,96	5,49	17,46	4,25
18,19	3,85	12,12	6,14	15,85	4,74
15,74	4,35	9,51	6,89	14,10	5,27
13,29	4,91	4,70	7,30	12,52	5,66
12,06	5,23	2,21	8,36	10,52	5,92
9,79	5,85	1,63	8,87	7,77	6,79
7,94	6,37	1,30	14,56	4,29	7,88
5,77	7,07			2,83	8,76
2,63	8,15			2,16	9,55
1,77	9,47			0,30	14,94
1,65	9,46				
0,95	10,31				
0,46	14,62				
0,42	14,83				

TABELA AII 2 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O EM T= 20, 40 e 60 °C

T = 20 °C		T = 40 °C		T = 60 °C	
PEG 400 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)	PEG 400 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)	PEG 400 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)
45,36	1,92	40,27	3,73	42,04	3,29
40,40	2,66	37,62	4,09	41,50	3,31
38,28	3,01	34,15	4,78	40,97	3,35
36,07	3,74	29,91	5,55	38,99	3,75
30,77	5,03	26,86	6,69	34,81	4,61
27,05	5,94	24,67	7,47	29,65	6,04
25,70	6,42	23,03	8,17	28,24	6,39
23,57	7,27	21,34	8,93	26,73	6,92
22,36	7,88	19,44	9,88	25,64	7,30
20,84	8,52	17,31	10,95	22,45	8,56
18,86	9,49	14,72	12,28	20,64	9,33
17,27	10,33	13,69	12,81	18,87	10,05
15,99	11,08	12,36	13,62	16,13	11,31
14,33	12,11	9,03	15,50	13,36	12,51
12,08	13,50	7,37	16,39	10,48	13,97
11,02	14,35	5,58	17,61	8,17	15,28
8,74	15,44	3,99	19,03	6,13	16,89
7,23	16,69	2,69	21,32	5,79	17,48
7,29	16,43	1,55	23,09	5,00	18,22
7,05	16,60	0,99	23,92	4,11	19,35
6,54	16,96			3,31	20,23
6,34	17,05			3,03	21,44
6,13	17,17				
5,88	17,32				
5,60	17,55				
5,27	17,75				
4,45	18,68				
3,86	19,20				
3,52	19,60				
3,23	19,97				
2,96	20,26				
2,66	20,83				
2,31	21,27				
2,14	21,49				
2,01	21,72				
1,88	21,90				
1,72	22,28				
1,52	22,79				
1,34	23,38				
1,16	23,82				
1,03	24,42				

TABELA AII 3 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 4000 + Na₂SO₄ + H₂O EM T= 20, 40 e 60 °C

T = 20 °C		T = 40 °C		T = 60 °C	
PEG 4000 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)	PEG 4000 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)	PEG 4000 (% m/m)	Na ₂ SO ₄ (% m/m)
38,33	1,66	37,37	1,87	41,60	1,43
34,15	1,98	33,45	2,09	38,77	1,56
30,28	2,43	29,95	2,49	36,02	1,74
26,26	2,82	28,77	2,97	32,32	2,03
20,26	3,97	26,51	3,51	29,74	2,44
18,32	4,44	23,25	4,15	28,40	2,84
15,59	5,14	20,30	4,83	24,88	3,49
13,82	5,65	17,31	5,64	21,67	4,09
12,65	6,02	13,38	6,60	19,29	4,83
10,60	6,69	8,38	7,74	17,80	5,30
7,25	7,89	4,64	8,53	15,25	5,87
4,34	9,04	1,59	9,58	14,19	6,14
3,44	9,45	1,35	9,83	11,69	6,67
0,30	12,55	1,03	10,51	9,52	7,04
0,23	17,28	0,80	10,66	8,58	7,38
		0,63	11,77	7,85	7,62
		0,56	14,54	6,41	7,89
		0,13	15,13	0,74	9,27
		0,11	15,42	0,53	14,56
		0,10	16,10	0,53	9,90
		0,06	17,90		

TABELA AII 4 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA PEG 1500 + SAL DE SÓDIO + H₂O EM
T = 25 °C

Na₂SO₄				NaNO₃	
PEG 1500	SAL	PEG 1500	SAL	PEG 1500	SAL
(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)
0,05	21,56	3,11	13,19	3,11	43,95
0,06	21,14	3,80	12,91	4,88	40,79
0,08	20,84	3,93	12,48	6,52	39,38
0,10	20,34	4,30	12,21	8,66	37,56
0,12	19,74	4,86	11,85	11,52	36,43
0,16	19,34	5,26	11,62	13,87	35,13
0,21	18,87	5,90	11,28	16,31	34,31
0,27	18,23	6,34	11,08	19,56	33,12
0,33	17,56	6,66	10,92	23,96	31,84
0,34	17,56	7,27	10,64	27,12	31,45
0,45	17,08	7,93	10,34	31,48	30,21
0,56	16,62	8,28	10,19		
0,60	16,89	8,97	9,89		
0,62	16,30	9,79	9,58		
0,66	16,28	10,80	9,14		
0,71	16,10	12,14	8,48		
0,76	16,47	13,38	8,16		
0,76	16,12	15,18	7,46		
0,8	15,91	16,58	6,93		
0,87	15,78	18,28	6,34		
0,93	15,68	21,22	5,31		
1,02	15,66	22,87	4,86		
1,15	15,65	25,24	4,24		
1,15	15,10	27,91	3,60		
1,27	14,98	31,21	2,94		
1,47	14,91	34,19	2,38		
1,57	14,61	36,89	1,68		
1,69	14,79	38,73	1,49		
1,86	14,62	42,38	1,16		
1,99	14,15	45,62	0,94		
2,37	13,79	48,19	0,78		

TABELA AII 5 – DADOS DE BINODAL PARA O SISTEMA BMI.BF₄ + SAL DE SÓDIO + H₂O EM T = 25 °C

BMI.BF₄ (% m/m)	Na₂SO₄ (% m/m)	BMI.BF₄ (% m/m)	NaNO₃ (% m/m)
8,27	12,98	33,87	30,62
8,87	11,77	35,19	29,58
9,79	10,79	35,67	28,84
11,43	9,45	37,34	27,73
12,37	8,54	39,61	26,09
14,23	7,74	40,80	25,72
17,7	6,47	42,57	24,13
20,36	6,04	44,56	23,33
23,28	5,44	47,37	21,61
26,51	4,6	48,18	21,43
29,86	3,86	51,83	19,65
34,2	3,34	54,83	18,24
37,22	3,08	58,14	17,31
43,87	2,35	61,24	16,03
47,47	2,01	64,93	14,57
50,07	1,89	70,03	12,55
53,32	1,6	76,55	10,83
61,36	1,28		
65,87	1,16		
70,48	0,99		
72,79	0,88		

APÊNDICE III

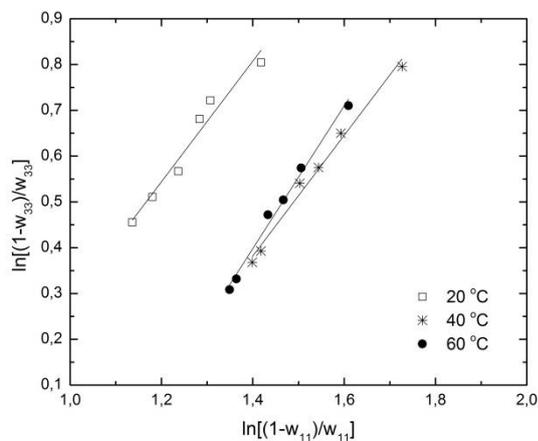


FIGURA AIII 1 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na₂SO₄ (1) + H₂O (2) EM T = 20, 40 e 60 °C

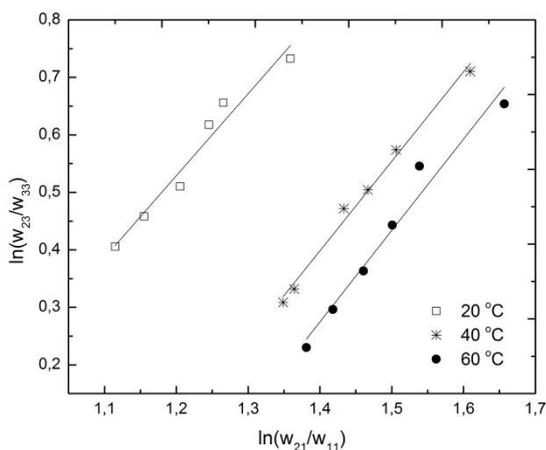


FIGURA AIII 2 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na₂SO₄ (1) + H₂O (2) EM T = 20, 40 e 60 °C

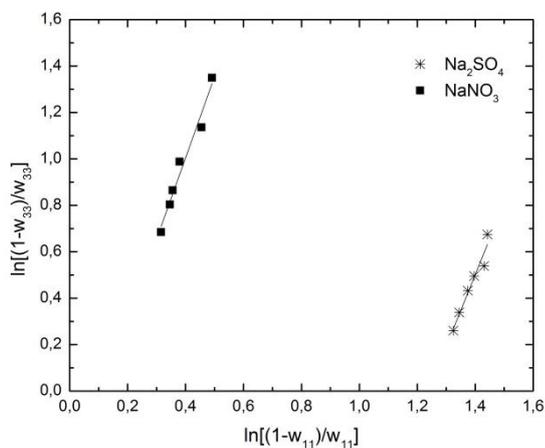


FIGURA AIII 3 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O (2) EM T = 25 °C

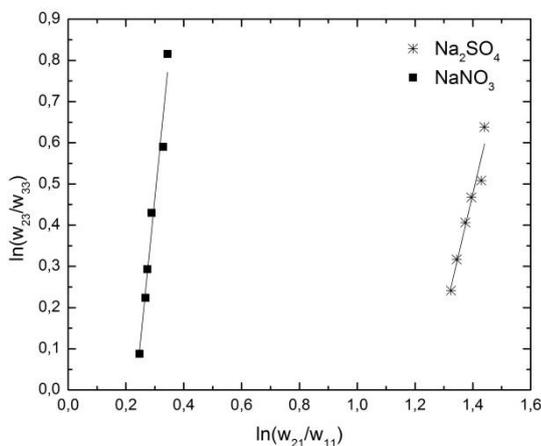


FIGURA AIII 4 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O (2) EM T = 25 °C

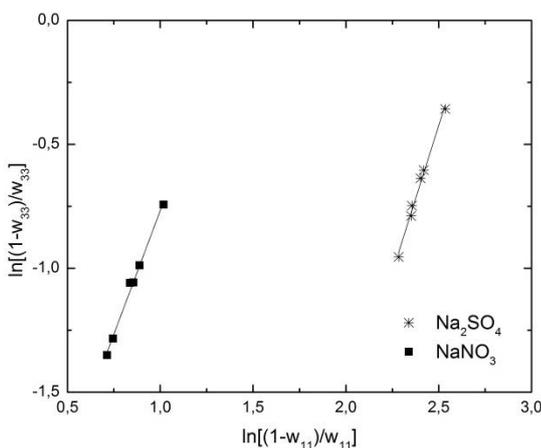


FIGURA AIII 5 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF₄ (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O (2) EM T = 25 °C

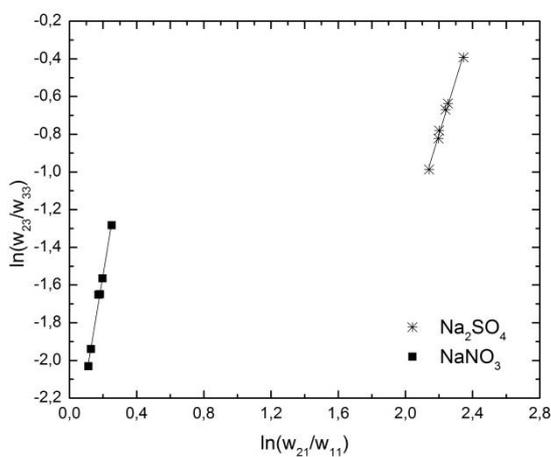


FIGURA AIII 6 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA BMI.BF₄ (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O (2) EM T = 25 °C

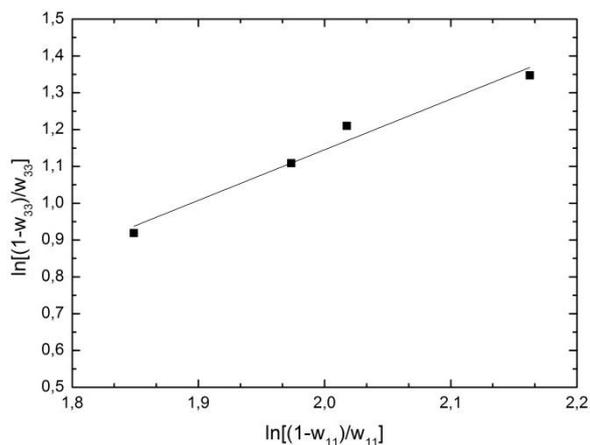


FIGURA AIII 7 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 4000 (3) + Na_2SO_4 (1) + H_2O + CAFEÍNA (2) EM $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

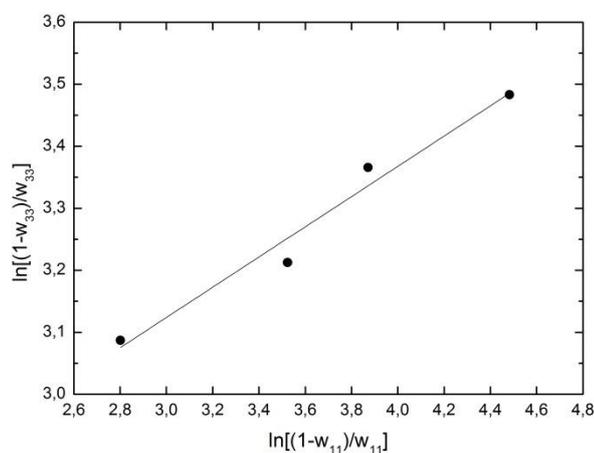


FIGURA AIII 8 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 6000 (3) + Na_2SO_4 (1) + H_2O + CAFEÍNA (2) EM $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

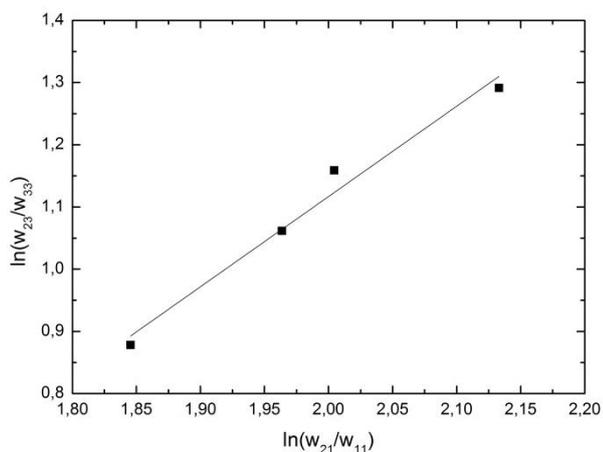


FIGURA AIII 9 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 4000 (3) + Na_2SO_4 (1) + H_2O (2) + CAFEÍNA EM $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

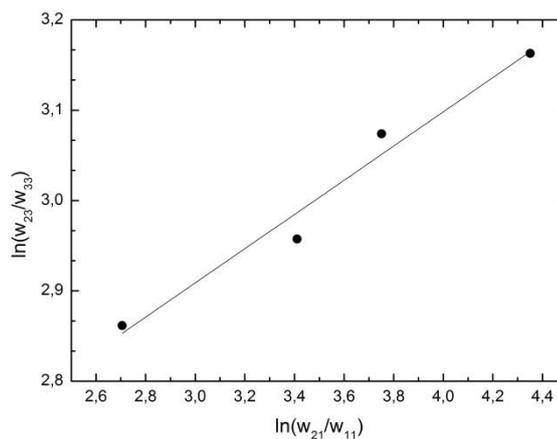


FIGURA AIII 10 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 6000 (3) + Na₂SO₄ (1) + H₂O (2) + CAFEÍNA EM T = 25 °C

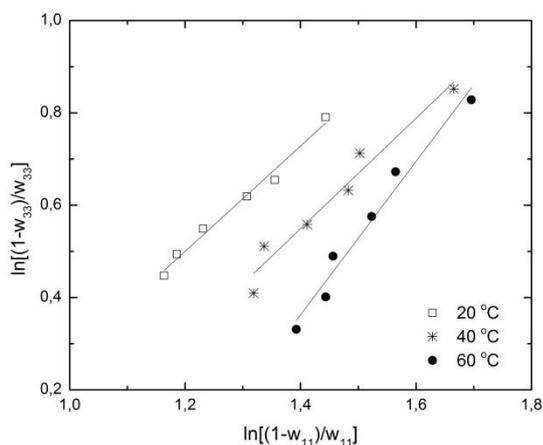


FIGURA AIII 11 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na₂SO₄ (1) + H₂O + CAFEÍNA (2) EM T = 20, 40 e 60 °C

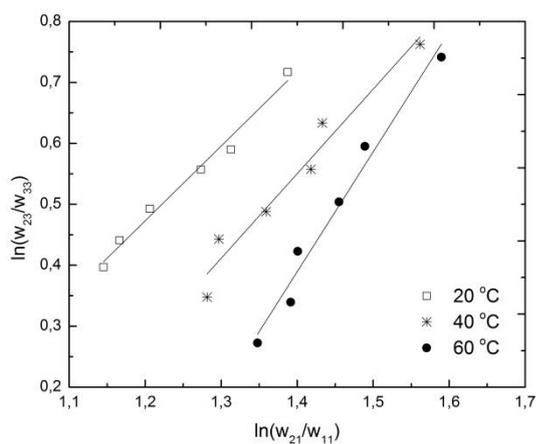


FIGURA AIII 12 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 400 (3) + Na₂SO₄ (1) + H₂O + CAFEÍNA (2) EM T = 20, 40 e 60 °C

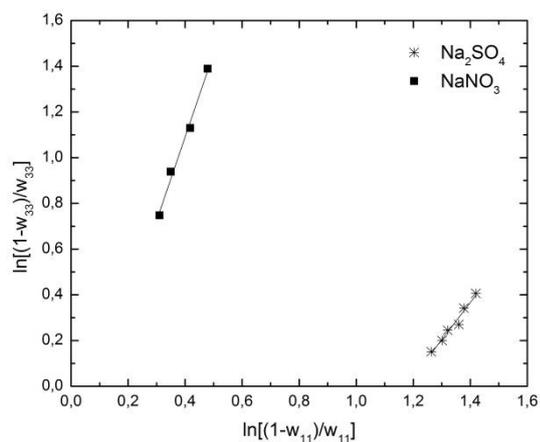


FIGURA AIII 13 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O + CAFEÍNA (2) EM T = 25 °C

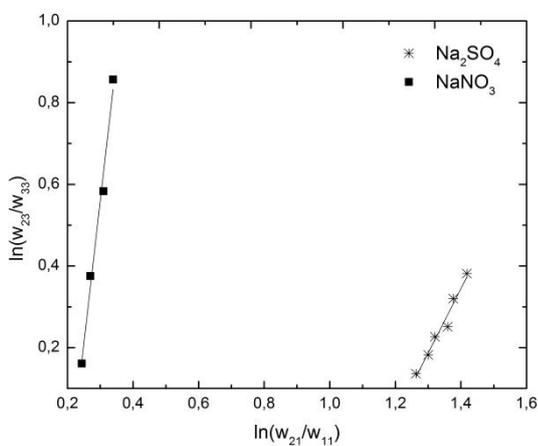


FIGURA AIII 14 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG 1500 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O + CAFEÍNA (2) EM T = 25 °C

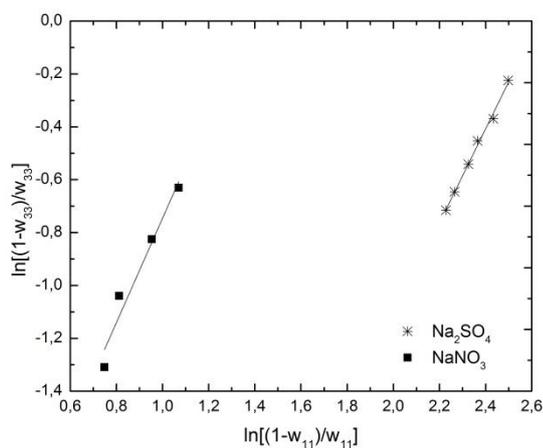


FIGURA AIII 15 – CORRELAÇÃO DE OTHMER-TOBIAS (1942) PARA O SISTEMA BMI.BF4 (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O + CAFEÍNA (2) EM T = 25 °C

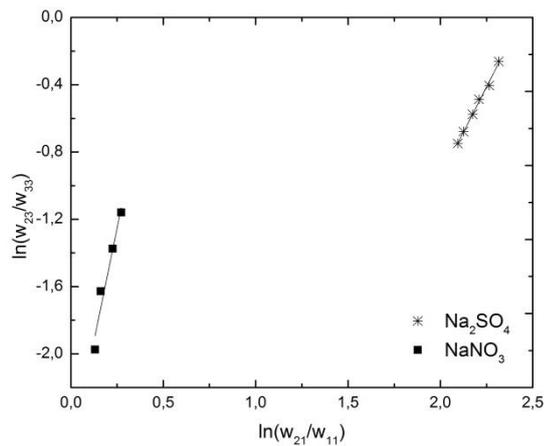


FIGURA AIII 16 – CORRELAÇÃO DE HAND (1930) PARA O SISTEMA PEG BMI.BF₄ (3) + SAL DE SÓDIO (1) + H₂O + CAFEÍNA (2) EM T = 25 °C

APÊNDICE IV

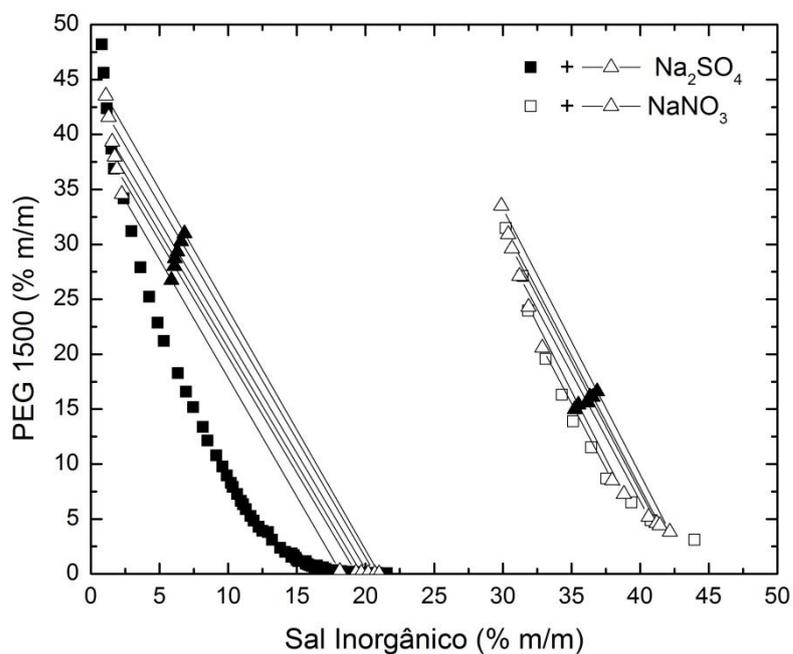


FIGURA AIV 1 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O E PEG 1500 + NaNO₃ + H₂O EM T = 25 °C

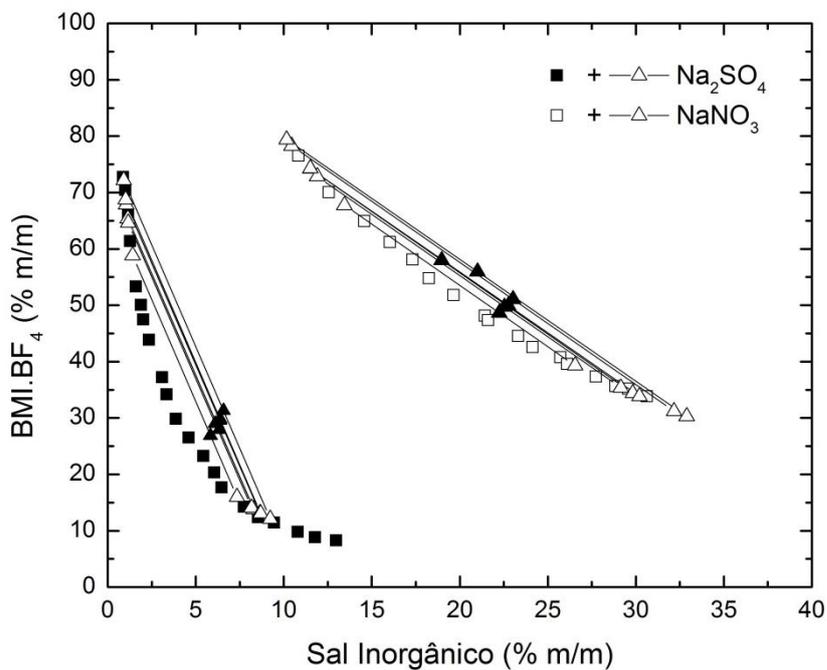


FIGURA AIV 2 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS BMI.BF₄ + Na₂SO₄ + H₂O E BMI.BF₄ + NaNO₃ + H₂O EM T = 25 °C

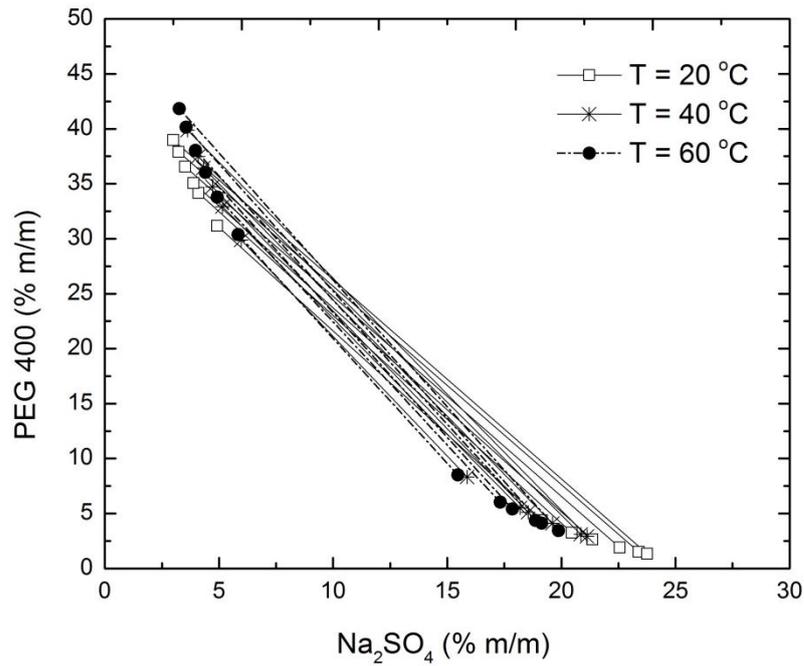


FIGURA AIV 3 – LINHAS DE AMARRAÇÃO O SISTEMA PEG 400 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA À 20, 40 E 60 °C

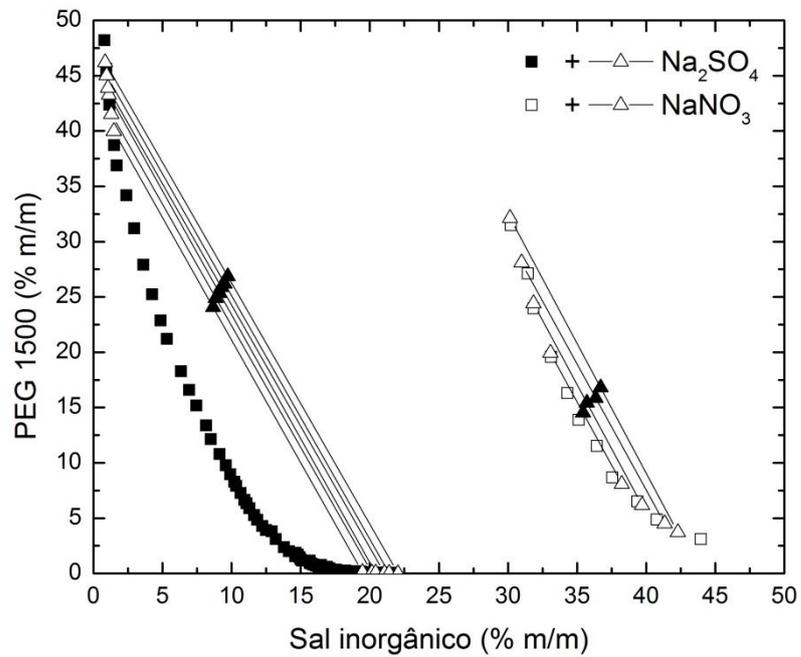


FIGURA AIV 4 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS PEG 1500 + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA E PEG 1500 + NaNO₃ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °

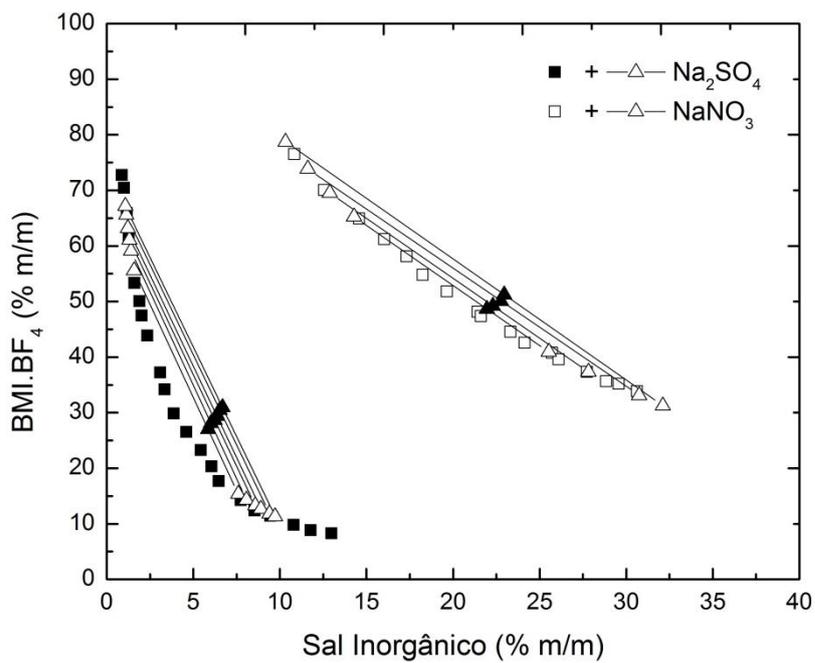


FIGURA AIV 5 – DIAGRAMAS DE FASES CONCOMITANTES PARA OS SISTEMAS BMI.BF₄ + Na₂SO₄ + H₂O + CAFEÍNA E BMI.BF₄ + NaNO₃ + H₂O + CAFEÍNA EM T = 25 °C