

JORGE AMIM JÚNIOR

**EFEITO HIDROFÓBICO DE MACROMOLÉCULAS SOBRE A
PARTIÇÃO DE CIANOCOMPLEXOS EM SISTEMAS AQUOSOS
BIFÁSICOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2006

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

T

A516e
2006

Amim Júnior, Jorge, 1979-

Efeito hidrofóbico de macromoléculas sobre a partição
de cianocomplexos em sistemas aquosos bifásicos / Jorge
Amim Júnior. – Viçosa : UFV, 2006.
xv, 50f. : il. ; 29cm.

Texto em português e inglês.

Inclui apêndice.

Orientador: Luis Henrique Mendes Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Equilíbrio líquido-líquido. 2. Íons metálicos -
Extração. 3. Copolímeros triblocos. 4. Extração (Química).
5. Físico-química. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 22.ed. 541.345

JORGE AMIM JÚNIOR

**EFEITO HIDROFÓBICO DE MACROMOLÉCULAS SOBRE A PARTIÇÃO DE
CIANOCOMPLEXOS EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS**

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

APROVADA : 24 de fevereiro de 2006

Prof^a. Dra. Jane Sélia dos Reis Coimbra
(Conselheira)

Prof^a Dra. Nilda de Fátima Ferreira

Prof. Dr. Edilton de Souza Barcelos

Prof. Dr. Valdir Mano

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

Aos meus pais, Jorge e Conceição que sempre me apoiaram e propiciaram este momento em minha vida .
Ao meu irmão Rafael e minha irmã Raquel, pelas conversas e pelo incentivo ao meu crescimento pessoal e profissional.
Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Luis Henrique Mendes da Silva pela orientação, incentivo, e pela amizade. (força ae Luis)

A Prof^a Maria do Carmo Hespanhol da Silva pelas críticas e sugestões.

Ao professor Watson Loh por permitir a realização das medidas calorimétricas no seu laboratório e por suas sugestões.

Aos professores Luis Antônio Minim e Jane Sélia dos Reis Coimbra por permitir a realização deste trabalho no Laboratório de Processos de Separação, pelo apoio e pela amizade.

Aos colegas do laboratório de Físico-química pelo convívio e colaboração.

A Marisa, funcionária do Departamento de Química, pela colaboração, paciência e por seus conselhos femininos.

Ao meu grande amigo João Paulo pelas risadas, incentivo e pelo apoio à realização deste trabalho e de muitos outros. Valeu cabra !!! . Não esquecerei esses dois anos.

Ao meu amigo Paulo, pelo apoio e incentivo. Valeu Portinha!!!!

A minha Fefe pelo apoio, encorajamento e por seu enorme carinho que mesmo a distância foi importante para mim.

BIOGRAFIA

JORGE AMIM JÚNIOR, filho de Jorge Amim e Maria da Conceição dos Santos Amim, nasceu no dia 18 de julho de 1979, na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Em março de 1999, ingressou no Curso de Química da Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se com o título de Licenciatura e Bacharelado em janeiro de 2004.

Em março de 2004, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível de Mestrado na Universidade de Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em março de 2006.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABELAS	ix
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1. Introdução	1
1.1. Sistemas Aquosos Bifásicos	1
1.2. Termodinâmica De Formação De Micelas Macromoleculares	3
1.3. Efeito Hidrofóbico	8
1.4. Aplicação De Copolímeros Em Sistemas Aquosos Bifásicos	12
1.5. Aplicação De Sistemas Aquosos Bifásicos Na Extração De Metais.....	15
1.6. Estudo Da Partição De Solutos Em Sab's	17
Referências	19
ARTIGO : Hydrophobic effect on the partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions in aqueous two phase systems formed by triblock copolymers	22
Abstract.....	22
1. Introduction	23
2. Methods and materials.....	25
2.1. Materials	25
2.2. Phase diagram determination	25
2.3. Partitioning experiments.....	26
2.4. Partition coefficients.....	27
2.5. Determination of thermodynamic parameters associated to the complexes partitioning	27
2.5.1. Van't Hoff approximation	27
2.5.2. Calorimetric Measurements.....	28
2.6. Infrared measurements	28
3. Results and discussion	29
3.1. Phase diagrams	29
3.2 Stability of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion.....	31

3.3. Effect of increasing polymer hydrophobicity on the partition coefficient of [Fe(CN) ₅ (NO)] ⁻² .	31
4. Conclusions	46
References	46
APÊNDICE	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Introdução

Figura 1. Exemplo de um sistema aquoso bifásico formado por PEO (MM=3400g/mol), MgSO ₄ e H ₂ O a 25°C.....	1
Figura 2. Diagrama de fase de um sistema aquoso bifásico formado por polímero e sal.	2
Figura 3. Arranjos moleculares para os copolímeros.	4
Figura 4. Estrutura química do: (A) poli(óxido de etileno); (B) Copolímero tribloco PEO-PPO- PEO.....	5
Figura 5. Estrutura de uma micela formada por um copolímero.....	6
Figura 6. Rede tridimensional da estrutura da água líquida.	9
Figura 7. Estrutura organizada da água.....	10
Figura 8. Formação das micelas macromoleculares em SAB's quando se eleva a temperatura do sistema e a concentração do copolímero ([copolímero])....	13

Artigo: Hydrophobic effect on partitioning of [Fe(CN)₅(NO)]⁻² and [Fe(CN)₆]⁻³ anions in aqueous two phase systems formed by triblock copolymers

Figure 1. Influence of copolymer molecular weight on phase diagram for the ATPS formed by L35/potassium phosphate/water (□) and F68/potassium phosphate/water (■) at 25°C and pH=7.....	29
Figure 2. Temperature effect on the phase diagram for the L35 /potassium phosphate/water at pH=7, (□) 25°C and (■) 40°C.	30
Figure 3. Partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers (□) L35 and (■) F68 and (◇) PEO with phosphate salts (pH=7) at 25°C versus tie line length (TLL)...	32
Figure 4. Transfer free energy $\Delta_{tr}G^\circ$ of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers (□) L35 and (■) F68 and (◇) PEG with phosphate salts (pH=7) at 25°C versus tie line length (TLL).....	33

Figure 5. Non-linear Van'T Hoff for $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion in ATPS formed by L35 () , F68 () for four tie line lengths.....	35
Figure 6. Non-linear Van'T Hoff for $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion in ATPS formed by PEO () for four tie line lengths.	36
Figure 7. Comparison between $\Delta_{\text{tr}}H$ obtained by calorimetric measurements () and non-linear Van'T Hoff equation () in ATPS formed by PEO (1500g.mol ⁻¹) at 25°C, for pentacyanonitrosylferrate anion ($[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$)..	38
Figure 8. Partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers () L35 and () F68 and () PEO with phosphate salts (pH=7) at 25°C versus the difference of water (%w/w) between the bottom phase and top phase (% H ₂ O).	41
Figure 9. Graphic of $ \Delta_{\text{tr}}G^\circ $ the pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by F68 versus the between in %(w/w) of the copolymer between the top and bottom phases (■), at 25°C and $\Delta v\text{NO}$ of the anion versus the variation of the concentration of F68 in aqueous solution at 25°C (■).	42
Figure 10. Graphic of $ \Delta_{\text{tr}}G^\circ $ the pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by L35 versus the between in %(w/w) of the copolymer between the top and bottom phases (●), at 25°C and $\Delta v\text{NO}$ of the anion versus the variation of the concentration of L35 in aqueous solution at 25°C (●).	42
Figure 11. Comparison between the partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers () L35 and () F68 with the partition coefficient (K) of hexacyanoferrate in L35 () and F68 () at 25°C versus tie line length (TLL).	43
Figure 12. Comparison between the partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by PEO () with the partition coefficient (K) of hexacyanoferrate in PEO () at 25°C versus tie line length (TLL).	44

ÍNDICE DE TABELAS

Introdução

Tabela 1. Parâmetros termodinâmicos de hidratação para o gás metano em vários solventes a 25°C.....	8
--	---

ARTIGO: Hydrophobic effect on partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions in aqueous two phase systems formed by triblock copolymers

Table 1. Thermodynamic parameters obtained by non-linear Van'T Hoff equation for $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion in ATPS formed by three different polymers at 25°C	37
---	----

Table 2. Thermodynamic parameters obtained by non-linear Van'T Hoff equation for $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anion in ATPS formed by three different polymers at 25°C	45
--	----

APÊNDICE

Tabela 1. Composições globais utilizadas para a partição dos complexos em sistemas aquosos bifásicos formados por PEO/ fosfato de potássio (pH=7)/água.....	49
--	----

Tabela 2. Composições globais utilizadas para a partição dos complexos em sistemas aquosos bifásicos formados por F68/ fosfato de potássio (pH=7)/água.....	50
--	----

Tabela 3. Composições globais utilizadas para a partição dos complexos em sistemas aquosos bifásicos formados por L35/ fosfato de potássio (pH=7)/água.....	50
--	----

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Introdução

CLA	Comprimento da linha de amarração
CMC	Concentração micelar crítica
$\Delta_{\text{mic}}G^\circ$	Energia livre de Gibbs padrão de micelização
$\Delta_{\text{mic}}H^\circ$	Entalpia padrão de micelização
$\Delta_{\text{mic}}S^\circ$	Entropia padrão de micelização
$[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$	Ânion pentacianonitrosilferrato
PAN	(1-(2-piridilazo)-2-naftol)
PAR	(4-(2-piridilazo)-resorcinol)
PPO	Poli(óxidopropileno)
SAB	Sistema aquoso bifásico
TAN	(1-(2-tiazolilazo)-2-naftol)
TcO_4^-	Ânion pertecnatato
TAR	(4-(2-tiazolilazo)-resorcinol)
TMC	Temperatura micelar crítica

ARTIGO: Hydrophobic effect on partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions in aqueous two phase systems formed by triblock copolymers

ATPS	Aqueous two phase system
CMT	Critical micellization temperature
CMC	Critical micellization concentration
$\Delta_{\text{tr}}G^\circ$	Transfer free energy
$\Delta_{\text{tr}}H^\circ$	Transfer enthalpy
$\Delta_{\text{tr}}S^\circ$	Transfer entropy
D	Distribution ratio
K	Partition coefficient
PEO	Poly(ethylene oxide)
PPO	Poly(propylene oxide)
TcO_4^-	Pertechnetate anion
TLL	Tie line length

T	Temperature
R	Gas constant
%(w/w)	Weight-weight percentage

RESUMO

AMIM JÚNIOR, Jorge, M.S, Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2006.

Efeito hidrofóbico de macromoléculas sobre a partição de cianocomplexos em sistema aquoso bifásico. Orientador : Luis Henrique Mendes da Silva. Conselheiros : Jane dos Reis Coimbra, José Roberto da Silveira Maia, Luis Antônio Minin e Maria do Carmo Hespanhol da Silva.

Dados de equilíbrio de fase de sistemas aquosos bifásicos (SAB's) formados pela mistura de copolímero tribloco, fosfato de potássio (pH=7) e água foram determinados neste trabalho em três temperaturas 10°C, 25°C e 40°C e com dois tipos de copolímeros L35 (1900g.mol⁻¹) e F68 (8400g.mol⁻¹). Copolímero tribloco é uma macromolécula do tipo PEO-PPO-PEO onde PEO e PPO são de poli(óxido etileno) e de poli(óxido propileno), respectivamente. Seis SAB's foram obtidos através do método de quantificação de fases. O efeito da temperatura no diagrama de fase para ambos os copolímeros L35 e F68 não foi significativo. A não influência da massa molar sobre os diagramas de fase pode ser explicada por efeitos associados a hidrofobicidade dos copolímeros. O comportamento de partição dos ânions $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ foram estudados em SAB's formados por copolímeros triblocos e em SAB's formados por PEO.. Os coeficientes de partição para os ambos os ânions foram investigados em função da temperatura, comprimento da linha de amarração (TLL), hidrofobicidade das macromoléculas e da presença ou ausência do grupo NO nos complexos. Um forte efeito de temperatura foi observado para a partição dos complexos. Ao aumentar a temperatura nos sistemas L35, F68 e PEO, o coeficientes de partição dos ânions $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ diminuíram, indicando um processo exotérmico de transferência. A ordem relativa do coeficiente de partição é L35 < F68 < PEO para ambos os ânions. Entretanto, o ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ tem coeficientes de partição maiores do que o ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em todos SAB's estudados. A banda de estiramento NO foi muito sensível a presença de polímero indicando que o grupo NO tem um forte efeito sobre a partição do ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$. Os parâmetros termodinâmicos

obtidos para a não linear equação de Van't Hoff e medidas de calorimetria mostram que o processo de transferência dos ânions para a fase superior em todos os SAB's estudados é regido pela entalpia.

ABSTRACT

AMIM JÚNIOR, Jorge, M.S, Universidade Federal de Viçosa, february 2006.

Hydrophobic effect of the macromolecules on partitioning of the cyanocomplexes in aqueous two phase systems. Adviser: Luis Henrique Mendes da Silva. Committe Members : Jane dos Reis Coimbra, José Roberto da Silveira Maia, Luis Antônio Minin e Maria do Carmo Hespanhol da Silva.

Phase equilibrium of aqueous two phase systems (ATPS) formed by mixture of triblock copolymer, potassium phosphate (pH=7) and water was prepared in this work in three temperatures 10°C, 25°C and 40°C and with two different copolymer (L35 of 1900g.mol⁻¹ and F68 8400g.mol⁻¹). Triblock copolymer is a macromolecule of the type PEO-PPO-PEO, where PEO and PPO are poly(ethylene oxide) and poly(propylene oxide), respectively. Six ATPS was obtained by phase quantification methods. The effect temperature on the phase diagrams for both L35 and F68 copolymers was not significant. The not influence of the molar mass upon the behavior of the phase diagram for both macromolecules was compensated by effects associated to the hydrophobicity of the copolymers. The partitioning behavior of the [Fe(CN)₅(NO)]⁻² and [Fe(CN)₆]⁻³ anions was studied in theses ATPS formed by triblock copolymers and in ATPS formed by PEO.. The partition coefficients for the both anions were investigated in function of the temperature, tie line length (TLL), hydrophobicity of the macromolecules and a presence or absence of the group NO in the complexes. A strong temperature effect was observed in the complexes partitioning. Upon increasing the temperature in systems containing triblock L35, F68 and PEO, the partition coefficient of the [Fe(CN)₅(NO)]⁻² and [Fe(CN)₆]⁻³ decreased, indicating an exothermic process of the partitioning. The relative order of the partition coefficient is L35<F68<PEO for both anions. However, the [Fe(CN)₅(NO)]⁻² anion has higher partition coefficient than [Fe(CN)₆]⁻³ anion in all ATPS studied. The IR NO stretching band was very sensitivity to presence of

the macromolecules suggesting that group NO has a strong effect on $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion partitioning behavior. The thermodynamic parameters obtained for non-linear Van't Hoff equation and calorimetric measurements show that the transfer of the anions to the top phase in all ATPS studied is enthalpically driven.

1. INTRODUÇÃO

1.1. SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS

A formação espontânea de um sistema aquoso bifásico (SAB) ocorre quando dois diferentes polímeros hidrossolúveis, ou um polímero e um sal inorgânico são misturados em água, sob determinadas condições termodinâmicas. Sistema aquoso bifásico (SAB) é reconhecido como um sistema altamente eficiente na purificação e extração de biomoléculas (proteínas, enzimas) [1,2] e tem sido aplicado também na extração de íons metálicos [3,4].

Em geral, a adição de um material em SAB resulta numa transferência preferencial para uma das fases, devido, principalmente, às diferentes interações intermoleculares que podem ocorrer entre o soluto e cada componente formador das fases.

Para um SAB obtido a partir de uma composição global, geralmente definida em termos de porcentagem massa/massa % (m/m), observa-se que a fase superior será rica em polímero e a fase inferior rica em sal, sendo que, em ambas, predomina a água (Figura 1).

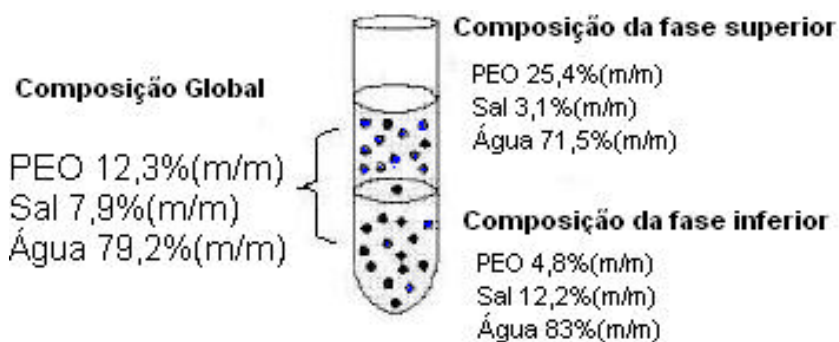


Figura 1. Exemplo de um sistema aquoso bifásico formado por PEO (MM=3400g/mol), MgSO_4 e H_2O a 25°C.

A composição química das duas fases que se encontram em equilíbrio termodinâmico é geralmente representada em um diagrama de fase (Figura 2).

Estes dados de equilíbrio líquido-líquido são de grande importância para os estudos de partição, pois, são utilizados para o desenvolvimento e otimização de processos de extração de diversos solutos.

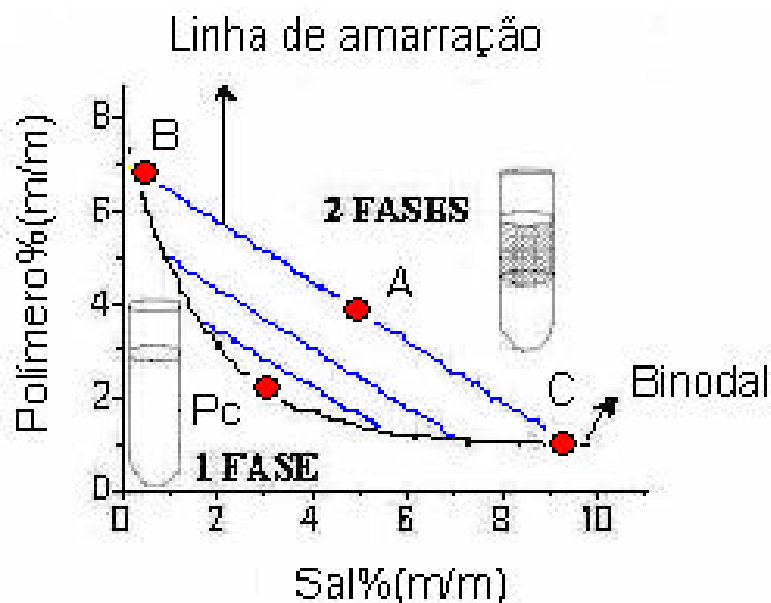


Figura 2. Diagrama de fase de um sistema aquoso bifásico formado por polímero e sal.

Neste diagrama de fase, a abscissa representa a concentração de sal e a ordenada a concentração do polímero presente no sistema. Desta forma, o diagrama nos informa em quais composições globais o sistema se encontra homogêneo ou bifásico, sendo essas duas regiões separadas pela linha binodal (BP_cC) [5]. A posição da binodal varia de acordo com o tipo e massa molar do polímero, natureza química do sal, temperatura e pH do meio. Existem diferentes métodos para a obtenção da linha binodal, sendo geralmente utilizados os métodos de titulação turbidimétrica e de análise das composições das fases [6,7].

No diagrama de fase, são também representadas as linhas de amarração (ex: linha BAC) que, para uma determinada composição global do sistema (ponto A), fornece a composição das fases em equilíbrio, representadas pelos pontos B (fase superior) e C (fase inferior) (Figura 2). O ponto P_c , chamado de ponto crítico, representa um caso teórico no qual a composição e volume da fase superior e inferior são idênticas.

A obtenção das linhas de amarração é de grande importância, pois, todas as misturas com composições globais representadas por pontos presentes em uma mesma linha de amarração, fornecerão fases superiores com propriedades termodinâmicas intensivas (ex: composição) idênticas, porém com propriedades extensivas (ex: volume) diferentes. O mesmo princípio aplica-se às fases inferiores.

Um parâmetro termodinâmico utilizado para expressar a diferença das propriedades termodinâmicas intensivas entre as fases em equilíbrio é o comprimento da linha de amarração (CLA) [5]. Este parâmetro é calculado em função das diferenças de concentrações dos componentes em cada fase, conforme indicado na equação 1:

$$CLA = \left[(C_P^S - C_P^I)^2 + (C_S^S - C_S^I)^2 \right]^{1/2} \quad \text{(equação 1)}$$

em que, C_P^S e C_P^I são as concentrações de polímero (%(m/m)) na fase superior e inferior, respectivamente, enquanto C_S^S e C_S^I são as concentrações do sal (%(m/m)) na fase superior e inferior, respectivamente. À medida que o valor do CLA aumenta, torna-se maior a diferença de composição entre as fases, elevando, conseqüentemente, a eficiência na extração de um dado soluto.

1.2. TERMODINÂMICA DE FORMAÇÃO DE MICELAS MACROMOLECULARES

O polímero poli(óxido de etileno) é uma macromolécula linear que contém, em sua cadeia, a unidade repetitiva (-CH₂-CH₂-O-) e grupos terminais R= OH e R'= H. Já o copolímero da série Pluronic é constituído por segmentos de óxido de etileno (-CH₂-CH₂-O-) e óxido de propileno (-CH₂-CH(CH₃)-O-) e é designado por (PEO)_n-(PPO)_m-(PEO)_n [8]. A nomenclatura para os copolímeros é definida através de letras e números. A letra L é utilizada para copolímeros que

sejam líquidos, P e F para pasta e flocos, respectivamente. O primeiro algarismo indica a massa molar do bloco PO e o último indica a fração em massa do bloco EO. Por exemplo, o plurônico L35 é um líquido com aproximadamente 950g/mol de PO e com 50% m/m de EO. Já o F68 são flocos com 1750g/mol de PO e 80% m/m de bloco EO.

Os copolímeros estão divididos em randômicos, e em blocos. Nestes últimos, as diferentes unidades repetitivas são organizadas em grupos, sendo classificados de acordo com o número de blocos que cada molécula contém e com o modo pelo qual estão arranjados. A figura abaixo mostra alguns exemplos de arranjo molecular para os copolímeros.

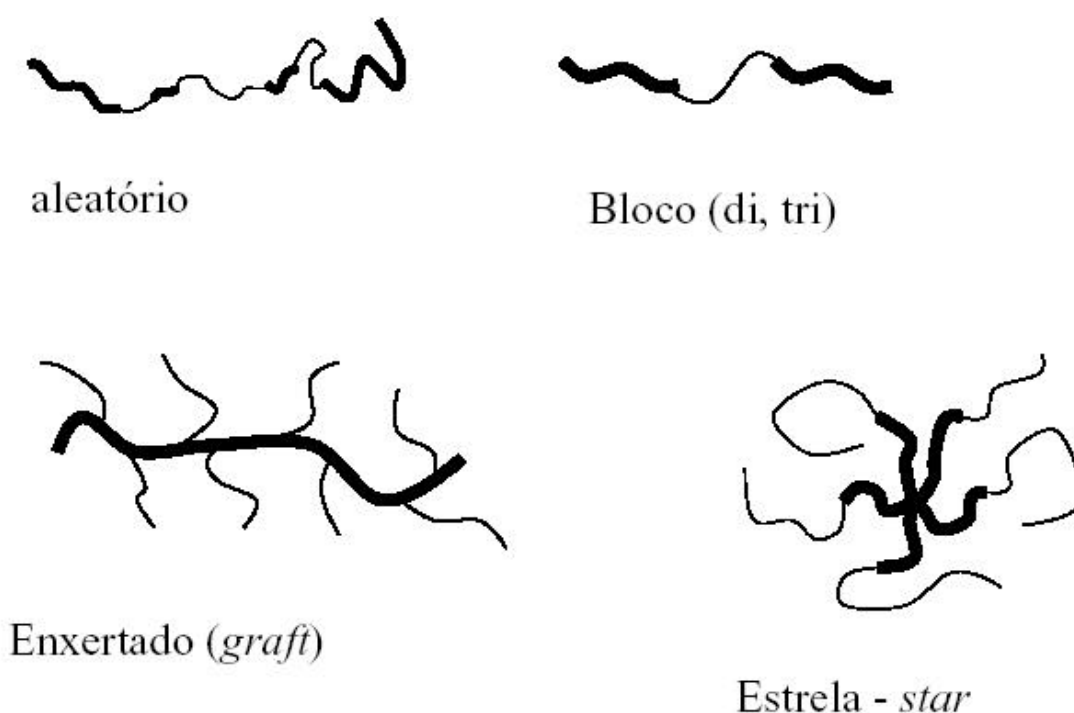
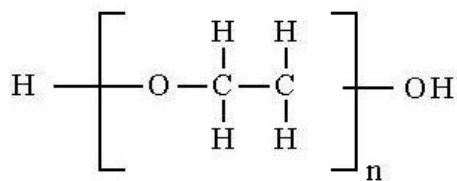
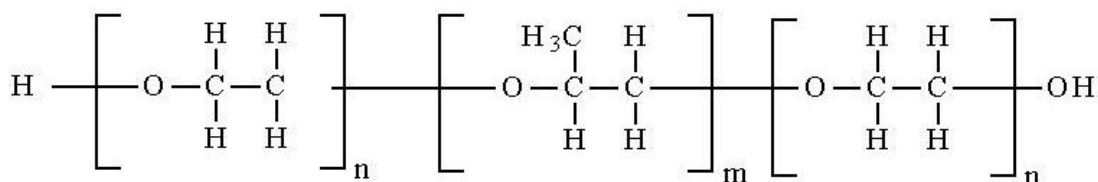


Figura 3. Arranjos moleculares para os copolímeros.

A representação geral das estruturas químicas do polímero PEO (com n unidades repetitivas EO) e do copolímero tribloco (com n unidades repetitivas EO e m unidades PO) estão representadas na Figura 4.



(A)



(B)

Figura 4. Estrutura química do: (A) poli(óxido de etileno); (B) copolímero tribloco PEO-PPO-PEO.

O bloco intermediário de poli(óxido propileno) (PPO) interage menos intensamente com as moléculas de água do que os blocos de poli(óxido etileno) (PEO), devido, principalmente à presença de um grupo metila a mais na cadeia do segmento do óxido de propileno [8,9]. Variando a proporção de segmentos PPO ou PEO nos copolímeros pode-se conseguir propriedades distintas para as soluções aquosas destas macromoléculas, como por exemplo, variar o balanço hidrofílico/hidrofóbico e, conseqüentemente, as interações dos componentes dessas soluções com os diferentes solutos presentes no sistema.

Devido a estas características os copolímeros são muito utilizados na indústria como detergentes, na formulação de cosméticos, em liberação de fármacos, solubilização de materiais [10].

A temperatura é um parâmetro termodinâmico que influencia significativamente as propriedades físico-químicas dos copolímeros em solução. O aumento da temperatura dessas soluções faz com que a interação dos segmentos PO e EO com a água diminua e, conseqüentemente, causa um aumento na hidrofobicidade desses diferentes blocos que formam a macromolécula, promovendo a sua agregação em estruturas denominadas

micelas. Estes agregados possuem um núcleo formado por unidades PO, que são rodeadas pelos segmentos de EO. A Figura 5 exemplifica a estrutura de uma micela formada por copolímero tribloco (PEO-PPO-PEO).

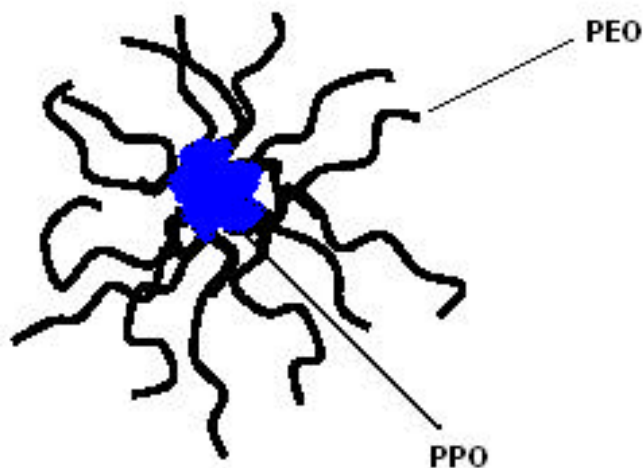


Figura 5. Estrutura de uma micela formada por um copolímero.

A temperatura na qual as primeiras moléculas de copolímeros se agregam é chamada de temperatura micelar crítica (TMC). Esta mesma agregação irá ocorrer quando em um sistema, à temperatura constante, a concentração do copolímero aumentar, sendo esta conhecida como concentração micelar crítica (CMC) [8]. Em temperaturas próximas à 25°C e, em elevadas concentrações, as soluções aquosas de copolímeros formam um gel. Estes géis surgem a partir da agregação de micelas em redes tridimensionais que aprisionam as moléculas do solvente.

A formação de micelas de copolímeros é explicada por um modelo molecular [8,9] no qual a forma enovelada do copolímero está em equilíbrio com a forma micelar (equilíbrio associativo-dissociativo). A energia livre para a formação desses agregados (não iônicos) é calculada pela equação 2:

$$\Delta_{mic} G^o = RT \ln(C_{CMC}) \quad \text{(equação 2)}$$

Em que R é a constante dos gases, T é a temperatura em que se encontra o sistema e C_{CMC} é a concentração micelar crítica.

Aplicando a equação de Gibbs-Helmoholtz encontramos a entalpia padrão de micelização:

$$\Delta_{mic} H^o = -RT^2 \left(\frac{\partial \ln(C_{CMC})}{\partial T} \right)_P \quad \text{(equação 3)}$$

Finalmente, a entropia padrão de micelização é dada pela equação 4:

$$\Delta_{mic} S^o = \frac{\Delta_{mic} H^o - \Delta_{mic} G^o}{T} \quad \text{(equação 4)}$$

Dados experimentais de calorimetria diferencial de varredura e da dependência da CMC com a temperatura [8,9,10] mostram que o processo de micelização de copolímeros em solução aquosa é um processo endotérmico, indicando que, termodinamicamente, a formação de micelas é regida pela entropia ($\Delta_{mic} S > 0$).

Este aumento na entropia ocorre porque, na formação das micelas, há a liberação das moléculas de água que antes interagiam com segmentos da macromolécula que estavam livres em solução, causando, conseqüentemente, um aumento no grau de liberdade translacional das moléculas do solvente, promovendo, assim, um ganho entrópico para todo o sistema.

Por ser determinado entropicamente, o processo de micelização é uma função do comprimento e da proporção dos segmentos de PO, isto é, a parte hidrofóbica do copolímero. Para grupos de PEO-PPO-PEO, em que se mantém o número segmentos de EO constante e se varie a quantidade de segmentos PO nos copolímeros, em uma dada temperatura e concentração, percebe-se que os valores de CMC caem com o aumento do número de segmentos de PO [9]. Logo a formação de micelas é dificultada quanto mais hidrofílica for a macromolécula, ou seja, quando possuir mais segmentos de EO em sua estrutura química.

1.3. EFEITO HIDROFÓBICO

O termo “interações hidrofóbicas” denota a tendência de certos tipos de moléculas de se associarem em um meio aquoso [11,12]. Essas interações contribuem para o enovelamento de proteínas, a formação de micelas por surfactantes ou copolímeros e formação de emulsões.

Muitos estudos termodinâmicos foram feitos na tentativa de interpretar e explicar este fenômeno. O primeiro modelo foi baseado nos parâmetros termodinâmicos de hidratação, obtidos experimentalmente de vários compostos apolares em água, sendo que a baixa solubilidade em água estaria associada ao valor positivo da variação da energia livre de Gibbs de transferência de um soluto para a fase aquosa ($\Delta_{tr}G^\circ > 0$). A Tabela 1 mostra as propriedades termodinâmicas de hidratação do gás metano em vários solventes.

Tabela 1. Parâmetros termodinâmicos de hidratação para o gás metano em vários solventes a 25°C

Solvente	ΔG° (kJ/mol)	ΔH° (kJ/mol)	$-T\Delta S^\circ$ (kJ/mol)
decano	13,0	-2,30	17,3
hexano	13,1	-2,26	15,4
benzeno	15,3	-1,25	16,6
acetona	15,6	-2,80	18,4
etanol	16,5	-8,78	25,3
metanol	17,5	-7,94	25,4
água	25,5	-13,8	39,3

Os resultados da Tabela 1 mostram que a baixa solubilidade do metano é completamente governada pela perda de entropia do sistema, devido, principalmente à perda de entropia configuracional das moléculas do solvente.

Em 1945, Frank e Evans [11] propuseram um modelo molecular aproveitando os parâmetros termodinâmicos obtidos anteriormente. O modelo, conhecido como “modelo do iceberg”, explica a baixa solubilidade de compostos apolares em água em termos da organização das moléculas de água em torno do soluto apolar, que ocorreria com a perda de entropia no sistema. A este tipo de interação água-soluto denominou-se hidratação hidrofóbica.

As propriedades físico-químicas da água se devem principalmente à distribuição heterogênea de cargas elétricas e ao ângulo de ligação O-H [5,13]. Essas características lhe permitem fazer quatro ligações de hidrogênio com outras moléculas de água, propiciando a formação de uma grande rede tridimensional (Figura 6) de estrutura tetraédrica e com alto cooperativismo molecular.

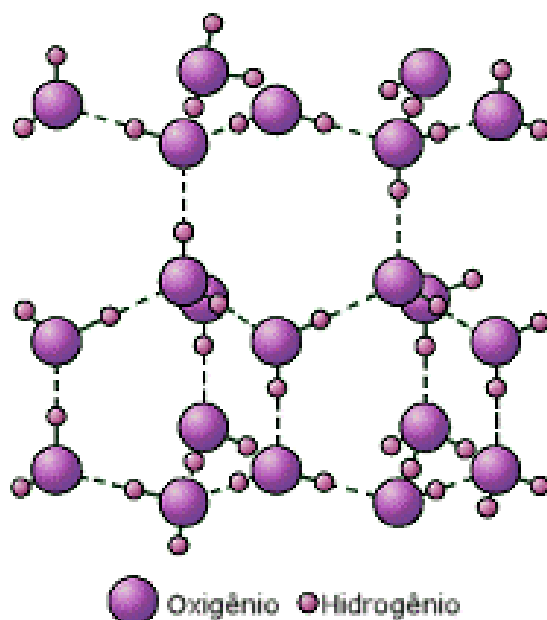


Figura 6. Rede tridimensional da estrutura da água líquida.

A dissolução de um soluto apolar na água ocorreria com a hidratação hidrofóbica, com isso as ligações de hidrogênio que antes se mantinham em uma estrutura tetraédrica passariam a formar camadas em torno dos solutos mais organizados conhecidos como clatratos (Figura 7). Esta nova configuração das moléculas de água ocorre principalmente com perda de graus de liberdade, o que leva à redução da entropia do sistema.

Para este modelo, a agregação dos solutos apolares em solução aquosa ou as atrativas interações entre esses solutos são oriundas das interações entrópicas desfavoráveis que ocorrem no sistema.

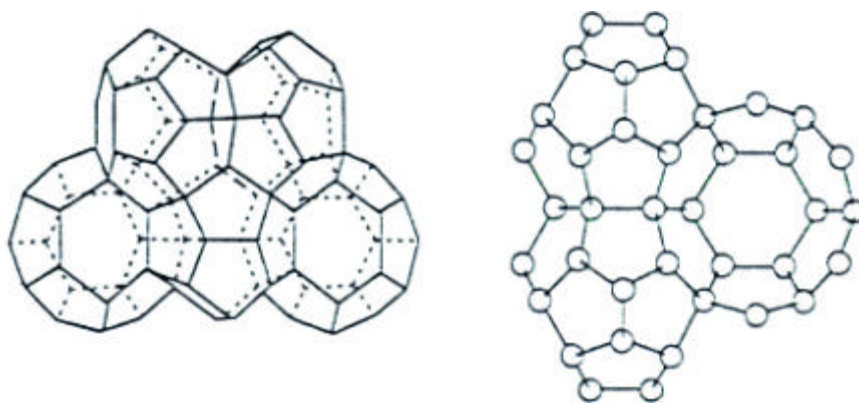


Figura 7. Estrutura organizada da água

Pioretti [11] desenvolveu um outro modelo, conhecido como modelo da cavidade, em inglês Scaled Particle Theory (SPT), no qual as interações entálpicas entre soluto e solvente dominariam o processo de agregação das moléculas apolares. Nesta proposta, a dissolução de uma partícula em uma solução envolve duas etapas:

- 1) criação de uma cavidade no solvente que tem um tamanho apropriado para acomodar o soluto. Nesta etapa, o processo seria endotérmico, devido à quebra de interações das moléculas do solvente;
- 2) estabelecimento de interações entre moléculas do soluto e do solvente. Este processo seria exotérmico, devido às novas interações, mas que levaria a uma redução entrópica do sistema (perda nos graus de liberdade das moléculas do soluto e do solvente).

A teoria usa argumentos estatísticos para descrever a criação de um elemento de volume em um dado líquido para acomodar uma partícula, sendo que neste processo é necessária uma certa quantidade de trabalho sobre o sistema para que ocorra uma reorganização das moléculas do solvente para formar essa cavidade. A distribuição de Boltzmann expressa este modelo (equação 5) :

$$P(R,Q) = e^{\left(\frac{-W(R,Q)}{KT}\right)} \quad \text{(equação 5)}$$

Sendo que $P(R,Q)$ é a probabilidade de surgir, dentro das flutuações estatísticas das moléculas do solvente, uma cavidade. Q é o número de moléculas do soluto por volume (N/V), $W(R,Q)$ é o trabalho requerido para criar a cavidade de raio R .

Este modelo, SPT, foi usado para estudar o comportamento de solvatação de gases apolares em solução aquosa. Os resultados experimentais sugeriram que a baixa solubilidade desses gases em água estava principalmente relacionada ao pequeno volume molar das moléculas de água. Ou seja, a frequência com que se formavam as cavidades na solução aquosa não era suficiente para acomodar esses gases.

A relação entre essas duas propostas, que enfatizam diferentes aspectos das moléculas de água, ainda não é completamente conhecida [14]. Mas estes modelos são utilizados, por exemplo, para explicar a formação de micelas de moléculas de surfactantes ou de macromoléculas em solução aquosa.

Por exemplo, ao introduzirmos as primeiras moléculas de copolímeros em água, haverá o surgimento da cavidade para acomodar essas macromoléculas. Interações que antes ocorriam entre as moléculas de água serão quebradas e novas interações com segmentos das macromoléculas surgirão. Neste novo ambiente, as moléculas de água se organizarão ao redor das macromoléculas assumindo novas estruturas (clatratos), perdendo graus de liberdade.

À medida que aumentamos a concentração das macromoléculas na solução, maior será a hidratação hidrofóbica e mais clatratos serão criados. Logo,

o sistema perde em entropia com o surgimento dos clatratos. Ao surgir o primeiro valor de concentração do soluto (copolímero) que tornaria a energia livre de Gibbs de dissolução positiva, a CMC da macromolécula, o sistema é levado a uma nova configuração a fim de diminuir a energia livre de Gibbs.

Isto ocorre através da quebra das estruturas de solvatação das moléculas de água (clatratos) que, conseqüentemente, ganham graus de liberdade, sendo este evento chamado de efeito hidrofóbico [8]. Juntamente com a liberação das moléculas de água ocorre a associação das macromoléculas em agregados micelares.

1.4. APLICAÇÃO DE COPOLÍMEROS EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS

Sistemas aquosos bifásicos (SAB's) são utilizados para estudos de partição de biomoléculas desde a sua descoberta por Albertsson em 1950 [15]. Diferentes tipos de SAB's podem ser utilizados para este tipo de experimento, entretanto SAB's formados por PEO e dextrana (polissacarídeo) são os mais utilizados. Devido ao alto custo da dextrana e da dificuldade de separar as biomoléculas da fase polimérica, alternativos SAB's foram desenvolvidos para minimizar estes problemas [16,17].

Estes novos sistemas são compostos por copolímeros que sofrem separação de fase com uma mudança moderada da temperatura do sistema em que se encontram (ponto de névoa). Esta separação de fase resulta em uma fase rica em água e outra rica em polímero. Esses tipos de polímeros são chamados de polímeros termosseparáveis. PEO também é polímero termosseparável, mas tem um ponto de névoa muito alto (100°C) para separação de biomoléculas.

Os copolímeros triblocos do tipo PEO-PPO-PEO e diblocos PEO-PPO são termosseparáveis e têm baixo ponto de névoa em relação ao PEO. Logo, SAB's formados por esses copolímeros têm sido utilizados para a partição de solutos [18] e em seguida, com o aumento da temperatura, é feita a separação do soluto de interesse do copolímero [19].

Copolímeros têm a capacidade de formar agregados micelares em solução, com este comportamento os copolímeros triblocos são utilizados para partição de biomoléculas hidrofílicas e hidrofóbicas.

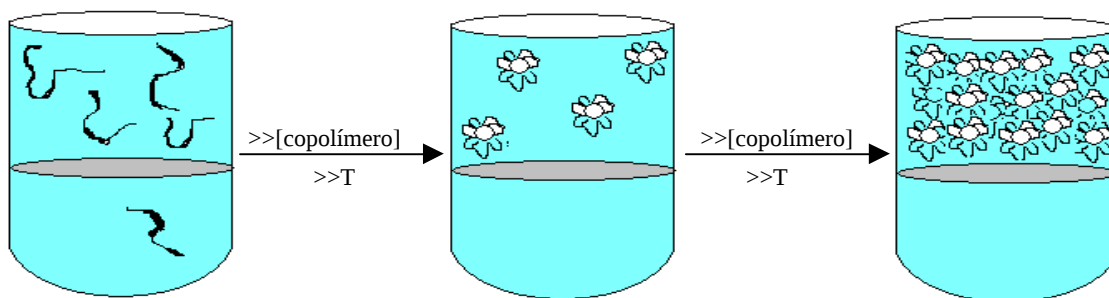


Figura 8. Formação das micelas macromoleculares em SAB's quando se eleva a temperatura do sistema e a concentração do copolímero ([copolímero]).

A Figura 8 mostra como é o comportamento dos copolímeros em SAB's. A fase superior fica muito mais hidrofóbica que a fase inferior com o aumento da temperatura e da concentração da macromolécula (formação das micelas), possibilitando diferentes propriedades ao sistema em relação aos SAB's formados por PEO.

Por causa dessas propriedades em solução, Berggren et al. [20], em 1995, realizaram experimentos de partição com diferentes proteínas (albumina do soro bovino, lisozima, β -lactoglobulina A, mioglobina e citocromo C) em SAB's formados por copolímero dibloco $(\text{PEO})_{30}(\text{PPO})_{70}$ com o intuito de avaliar o efeito da hidrofobicidade dessas proteínas nesse sistema. Berggren e colaboradores concluíram que a partição das proteínas era dependente da sua hidrofobicidade e que a hidrofobicidade das macromoléculas que constituíam os SAB's e a presença de distintos eletrólitos também afetavam a partição dessas biomoléculas. A maior vantagem desses sistemas foi a possibilidade de recuperar essas proteínas sem que sofressem desnaturação.

Sistemas formados por copolímeros dibloco $(\text{PEO})_{50}(\text{PPO})_{50}$ também foram utilizados por Persson et al. [18] em 1999. O objetivo desse trabalho era de separar três proteínas (albumina do soro bovino, lisozima e apolipoproteína A-

1) e de verificar o efeito de sais na extração dessas proteínas. Esses pesquisadores chegaram à mesma conclusão de Berggren et al. [20] a de que SAB's formados por copolímeros eram sistemas promissores para purificação de biomoléculas.

Com os poucos trabalhos que existem de extração ou purificação de solutos em SAB's formados por copolímeros diblocos, a maior parte deles utilizou-se de sistemas aquosos bifásicos formados pela mistura desses copolímeros com outras macromoléculas como dextrana [21] e maldotextrina [18]. Somente em 2004, Li e Peeples [22] determinaram diagramas de fase com o copolímero PEO-PPO (2500g.mol^{-1}) e eletrólitos $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e, em seguida, fizeram um estudo de partição de uma enzima.

Svensson et al. [23] começaram a utilizar copolímero tribloco para a partição de aminoácidos e oligopeptídeos em SAB's. Nesse trabalho foi investigado o efeito de agregação do P105 (6500g.mol^{-1}) sobre o comportamento de partição dessas biomoléculas. A extração dessas partículas foi significativamente influenciada pela temperatura a qual foram submetidas para a extração, pois os coeficientes de partição para esses solutos aumentavam com a temperatura. Os autores atribuíram este comportamento à capacidade do copolímero de se agregar (formação de micelas) em altas temperaturas.

Em outro trabalho, Svensson et al. [24] começou a avaliar a capacidade dos copolímeros em formar micelas e afetar o comportamento de partição de uma série de proteínas em SAB's formados por copolímeros e dextrana. Para isso, esses pesquisadores usaram dois copolímeros com razões EO/PO diferentes, P105 (50%EO m/m) e F68 (80%EO m/m). Os coeficientes de partição das proteínas eram afetados pela temperatura nos SAB's formados por esses dois copolímeros, as proteínas se concentravam mais em uma fase rica em F68 do que em fase uma rica em P105. Uma possível razão era de que o F68 tinha menor capacidade de formar agregados e, por isso, a extração em relação ao P105 era diferente para as várias proteínas particionadas.

Sistemas aquosos bifásicos formados por copolímeros estão sendo utilizados atualmente com a principal finalidade, como no trabalho de Rabelo et al. [25], de purificar biomoléculas.

1.5. APLICAÇÃO DE SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS NA EXTRAÇÃO DE METAIS

O primeiro trabalho aplicando SAB's para extração de íons metálicos foi publicado em 1984 por Zarova et al. [26]. Em geral, existem poucos trabalhos desenvolvidos até o momento que apliquem SAB's na extração de íons metálicos. Contudo, estes trabalhos mostram que a maioria dos íons metálicos prefere se concentrar na fase rica em eletrólitos [27].

No estudo sobre a extração de íons metálicos, o uso de sistemas formados por misturas de poli(óxido de etileno) (PEO) e sal inorgânico predomina em número, sendo que a maioria das pesquisas é feita utilizando-se o poli(óxido de etileno) de massa molar igual a 2.000g.mol^{-1} [27]. O emprego de polímeros de baixa massa molar visa a otimização de propriedades termodinâmicas do sistema, tais como a diminuição da viscosidade das fases, solubilidade do polímero e tempo de separação das fases.

Existem poucos estudos feitos com SAB's na partição de íons metálicos formados por polímeros, que contêm unidades repetitivas diferentes do óxido de etileno, ou seja, que tenham distintas hidrofobicidades,. Um exemplo disto foi a utilização do copolímero L64, do PPO poli(óxido propileno) e PVP poli(vinilpirrolidona) no estudo de partição do ânion pertecnatato (TcO_4^-) [28]. Entretanto, trabalhos avaliando o efeito de sais na distribuição de íons metálicos em SAB's são bem numerosos [29,30]. Como por exemplo, a pesquisa desenvolvida por Graber et al. [31], investigando o efeito de ânions e cátions sobre a razão de distribuição de complexos do tipo BiX_4^- (para $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}^-$).

Segundo Roger et al. [27], a extração de íons metálicos pode ser feita de três formas: (a) na presença de um complexante solúvel em água; (b) utilizando-se de um ânions inorgânicos e (c) na ausência de qualquer agente extrator.

Dentre as três formas de extração, a mais empregada é aquela em que se usa complexantes solúveis em água, orgânicos ou inorgânicos. Em geral, esses complexantes promovem uma melhora na partição dos íons metálicos para a fase

rica em polímero. Essa melhora é decorrente de uma maior interação do complexo metálico formado com os componentes presentes na fase polimérica.

Percebe-se, em geral, que complexantes orgânicos que são solúveis em água, que apresentam uma elevada afinidade pela fase rica em polímero e que, ao complexar com os íons, tenham uma significativa constante de estabilidade são utilizados para a extração de íons metálicos [27]. Neste caso, podemos citar o trabalho de Visser et al. [32], no qual a partição dos íons Fe^{+3} , Co^{+3} , Ni^{+2} , Cd^{+2} , entre outros, foi feita utilizando complexantes aromáticos, tais como PAN (1-(2-piridilazo)-2-naftol), TAN (1-(2-tiazolilazo)-2-naftol), PAR (4-(2-piridilazo)-resorcinol) e TAR (4-(2-tiazolilazo)-resorcinol). Nessa pesquisa, a partição dos íons foi muito influenciada pelo pH do meio e pelo tipo de complexante utilizado. A explicação dos autores está associada à capacidade de complexação dos íons com essas moléculas orgânicas e com a constante de ionização dos complexantes.

Fontana e Ricci [33] fizeram um estudo de partição do íon Cu^{+2} usando como complexante a 1,10-fenantrolina em SAB's formados por PEO (3350g.mol^{-1}) e sulfato de amônio em várias temperaturas. O que se percebeu é que o coeficiente de partição do complexo Cu^{+2} -1,10-fenantrolina era muito maior do que o coeficiente de partição do íon Cu^{+2} . Este comportamento foi explicado em termos da hidrofobicidade do complexo que teria uma maior afinidade pela fase rica em polímero (fase superior). Este tipo de metodologia de extração de íons metálicos utilizando complexantes ainda é bem utilizado, e pode ser feito utilizando ânions inorgânicos para extração de íons.

Para o segundo tipo de extração, classificado por Rogers et al. [27], utiliza-se ânions como I^- , SCN^- , F^- , Cl^- , como exemplo temos o trabalho feito por Shibukawa et al. [34], no qual foram feitos estudos no comportamento de extração dos íons Fe^{+3} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Zn^{+2} , Mn^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} e Li^+ em SAB's formados por PEO/ $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ na presença de iodeto e tiocianato.

O ânion pertecnatato (TcO_4^-) até o momento é o único íon que se concentra em uma fase rica em polímero em SAB's sem a utilização de qualquer complexante, sendo portanto, uma exceção em termos de partição de íons em

SAB's [28,35]. Recentemente, trabalhos feitos por Aquino [36], em SAB's formados por PEO e sais de sulfato a 25°C, demonstraram que o ânion pentacianonitrosilferrato $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ concentra-se, preferencialmente, na fase rica em polímero, sendo evidente uma forte interação entre o íon e o polímero. Contudo, ainda não foi estudado o comportamento de partição desse ânion em SAB's formados por macromoléculas com hidrofobicidade diferente do poli(óxido etileno).

1.6. ESTUDO DA PARTIÇÃO DE SOLUTOS EM SAB'S

Para a interpretação dos resultados experimentais de partição existem alguns modelos na literatura [37,38]. O modelo teórico desenvolvido por Haynes et al. [39], que é baseado na teoria de Flory e Huggins, descreve as forças motrizes que regem a partição de um soluto em SAB's através de duas equações analíticas, uma relacionada à contribuição entálpica e outra à entrópica. Neste modelo, a contribuição da entropia no processo de transferência de um soluto para uma das fases será descrita pela equação 6 :

$$\ln K_s = \frac{MM_s}{r} \left(\frac{n^s}{V^s} - \frac{n^i}{V^i} \right) \quad \text{(equação 6)}$$

Onde K_s é o coeficiente de partição do soluto, MM_s a sua massa molar, r é a densidade numérica molecular global do sistema aquoso bifásico, n^s e V^s são o número de moléculas presentes na fase superior e o seu volume, respectivamente, n^i e V^i correspondem ao número de moléculas na fase inferior e o seu corresponde volume.

A equação é aplicada quando consideramos ausentes as contribuições entálpicas na partição de um soluto. Com isso, um soluto irá se transferir para uma fase preferencialmente ($K_s > 1$) se os números de moléculas por unidade de

volume das fases forem diferentes. Além disso, a partição ocorrerá para a fase que possuir a maior densidade numérica de moléculas $\left(\frac{n}{V}\right)$. A densidade numérica será, principalmente, determinada pelo número de moléculas de água em cada fase, visto que é o componente majoritário nos SAB's.

A contribuição da entalpia para a partição de um soluto é dada pela equação 7 :

$$\ln K_S = -\frac{MM_S}{RT} \left[\sum_{i=1}^3 (f_i^S - f_i^I) w_{iS} - \sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (f_i^S f_j^S - f_i^I f_j^I) w_{ij} \right] \quad \text{(equação 7)}$$

Sendo F_i^S e F_i^I as frações volumétricas do componente “i” na fase superior e inferior, respectivamente. Enquanto que w_{ij} ou w_{iS} são os pares potenciais efetivos, dado pela equação 8:

$$w_{ij} = z \left[e_{ij} - \frac{1}{2} (e_{ii} - e_{jj}) \right] \quad \text{(equação 8)}$$

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

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

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

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

A equação 7 mostra dois termos que refletem as diferentes causas que podem promover a partição de um soluto.

O primeiro termo, $\left[\sum_{i=1}^3 (f_i^S - f_i^I) w_{iS} \right]$, refere-se a todos os tipos de interações que ocorrem entre o soluto e os componentes presentes tanto na fase superior ou inferior. Logo, este termo reflete a tendência de o soluto se transferir para a fase

onde existe a maior concentração do componente com o qual tem a maior interação, ou seja, o menor valor de w_{iS} .

O segundo termo da equação, $[\sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (f_i^S f_j^S - f_i^I f_j^I) w_{ij}]$, demonstra a diferença do conteúdo entálpico entre as fases, sendo esta energia proveniente somente das diferentes interações dos componentes formadores do sistema aquoso bifásico. O termo não expressa as interações devidas ao soluto.

Desta forma, $\sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (f_i^S f_j^S) w_{ij}$, define a auto-energia de cada fase.

Conseqüentemente, um soluto irá se transferir para uma região que se encontrar em um estado termodinâmico de maior energia, ou seja, onde se gastará menor energia para quebrar e formar novas interações.

REFERÊNCIAS

1. Willauer, H. D.; Huddleston, J. G.; Li, M.; Rogers, R. D.; J. Chromatogr. B 2000, 743, 127.
2. Gulyaeva, N.; Zaslavsky, A.; Lechener, P.; Chait, A.; Zaslavsky, B.; J. Chromatogr. B 2000, 743, 187.
3. Zhang, T.; Li, W.; Zhou, W.; Gao, H.; Wu, J.; Xu, G.; Chen, J.; Liu, H.; Chen, J.; Hydrometallurgy 2001, 62, 41.
4. Yoshikuni, N.; Baba, T. Tsunoda, N.; Oguma, K.; Talanta 2005, 66, 40.
5. Zaslavsky, B. Y.; Aqueous Two Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications ,Marcel Dekker, New York, 1995.
6. Salabat, A.; Dashti, H.; Fluid Phase Equilibri. 2004, 216, 157.
7. Sarubbo, L. A.; Oliveira, L. A.; Porto, A. L. F.; Duarte, H. S.; Carneiro-Leão, A. M. A.; Lima-Filho, J. L.; Campos-Takaki, G. M.; Tambourgi, E. B.; J. Chromatogr. B 2000, 743, 79.
8. Alexandridis, P.; Hatton, T. A.; Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 1995, 96, 1.

9. Alexandris, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A.; *Macromolecules* 1994, 27, 2414.
10. Loh, W.; *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*, 2002, 802.
11. Blokzijl, W.; Engberts, J. B. F. N.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1993, 32, 1545.
12. Chandler, D.; *Nature* 2005, 437, 640.
13. Tanford, C.; *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, Wiley Interscience Publication, 1980.
14. Shimizu, S.; *Chem. Phys. Lett.* 2004, 392, 456.
15. Albertsson, P.-Å.; *Partition of Cells Particles and Macromolecules*, 3rd ed., Wiley, New York, 1986.
16. Silva, L. H. M.; Silva, M. C. H.; Mesquita, A. F.; Nascimento, K. S.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *J. Chem. Eng. Data* 2005, 50, 1457.
17. Tada, E.S, Loth, W.; Filho, P. A. P.; *Fluid Phase Equilibria* 2004, 218, 228.
18. Bolognese, B.; Nerli, B.; Picó, G.; *J. Chromatography B* 2005, 814, 353.
19. Persson, J.; Johansson, H.-A; Tjerneld, F.; *J. Chromatogr. A* 1999, 864, 31.
20. Berggren, K.; Johansson, H.-A.; Tjerneld, F.; *J. Chromatogr. A* 1995, 718, 67.
21. Svensson, M.; Berggren, K.; Veide, A.; Tjerneld, F.; *J. Chromatogr. A* 1999, 839, 83.
22. Li, M.; Peeples, J. *Chromatogr. B* 2004, 807, 69.
23. Svensson, M.; Joabsson, F.; Linse, P.; Tjerneld, F.; *J. Chromatogr. B* 1997, 761, 91.
24. Svensson, M.; Berggren, K.; Veide, A.; Tjerneld, F.; *J. Chromatogr. B* 1999, 839, 71.
25. Rabelo, A. P. B.; Tambourgi, E. B.; Pessoa Júnior, A.; *J. Chromatogr. B* 2004, 807, 61.
26. Zarova, T. I.; Shkinev, V. M.; Vorob'eva, G. A.; Spivakov, B. Y.; Zolotov, Y. A.; *Mikrochimica Acta* 1984, III, 449.

27. Rogers, R. D.; Bond, A. H.; Bauer, C. B.; Sep. Sci. Technol., 1993, 28, 1091.
28. Rogers, R.D; Zhang J.; J. Chromatogr. B 1996, 680, 231.
29. Rogers, R. D.; Zhang, J.; Griffin, S. T.; Sep. Sci. Technol. 1997, 32, 699.
30. Griffin, S. T, Spear, S. K.; Rogers, R. D.; J. Chromatogr. B 2004, 807, 151.
31. Graber, T. A.; Andrews, B. A.; Asenjo, J. A.; J. Chromatogr. B 2000, 743, 57.
32. Visser, A. E.; Griffin, S. T.; Hartman, D. H.; Rogers, R. D.; J. Chromatogr. B 2000, 743, 114.
33. Fontana, D.; Ricci, G.; J. Chromatogr. B 2000, 743, 231.
34. Shibukawa, M.; Nakayama, N.; Hayashi, T.; Shibuya, D.; Endo, Y.; Kawamura, S.; Anal. Chim. Acta 2001, 427, 293.
35. Rogers, R.D.; Bond, A. H.; Zhang, J.; Bauer, C. B. Appl. Radiat. Isot. V. 1996, 47, 499.
36. Aquino, R.A.N., Tese, Brasil, Universidade federal de Viçosa, Minas Gerais, 2004.
37. Diamond, A. D.; Hsu, J. T.; Biotechnol. Bioeng. 1989, 34, 1000.
38. Pfennig, A.; Schwerin, A.; Gaube, J.; J. Chromatog. B 1998, 711, 45.
39. Johansson, H.O; Karlström, G.; Tjerneld, F.; Haynes, C. A.; J. Chromatogr. B 1998, 711, 3.

ARTIGO

Hydrophobic effect on the partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions in aqueous two phase systems formed by triblock copolymers

Abstract

The partitioning behavior of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions were studied in aqueous two phase systems (ATPS) formed by potassium phosphate and two types of macromolecules - poly(ethylene glycol) (1500 g/mol) and Pluronic block copolymers. The Pluronic molecule is a triblock copolymer of the PEO-PPO-PEO type, where PEO and PPO are poly(ethylene oxide) and poly(propylene oxide), respectively. Two Pluronic copolymers with different hydrophobicity were used, L35 (50%EO and 1900 g/mol) and F68 (80%EO and 8400 g/mol). The partition coefficient for the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions in each ATPS were investigated as a function of the temperature, tie line length (TLL), hydrophobicity of the phases and in the presence or not of the NO group in the complexes. A strong temperature effect was observed in the partitioning of the complexes. Upon increasing the temperature in systems containing L35 or F68 and PEO, the partition coefficient of the both anions decreased, indicating an exothermic process in the partitioning. However, the partition coefficient increases exponentially when tie line length increase in all ATPS studied for the anions. The relative order of the partition coefficient is $\text{L35} < \text{F68} < \text{PEO}$ for the anions. The IR NO stretching band was very sensitive to polymer concentration suggesting that the NO group has a strong effect on the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion partitioning behavior. The thermodynamic parameters obtained for Van 't Hoff equation and calorimetric measurements suggest that the transfer of anions to the top phase is enthalpy driven.

Keywords: aqueous two phase system, thermodynamic parameters, triblock copolymer.

1. Introduction

Traditionally the extractions of metal ions from aqueous solutions have been carried out by liquid-liquid extraction using water and an organic solvent that form two non-miscible phases [1]. However, these organic solvents employed for metal extraction are toxic, flammable and volatile. In recent years, aqueous two phase systems (ATPS) have started to be used for the same purpose. One of the main advantages of these systems is that the partitioning occurs between two non-miscible aqueous phases, which has evident environment benefits [2]. ATPS can be formed by combining either two water-soluble polymers differing in their chemical structure or a polymer and a salt in a certain concentration and temperature [3]. Most published work focuses on the experimental determination of partition coefficients for metal ions [4-7] and in this context, ATPS have shown to have great potential to separate metallic ions from aqueous solutions.

Different aqueous two phase systems can be used for partitioning of metallic ions; polymer/polymer and polymer/salt are examples of systems studied. Most attention has been focused on the poly(ethylene glycol) (PEG) of molar mass $2000\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ [9] and some inorganic anions (CO_3^{-2} , SO_4^{-2} , OH^- or PO_4^{-3}) [8,9]. Several factors can influence the outcome of the partitioning such as: tie line length, type of salt, pH, temperature, molecular size and hydrophobicity of the phase-forming polymers.

Rogers et al. [9] classified metal ion extractions in the aqueous two phase system into three categories: (1) extraction using a water soluble extractant; (2) extraction of metal complexes of inorganic anions and (3) extraction by the polymer-rich phase alone without an extractant. Among the three types of metal extraction the most applied are 1 and 2, because the distribution ratios (D) of the ions are often all very low ($D < 1$) in the ATPS [9].

In general, those water soluble extractant and inorganic anions promote an improvement in the partitioning of the metallic ions to the polymer-rich phase [1,9]. That occurs because of the better interaction of the metal complexe formed

with the components in the polymeric phase. However, the partitioning behavior of those solutes in ATPS is poorly understood at present.

The pertechnetate anion (TcO_4^-) is an exception of the first and second type of the extraction the metal ions in ATPS, because the anion partition quantitatively to the polymer rich phase in the absence of any added extractant. The pertechnetate's preference for polymer rich phase has been explained because of its large relatively hydrophobic nature and the small value of its estimated Gibbs free energy of hydration ($\Delta_{\text{hyd}}G$) [10].

But recently, it was discovered that the pentacyanonitrosylferrate anion prefers to concentrate in the polymer rich phase, in the absence of any extractant [11]. The partitioning behavior $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ has been investigated as a function of the type of salt, PEO molecular mass and tie line length, and this behavior has been explained as due to a strong interaction between the anion and the EO segments of the polymer. However, was not still studied the contribution of the hydrophobicity of macromolecules on the partitioning behavior of the anion in ATPS.

Block copolymers have been applied in the partitioning of the hydrophilic and hydrophobic biomolecules [12-14]. Little attention has been paid to metal extraction in ATPS formed by copolymers. The PEO-PPO-PEO polymer is a triblock copolymer where PEO is poly(ethylene oxide) and PPO is poly(propylene oxide). This type of triblock copolymer self-associates upon increasing temperature and/or concentration into micellar-like aggregates consisting of a core dominated by PO units, surrounded by a corona of EO chains. The temperature at which the copolymer molecules start to self-associate is referred to as the critical micellization temperature (CMT) and the corresponding concentration, the critical micellization concentration (CMC).

In this study, we have investigated the partition coefficient of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions in ATPS formed by triblock copolymers and PEG as a function of the hydrophobicity of the polymers. We carried out partitioning studies with two different copolymers, L35 and F68. The experiments were performed at four different temperatures, to study the effect of

triblock copolymer self-aggregation on the partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anions. The thermodynamic parameters were obtained from a non-linear Van 't Hoff equation and calorimetric measurements to determine the force driven associated with the transfer of anions in ATPS.

2. Methods and materials

2.1. Materials

The triblock copolymers L35 and F68 were obtained from Aldrich (USA), with average molecular mass of 1900 g/mol and 8400 g/mol, respectively. They have the following nominal compositions, L35: $(\text{EO})_{11}(\text{PO})_{16}(\text{EO})_{11}$ and F68: $(\text{EO})_{80}(\text{PO})_{30}(\text{EO})_{80}$. The polyethylene glycol PEO (average molecular mass of 1500 g/mol) was obtained from Sigma. All macromolecular compounds were used as received. The salts KH_2PO_4 and K_2HPO_4 were purchased from Vetec Química Fina (Brazil). $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]$ and $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ were purchased from Merck. All salts were of analytical grade and used without any further purification. Millipore water was used in all experiments.

2.2. Phase diagram determination

The phase diagram for the systems formed by L35/ potassium phosphate (pH=7)/ water and F68/ potassium phosphate (pH=7)/ water were determined at 10°C, 25°C and 40°C. Mixtures consisting of known weights of copolymers and salt stock solutions (L35, 70% w/w, F68 35% w/w and potassium phosphate (pH=7) 30% w/w) were prepared on an analytical balance. The Henderson-Hasselbach equation [15] was used to determinate the ratio, in mass, of the mono- and dibasic salts (KH_2PO_4 , K_2HPO_4) necessary to obtain pH=7. The prepared samples were stirred for 1 min and left to equilibrate for approximately 72h in a thermostatic bath (TECNAL, TE-184, Brazil) After this treatment, the two phases became clear and transparent, and the interface was well defined.

Samples in triplicate from the top and bottom phases were collected to determine the composition of each phase, using syringes. The concentrations were calculated as mass percent (% w/w).

The concentrations of the copolymers and salt in the phases were determined in two steps. First, the potassium phosphate (pH=7) in both phases was quantified using spectrophotometry (Cary 50, Varian, Australia) [16]. Second, the concentration of the copolymers was determined by measuring the total refractive index of the solutions and then subtracting the contribution of the salt. The refractive index measurements were performed with a refractometer (Analytic Jena AG Abbe refractometer 09-2001 model, Germany), at 30°C. All analytical measurements were performed in triplicate.

2.3. Partitioning experiments

To prepare the aqueous two phase systems, stock solutions of the phase component L35 70% (w/w), F68 35% (w/w), PEO 50% (w/w) and 30% (w/w) buffer phosphate at pH=7 (KH_2PO_4 , K_2HPO_4) in water were mixed in order to obtain a total system composition in accordance with the obtained phase diagrams. For the partitioning in ATPS formed by PEO/ potassium phosphate / water, the diagrams reported by Carvalho [17] were used. Four different compositions were chosen from each phase diagram. The copolymers, PEO and buffer phosphate solutions were weighed in graded 40mL plastic tubes. The total weight of the system was 40g. The prepared aqueous two phase systems (ATPS) were allowed to equilibrate for a minimum of 48h in a thermostatic water bath (TECNAL, TE-184, Brazil). After of the ATPS attained thermodynamic equilibrium, the top and bottom phase were removed. Then, 2.5g of each phase were mixed with 10mg of the solid ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]$ or $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) complexes in a glass tube. These systems were slowly mixed and left in thermostatic water bath for in the minimum of 48h to reach the thermodynamic equilibrium. Each experiment was carried out in triplicate.

2.4. Partition coefficients

The partition coefficient (K) of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ between the two phases is defined as:

$$K = \frac{[C_T]}{[C_B]} \quad (\text{eq.1})$$

where C_T and C_B are the equilibrium concentrations of the partitioned anions in the top and bottom phase, respectively.

$[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ concentrations in the both phases were determined by measuring the absorption at 260nm and at 302nm, respectively. Diluted phases from each aqueous two phase systems without the complexes were used as blanks, which had been prepared in parallel. Absorvances were measured with a Cary 50, Varian, Australia spectrophotometer.

2.5. Determination of thermodynamic parameters associated with the partitioning of the complexes

2.5.1. Van't Hoff approximation

The partition coefficients were determined at four different temperatures and the dependency of $\ln K$ on $1/T$ was approximated by a polynomial expression as represented by equation 2 [18]:

$$\ln K = a + b\left(\frac{1}{T}\right) + c\left(\frac{1}{T}\right)^2 + d\left(\frac{1}{T}\right)^3 + \dots \quad (\text{eq.2})$$

And by applying the non-linear Van't Hoff equation 3:

$$\Delta_{tr}H^{\circ} = -R \left[b + 2c \left(\frac{1}{T} \right) + 3d \left(\frac{1}{T} \right)^2 + \dots \right] \quad (\text{eq.3})$$

the enthalpy associated to the anion partitioning was calculated. The transfer free energy change ($\Delta_{tr}G^{\circ}$) was determined from equation 4:

$$\Delta_{tr}G^{\circ} = -RT \ln K \quad (\text{eq.4})$$

And the transfer entropic from equation 5:

$$\Delta_{tr}S^{\circ} = \frac{(\Delta_{tr}H^{\circ} - \Delta_{tr}G^{\circ})}{T} \quad (\text{eq.5})$$

2.5.2. Calorimetric Measurements

Solution enthalpies were determined in a Thermometric 2225 Precision Solution calorimeter by the ampule breaking technique. This unit was inserted into a thermostatic water bath operating at 25°C, with stability of 0.0001 degree. Typically 400mg of sodium pentacyanonitrosylferrate was loaded into a thin glass ampule which was inserted and broken in 100mL of water and in the top and bottom phase of the ATPS. With the amounts of substance used, the minimum energy measured in the experiment was 3J, well above the energy exchanged by breaking an empty ampule. The accuracy of the equipment and of the procedure were confirmed by measuring solution enthalpies of KCl, with agreement better than 1% with respect to literature data. All of the reported enthalpies are averages of the two independent experiments.

The enthalpy of the transfer ($\Delta_{tr}H$) of the anion between the bottom and top phases, obtained by calorimetric measurements, was defined as:

$$\Delta_{tr}H = \Delta_{top}H - \Delta_{bottom}H \quad (\text{eq.6})$$

2.6 Infrared measurements

The FTIR spectra of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-3}$ anion in water and in different concentrations of macromolecules L35 and F68 were taken on a Perkin Elmer 1000 FTIR spectrometer

using DTGS (deuteron-triglycine sulfate) detector. All spectra were recorded at 25°C. The concentration of anion was maintained constant in all samples (5% w/w).

3. Results and discussion

3.1. Phase diagrams

The phase diagrams determined for the F68/ salt/ water and L35/ salt/ water systems at 25°C are shown in Fig.1, as example. The systems separated into two isotropic phases, the top and bottom phases being enriched in macromolecules and salt, respectively. The tie lines were obtained by linear regression of the corresponding set of overall bottom and top phase concentrations. Four tie lines were determined for each copolymer/salt ATPS. The analyses of phase compositions for these copolymers ATPS showed that these aqueous two phase systems have top phases with lower water content than ATPS constituted by PEO. This behavior could be explained by the hydrophobic character of the triblock copolymers that has smaller interaction with water than PEO [19].

As can be seen in Fig. 1, the shape of the phase diagrams at 25°C does not differ significantly in the two copolymers systems. The biphasic area was not affected by the kind of copolymer. This behavior was observed for all temperatures studied.

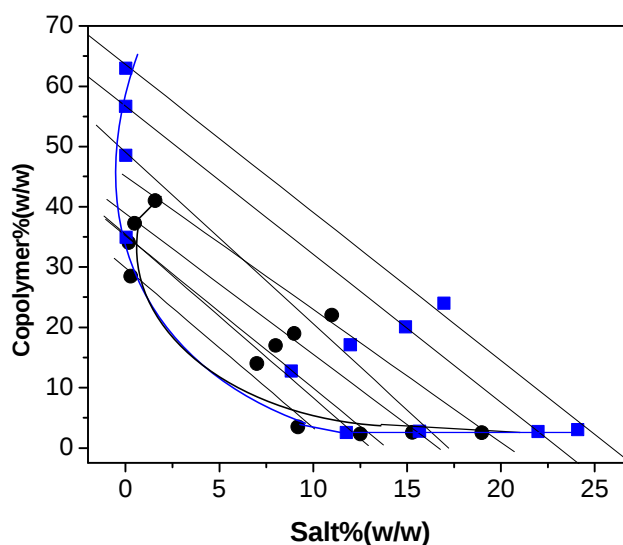


Figure 1. Influence of copolymer molecular weight on phase diagram for the ATPS formed by L35/potassium phosphate/water (○) and F68/potassium phosphate/water (■) at 25°C and pH=7.

The overlap of the phase diagrams, observed in the Figure 1, is verified for these copolymers (F68 and L35) at all temperatures. According to the theory of Flory-Huggins the polymer of the higher molar mass should more easily induce the separation of phases by has lower mixture entropic. However, this behavior was not observed for these two copolymers (L35 and F68). This not influence of the molar mass in the phase diagram was compensated by the effects associated to the hydrophobicity of the macromolecules. The presence the block PO in the copolymers decreases the interaction with water molecules. Then, an increase of the PO segments in macromolecules promotes a decrease in the solubility in water.

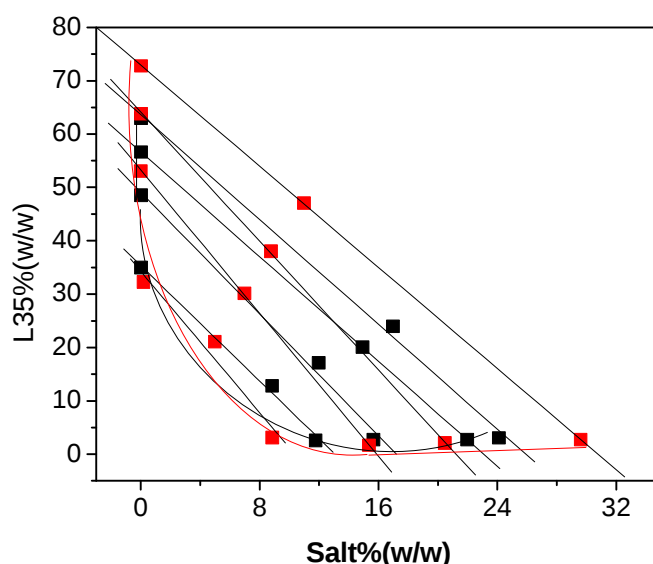


Figure 2. Temperature effect on the phase diagram for the L35 /potassium phosphate/water at $\text{ph}=7$, (■) 25°C and (■) 40°C.

Figure 2 shows a very small influence of the temperature on the phase diagram for the L35 copolymer. This tendency was also verified for the F68. The effect of the temperature on the phase diagrams caused more accentuated changes in the slope of the tie lines than in the binodals position; this effect was higher for L35 than for F68. However, with increase in the temperature, changes in the distribution of water in system occur, when more water is transferred to the

salt phase in ATPS formed by L35 e F68 copolymers. This is attributed to the ability of these macromolecules to form micelles [20]. This behavior has been presented previously [21].

3.2 Stability of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion

Partitioning experiments with $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion were performed in absence of light, so that the anion did not decompose. The anion stability was studied through electronic spectra in the top and bottom phases. The spectra obtained were similar to the anion in water. Infrared spectra and elemental analysis confirmed that the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion did not decompose in the presence of the macromolecules used in this study.

3.3. Effect of increasing polymer hydrophobicity on the partition coefficient of $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$.

The pentacyanonitrosylferrate anion ($[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$) was partitioned at 25°C in three kinds of ATPS containing top phases with distinct hydrophobicity, mainly due to the presence of macromolecules with different EO/PO ratio. The most hydrophilic phase was formed by poly(ethylene oxide) and the higher hydrophobic phase was formed by L35, a triblock copolymer composed by 50% in weight by unit of poly(propylene oxide), which exhibits a weak molecular interaction with water molecules [22]. The F68 copolymer contains 80% of hydrophilic EO units. Figure 1 shows the partition coefficient of the anion, K, versus tie-line length (TLL).

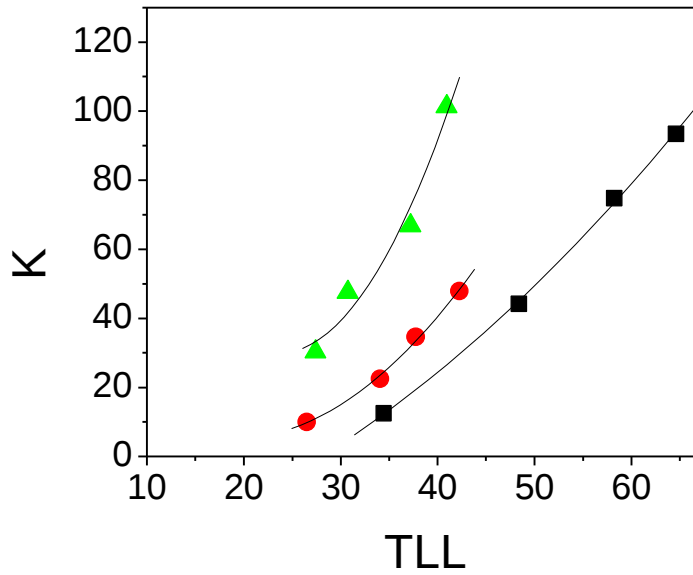


Figure 3. Partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers () L35, () F68 and () PEO with phosphate salts (pH=7) at 25°C versus tie line length (TLL).

The tie line length is a parameter, which expresses the difference in the intensive thermodynamic functions between the top and bottom phases [3]. It is dependent on the difference of salt and macromolecules concentration (% w/w) present in the top and bottom phases. The TLL is calculated by equation 7.

$$TLL = \left[(C_p^T - C_p^B)^2 + (C_s^T - C_s^B)^2 \right]^{1/2} \quad (\text{eq.7})$$

Where C_p^T and C_p^B are the macromolecule concentration in top and bottom phases, while C_s^T and C_s^B are applied in the same way to the salt.

As can be seen in Figure 3, for all ATPS studied, the partition coefficient of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion increase as TLL increase, occurring in every case, a preferential concentration of the anion into the macromolecule rich phase. This result agreed with Aquino [11], where he observed, independent of the polymer molar mass, the same crescent exponential relationship between K and TLL, for ATPS formed by PEO and different sulfate salts. However, all the values of K obtained from ATPS formed by sulfates salts were higher than the partitioning coefficients measured in this investigation, showing again the strong influence of the electrolyte on the partitioning behavior of the pentacyanonitrosylferrate anion. Other authors have pointed out the same strong effect of the ATPS forming salts on the partitioning behavior of other ions [23-25].

As shown in Figure 3, the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ partitioning behavior is dependent on the hydrophobic/hydrophilic balance existent in each macromolecular top phase, decreasing, while the hydrophobicity increase. The ratio of EO/PO increases in the same order that the K, L35<F68<PEO. A very useful thermodynamic parameter related with hydrophobic contribution to partitioning is the transfer free energy $\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ [26]. This thermodynamic variable is the change in free energy associated with the process of transferring 1 mol of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion from the bottom phase to the top phase and is calculated by the classic thermodynamic equation, $\Delta_{\text{tr}}G^\circ = -RT \ln K$.

Figure 4 shows the relationship between the variables $\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ and TLL for the three kinds of ATPS studied. Independent of the macromolecule used, the transfer of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion caused a linear decrease in the free energy of the system during the increase of TLL.

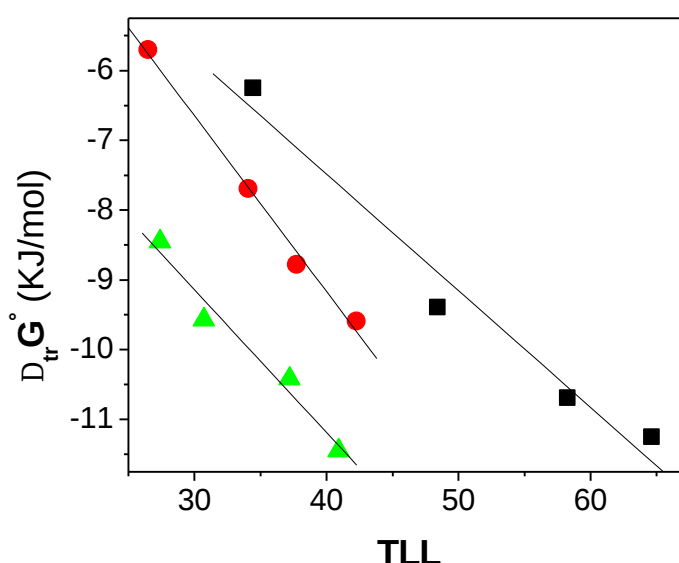


Figure 4. Transfer free energy $\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers (●) L35, (■) F68 and (▲) PEG with phosphate salts (pH=7) at 25°C versus tie line length (TLL).

Even with small values of TLL there is a difference in the $\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ value from ATPS formed by polymers and copolymers, following the order: PEO>F68>L35. This difference continues as the TLL increases and could reflect the contribution of the micelle to the thermodynamic state of the phases formed by copolymers. At low temperature and/or concentrations the tri-block

copolymers exist in solution as individual macromolecules. However, increasing the copolymer concentration a spontaneous formation of thermodynamically stable micelles occurs, consisting of a core dominated by PO units, surrounded by a corona of EO chains. The aggregation number is independent of the copolymer concentration, while the number of aggregates is proportional [22]. Both parameters increase with temperature [22]. Another important characteristic is that the critical micellization concentration (CMC) and temperature (CMT) decrease with an increase in the copolymers PPO content or molar mass [22]. If this molecular aggregation has a significant contribution to the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion transfer process, a non-linear relationship between $\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ and the TLL between is observed, because the micelles number and size will not change linearly with TLL values [20]. Then, we can suppose that, when the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion transfers to the top phase, it does not to interact with the micelle core, because the micelle center is formed predominantly by PPO chain with a very small amount of water molecules, producing then an unfavorable surrounding to ion species [22].

Thermodynamically, $\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ energy could be split into two contributions, a enthalpic $\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ and another entropic $\Delta_{\text{tr}}S^\circ$. In order to investigate the contribution of the enthalpic molecular interaction to pentacyanonitrosylferrate anion transference, we calculated the $\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ using the classic Van't Hoff approximation. In general, enthalpy of transfer could be estimated indirectly from studies of the temperature dependence of the partitioning coefficient. The well-known Van't Hoff equation:

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta_{\text{tr}}H}{RT^2} \quad (\text{eq. 8})$$

or its non-linear alternate form

$$\ln K = a + b\left(\frac{1}{T}\right) + c\left(\frac{1}{T}\right)^2 + d\left(\frac{1}{T}\right)^3 + \dots \quad (\text{eq.9})$$

$$\Delta_{\text{tr}}H^\circ = -R\left[b + 2c\left(\frac{1}{T}\right) + 3d\left(\frac{1}{T}\right)^2 + \dots\right] \quad (\text{eq.10})$$

may be used to obtain the enthalpy of transfer from such data [14]. In these equations, K is the partitioning coefficient, T the absolute temperature, R the gas constant and a,b,c,d...constants of equation 9.

Partitioning of $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion was performed in three ATPS systems at four different temperatures. The influence of temperature on partitioning behavior is shown in Figures 5 and 6 where $\ln K$ is plotted against the inverse of the absolute temperature.

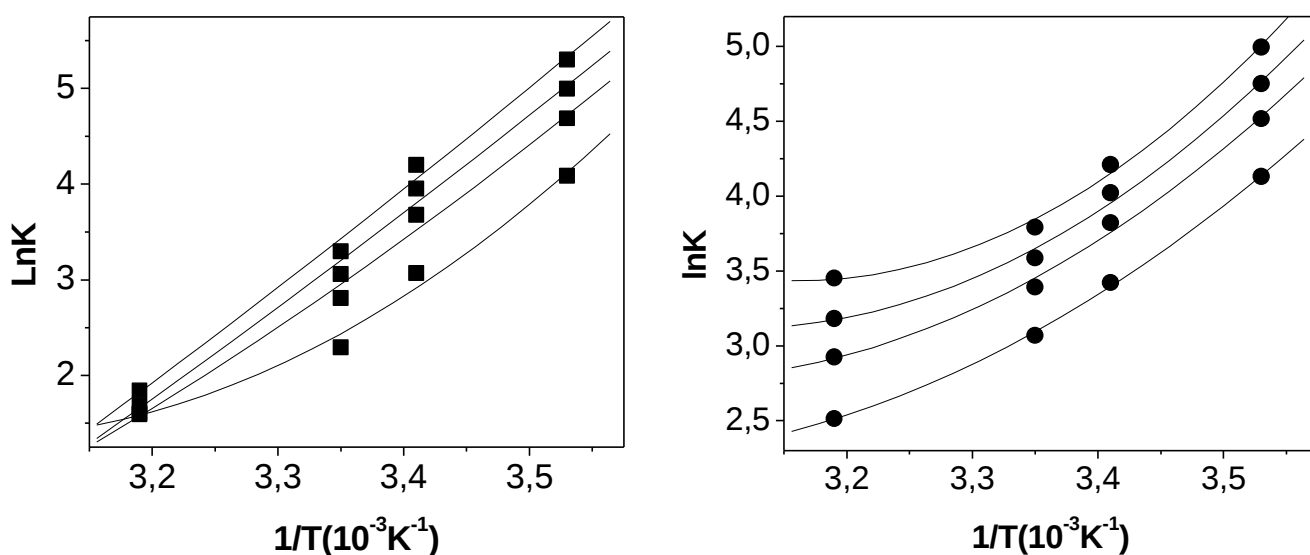


Figure 5. Non-linear Van't Hoff equation for $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion in ATPS formed by L35 (◻) and F68 (◐) for four tie line lengths.

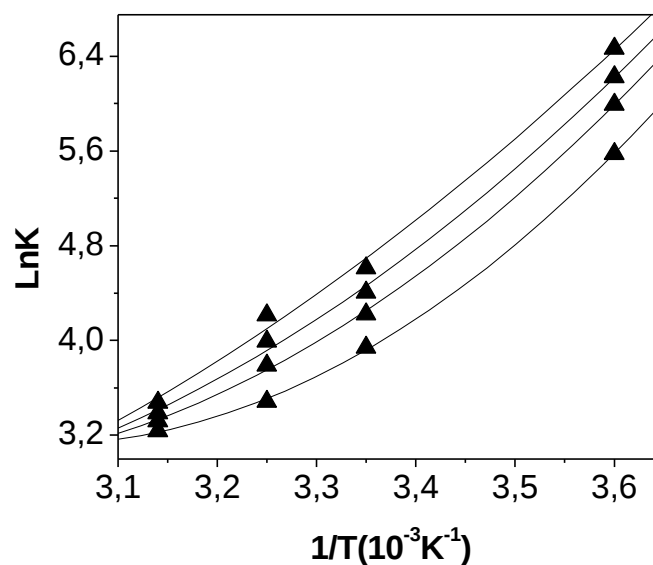


Figure 6. Non-linear Van'T Hoff equation for $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$ anion in ATPS formed by PEO () for four tie line lengths.

As is evident from the Figures 5 and 6, for each ATPS system, the partitioning coefficient decrease as the temperature increases, indicating that the $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$ anion transferring from the phosphate rich phase to the macromolecular rich phase, is an exothermic process. The natural logarithms of the observed values for K_{NP} fit a polynomial quadratic plot vs. $1/T$ with a correlation coefficient of 0.99 leading to enthalpic transfer energy values listed in Table 1. Using the classical thermodynamic relationship, $\Delta_{tr}G^0 = \Delta_{tr}H^0 - T\Delta_{tr}S^0$, it is possible obtain the entropy change associated with this transferring process (Table 1).

Table 1

Thermodynamic parameters obtained by non-linear Van'T Hoff equation for $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{-2}$ anion in ATPS formed by three different polymers at 25°C

ATPS	Thermodynamic Parameters	Tie line length			
		33.28	36.52	38.69	41.17
PEO	$\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ (kJ/mol)	-9.77±0.01	-10.47±0.06	-10.9±0.1	-11.4±0.1
	$\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ (kJ/mol)	-41.15±0.4	-47.05±0.9	-49±1	-53±1
	$\Delta_{\text{tr}}S^\circ$ (kJ/K.mol)	-0.105±0.001	-0.123±0.003	-0.130±0.003	-0.140±0.003
F68	$\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ (kJ/mol)	-7.61±0.06	-8.41±0.01	-8.89±0.06	-9.4±0,1
	$\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ (kJ/mol)	-39±4	-38±2	-35±3	-35.08±0.8
	$\Delta_{\text{tr}}S^\circ$ (kJ/K.mol)	-0.11±0.01	-0.102±0.007	-0.09±0.01	-0.086±0.003
L35	$\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ (kJ/mol)	-5.7±0.2	-6.96±0.03	-7.59±0.02	-8.17±0.04
	$\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ (kJ/mol)	-61±5	-76±1	-82.6±0.5	-86±1
	$\Delta_{\text{tr}}S^\circ$ (kJ/K.mol)	-0.19±0,02	-0.234±0.003	-0.252±0.002	-0.261±0.003

A first analysis of the Table 1 reveals that the partitioning of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ is enthalpic driven with a small decreasing in the system entropy. For the PEO/phosphate and L35/phosphate ATPS systems, as the TLL increases, the enthalpy and entropy of transfer became more negative. However, in the case of ATPS formed by F68, the thermodynamic variables, $\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ and $\Delta_{\text{tr}}S^\circ$

turn less negative, indicating the existence of the an endothermic molecular process that does not occur or does not contribute significantly to $\Delta_{tr}H^{\circ}$ values, in the PEO and L35 ATPS systems. A possible source of this small energy absorption could be changes in the micelle's aggregation number and/or size or the spontaneous transferring of water molecules from the macromolecular enriched phase to the salt concentrated phase, both caused by the presence of $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion in the solvation shell of the macromolecular segment. Interestingly, all the pentacyanonitrosylferrate anion enthalpy of transfer from the ATPS formed by L35 (more hydrophobic phase) was more exothermic, showing the following order: $|\Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{F68}}| < |\Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{PEO}}| < |\Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{L35}}|$.

In order to reveal more thermodynamic information about the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion partitioning, for example, the existence of a two-stateness process of transference [27], we did a comparison between the calorimetric enthalpy ($\Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{cal}}$) and Van't Hoff enthalpy ($\Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{vH}}$). The results are illustrated in Figure 7, where both enthalpies were plotted versus TLL.

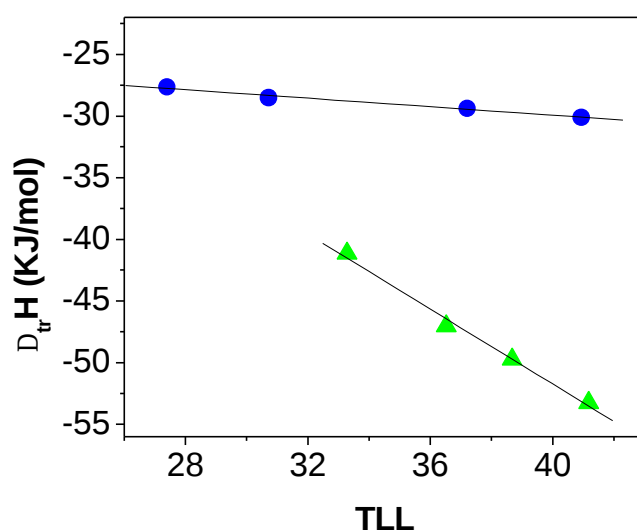


Figure 7. Comparison between $\Delta_{tr}H$ obtained by calorimetric measurements (●) and non-linear Van't Hoff equation (▲) in ATPS formed by PEO ($1500\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) at 25°C , forpentacyanonitrosylferrate anion ($[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$).

Decreasing TLL values, both enthalpies curves are approaching the same value, approximately -27.0 kJmol^{-1} , however for all other TLL there are a differences between the Van't Hoff and calorimetric enthalpies. In general, when $\Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{vH}} = \Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{cal}}$, the thermodynamic changes is regarded as a two-state process, with an infinite entropy difference between the two states, while when $\Delta_{tr}H^{\circ}_{\text{vH}} \neq$

$\Delta_{tr}H_{cal}^0$ there is a multi-step process or a two-step change occurring between two states with a very small entropy difference [27]. This approach has been widely applied, e.g., vapor sorption [28], micellar aggregation [29], coil-collapse transition of polymers [30], and protein folding [31].

One usually considers the ratio $k \equiv \frac{\Delta_{tr}H_{cal}}{\Delta_{tr}H_{vH}}$ to quantify the deviation from

$\Delta_{tr}H_{vH}^0$, and therefore from a thermodynamic two-stateness, for a given process of transferring. In the present case $0.53 < \kappa < 0.65$ showing that the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion move to the top phase causing innumerable changes (steps) leading to multi states with small entropy differences. Probably these states are related to changes in polymer/copolymers conformations and formation of aggregates.

The $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ enthalpy of transfer may be rationalized as a sum of seven independent processes, according to:

$$\Delta_{tr}H^0 = \Delta_{NP-W}H^0 + \Delta_{NP-S}H^0 + \Delta_{W-S}H^0 + \Delta_{S-W}H^0 + \Delta_{NP-M}H^0 + \Delta_{W-M}H^0 + \Delta_{S-M}H^0$$

(eq. 11)

where $\Delta_{i-j}H^0$ is the enthalpy of interaction between the components i and j. The components are: water (W), Salt (S), Macromolecules (M), $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ (NP). The main differences in the composition between the two phases are salt, enriched in bottom phase and macromolecules, enriched in top phase. Then, in the equation 9, the main contribution to pentacyanonitrosylferrate enthalpy of transfer are $\Delta_{NP-S}H^0$, $\Delta_{W-M}H^0$, $\Delta_{NP-M}H^0$ and $\Delta_{W-S}H^0$ with the two first terms positive (since for the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ to move from the bottom phase to the top phase, the systems should absorb energy to break the NP-salt and water-macromolecules interaction) and the last two terms are related to exothermic process. Then, the resultant $\Delta_{tr}H^0 < 0$ occur because $|\Delta_{NP-M}H^0 + \Delta_{W-S}H^0| > \Delta_{NP-S}H^0 + \Delta_{W-M}H^0$.

All the transfer thermodynamic properties obtained from ATPS formed by polymers and salts depend on long-range electrostatic interactions between the ions and short-range nonionic and ionic interactions with the uncharged macromolecules [32]. From this point of view, there is a great number of models describing these kinds of interactions, as for example, extended Debye-Hückel

expression used to ion-ion interaction [33], water-polymer interactions described by the extension of UNIQUAC-NRFL model [34] and ion-polymers interactions, calculated by the Brønsted-Guggenheim expression [35].

All these approaches are very complete and accurate, but unfortunately, they do not lead to any simple free energy equations and, consequently, produce more complex partitioning analysis. In order to obtain semi-quantitative description from the thermodynamic results associated with $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ transferring, we opted for a simpler model, derived from the Flory-Huggins theory, and that produces a semi-quantitative analytical expression for the partition coefficient. In these equations, derived by Haynes et. al [36], the enthalpic and entropic contributions to K are explicit, thereby allowing straightforward qualitative interpretation of driving forces dominating the spontaneous transference.

In the Haynes' model the entropic contribution to partitioning is described by equation 12.

$$\ln K = \frac{M}{r} \left(\frac{n^T}{V^T} - \frac{n^B}{V^B} \right) \quad (\text{eq.12})$$

where M is the molar mass of partitioning solute, n^T e n^B are the total number of molecules in the top and bottom phases, respectively, which result in a parameter called as phase density number when divided by volume phase, V^T and V^B .

As just pointed out, the pentacyanonitrosylferrate anion transferring process leads to a decrease in the entropy systems. Based on equation 11, this occurs due to the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ and its contra-ion that moves from a region with the highest density number (salt rich phase) to another (macromolecules rich phase) where the number of molecules by unit volume is lower.

In the ATPS studied here, the density number is determined basically by the water content. With increase in TLL occurs an increment in water concentration difference between the bottom and top phases, making more entropically unfavorable the transfer of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion. However, as shown by figure 8, as more water moves to the salt rich phase, higher becomes

the transference process of the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion, indicating a partitioning behavior driven by enthalpy change in agree with Van't Hoff enthalpy results.

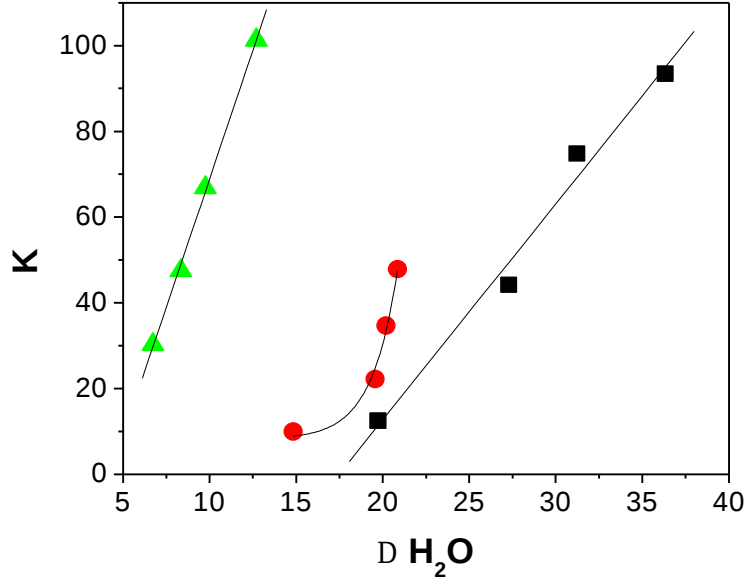


Figure 8. Partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers (▲) L35, (●) F68 and (■) PEO with phosphate salts (pH=7) at 25°C versus the difference of water (%w/w) between the bottom phase and top phase (D H₂O).

The model enthalpy contribution to the partitioning coefficient is given by equation 13.

$$\ln K = -\frac{M_S}{RT} \left[\sum_{i=1(i \neq S)}^m (\Phi_i^T - \Phi_i^B) w_{NP-i} - \sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 (\Phi_i^T \Phi_j^T - \Phi_i^B \Phi_j^B) w_{ij} \right] \quad (\text{eq.13})$$

where Φ_i^T and Φ_i^B are the volume fraction of the component i on the top phase and on the bottom phase, respectively, w_{ij} is the effective pair-wise interchange energy defined as: $w_{ij} = z[e_{ij} - \frac{1}{2}(e_{ii} + e_{jj})]$; z is the number of nearest neighbors and ϵ_{ij} is the potential energy of an i-j pair.

Based on the equation 13 the enthalpic contribution has two terms. The first is an energetic contribution for a direct interaction between the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion and all remaining components in each phase. The stronger is the NP-i interaction, i.e, more negative is w_{NP-i} , the more enthalpically favorable will be the transfer of the anion to the rich phase on the i component. Basically, based on the first term of equation 13, we can conclude that the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion concentration in the macromolecular rich phase occur

because of the a more favorable PEO-[Fe(CN)₅NO]⁻² (or L35-NP/F68-NP) interaction. As proposed by Aquino [11], a possible way to quantify the macromolecule-pentacyanonitrosylferrate anion interaction is to measure the change in the frequency of NO stretching band as the macromolecules concentration increase in the aqueous solutions. The figures 9 and 10 show the effect of F68 and L35 concentration on the NO frequency.

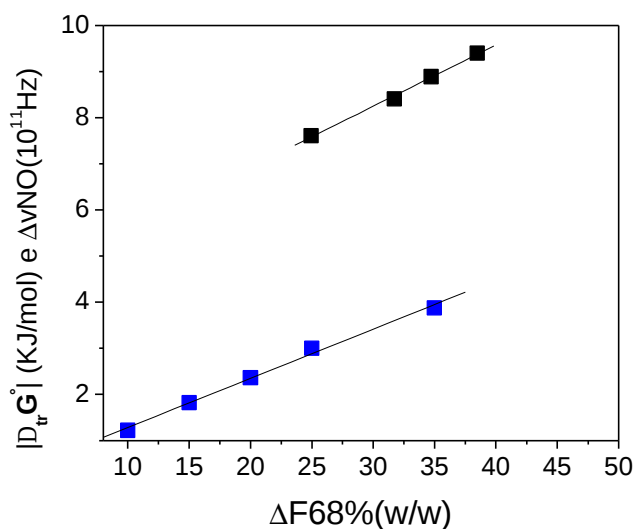


Figure 9. Graph of $|\Delta_{tr}G^\circ|$ the pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by F68 versus the between in %(w/w) of the copolymer between the top and bottom phases (■), at 25°C and ΔvNO of the anion versus the variation of the concentration of F68 in aqueous solution at 25°C (■).

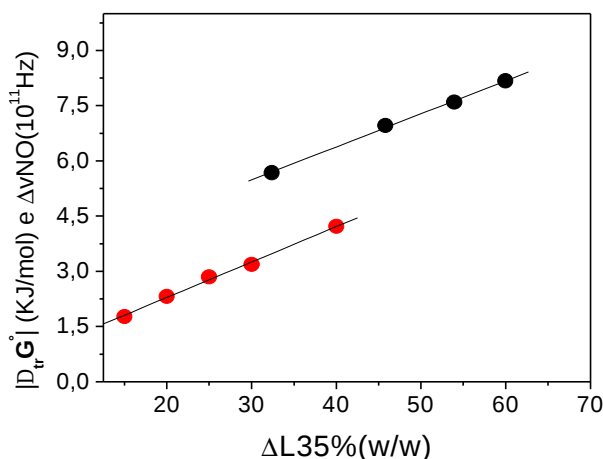


Figure 10. Graph of $|\Delta_{tr}G^\circ|$ the pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by L35 versus the between in %(w/w) of the copolymer between the top and bottom phases(●), at 25°C and ΔvNO of the anion versus the variation of the concentration of L35 in aqueous solution at 25°C (●).

Interestingly, when we plot $\Delta_{tr}G^0$ and Δv ($\Delta n = (n_{H_2O}^{NO} - n_{PEO/Solution}^{NO})$) versus Δ copolymer (F68 or L35) between the top and bottom phases, two parallel straight-line are obtained, suggesting that the NP-Macromolecule interaction caused, not only Δv , but also the $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$ transference.

In order to confirm the last conclusion we must estimate the contribution of the cavity formation energy to the $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$ process of transference. This evaluation could be done analyzing the second term on equation 13. The partitioning of the $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$ anion, imply to breaking unlike enthalpic interaction between forming top phase component (cavity formation process), while occuring simultaneously the formation of interactions between all compounds present in the bottom phase (cavity disrupting process). Since both processes are dependent on partitioning solute volume, it was decided to study the distribution of hexacyanoferrate $[Fe(CN)_6]^{-3}$, an anion with almost the same size as pentacyanonitrosylferrate, $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$, in order to evaluate the contribution of this enthalpic term.

Figures 11 and 12 show the dependence of the partitioning coefficient of $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$ and $[Fe(CN)_6]^{-3}$ in relation to TLL, for all ATPS studied at 25°C. A common trend is that the ratio $K_{NP}/K_{hex} \gg 1$ and the preferable $[Fe(CN)_5NO]^{-2}$ anion transferring behavior increase with the increase of phase hydrophobicity.

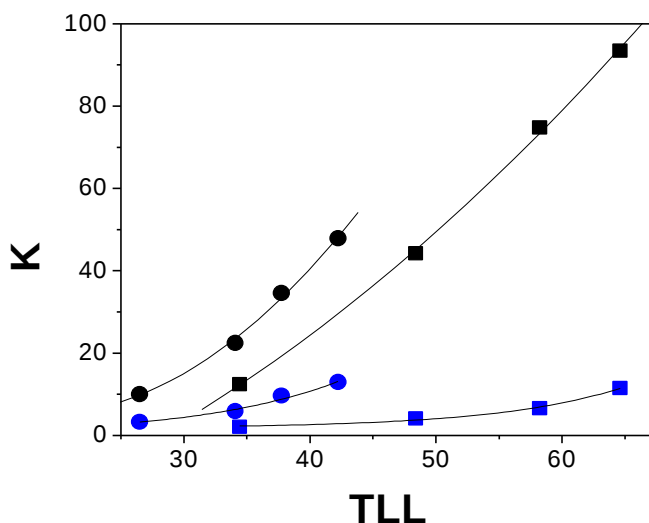


Figure 11. Comparison between the partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by mixture of triblock copolymers (●) L35 and (■) F68 with the partition coefficient (K) of hexacyanoferrate in L35 (○) and F68 (□) at 25°C versus tie line length (TLL).

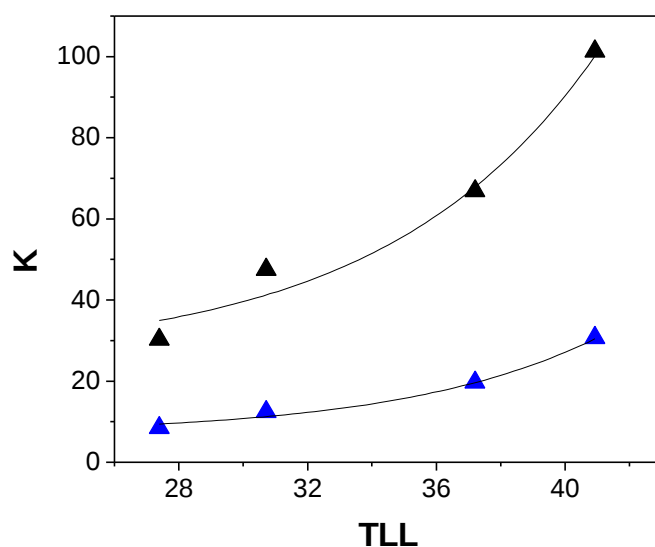


Figure 12. Comparison between the partition coefficient (K) of pentacyanonitrosylferrate anion in ATPS formed by PEO (●) with the partition coefficient (K) of hexacyanoferrate in PEO (●) at 25°C versus tie line length (TLL).

It can be concluded, from the Figures 11 and 12, that the cavity formation energy and the hydrophobic interaction had a low contribution to partitioning behavior of both inorganic complexes, confirming that, the main cause of transference of $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion to the top phase is a specific enthalpic interaction between this anion and macromolecules segments.

It is important to mention that the presence of nitrosyl group (NO) had an important effect on this intermolecular interaction, considered as change in free energy. However, it is very important to discriminate the entropic and enthalpic contribution to the transfer process of the $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. Both thermodynamic parameters were obtained by a non-linear Van't Hoff equation approach and the results are given in the Table 2.

Table 2

Thermodynamic parameters obtained by non-linear Van'T Hoff equation for $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anion in ATPS formed by three different polymers at 25°C

ATPS	Thermodynamic Parameters	Tie line length			
		33.28	36.52	38.69	41.17
PEO	$\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ (kJ/mol)	-6.46±0.05	-7.17±0.02	-7.77±0.03	-8.6±0.1
	$\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ (kJ/mol)	-40.65±0.5	-45.7±0.1	-49.4±0.1	-53.4±0.5
	$\Delta_{\text{tr}}S^\circ$ (kJ/K.mol)	-0.115±0.002	-0.1292±0.0003	-0.1396±0.0003	-0.150±0.002
F68	$\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ (kJ/mol)	-4.42±0.05	-5.15±0.04	-5.63±0.02	-6.17±0.01
	$\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ (kJ/mol)	-38±3	-43±2	-45±1	-48±1
	$\Delta_{\text{tr}}S^\circ$ (kJ/K.mol)	-0.11±0.01	-0.123±0.007	-0.135±0.003	-0.1419±0.0003
L35	$\Delta_{\text{tr}}G^\circ$ (kJ/mol)	-2.180±0.004	-2.32±0.01	-2.43±0.02	-2.59±0.02
	$\Delta_{\text{tr}}H^\circ$ (kJ/mol)	-38±3	-42±3	-45±3	-50±4
	$\Delta_{\text{tr}}S^\circ$ (kJ/K.mol)	-0.12±0.01	-0.13±0.01	-0.15±0.01	-0.16±0.01

Based on results shown in Tables 1 and 2, the difference in partitioning behavior observed for the two complexes is only originated from distinct entropic change when the anions move from the salt rich phase to the macromolecule rich phase. The transference of the $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ anion causes a larger decrease in the entropy of the systems, but almost the same decrease in transfer enthalpy change promoted by the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ partitioning.

In the Hayne's model the entropy change is due only to ATPS phases characteristics, not considering aspects related to the solute molecules. However, our data show that in the pentacyanonitrosylferrate anion

transference, some distinct molecular process occurs decreasing the loss of entropy. One possible reason for this lower entropy decrease is that the macromolecule- $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ interaction occurs releasing water molecules from the macromolecule and anion solvation shells, increasing the translation entropy of the water molecules in the top phase.

4. Conclusions

The study of the partitioning of two anion inorganic complexes, $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ and $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$, as model ions, was performed in different aqueous two phase systems, giving insights about the driving power governing the ion transference in ATPS. The triblock copolymers L35 and F68, and poly(ethylene oxide) were used as top phase forming components in order to investigate the influence of hydrophobicity on partitioning behavior. For all ATPS used, the partitioning coefficient of the nitrosyl complex was higher than the cyanocomplex, and this difference increases as the phase hydrophobicity enlarges. However, the effect of hydrophobic/hydrophilic balance on the K values was weaker than the effect of the nature of the forming ATPS electrolyte.

The pentacyanonitrosylferrate anion transfers preferably to the top phase due to specific enthalpic interaction between $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ anion and the macromolecular segments, as can be concluded from thermodynamic parameters obtained by the Van't Hoff approach and confirmed by calorimetric measurement. The entropy and enthalpy of transfer are negative, independent of tie-line length of the biphasic systems. The presence of nitrosyl group on the $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-2}$ complex had a strong effect in its partitioning behavior.

References

- [1] M. Shibukawa, N. Nakayama, T. Hayashi, D. Shibuya, Y. Endo, S. Kawamura, *Anal. Chim. Acta*, 427 (2001) 293.
- [2] A. E. Visser, S. T. Griffit, D. H. Hartman, R. D. Rogers, *J. Chromatogr. B*, 743 (2000) 107.

- [3] B.Y. Zaslavsky, *Aqueous Two Phase Partitioning: physical chemistry and bioanalytical applications*, Marcel Dekker, New York, 1995.
- [4] T. Zhang, W. Li, W. Zhou, H. Gao, J. Wu, G. Xu, J. Chen, H. Liu, J. Chen, *Hydrometallurgy*, 62 (2001) 41.
- [5] D. Fopntana, G. Ricci, *J. Chromatogr. B*, 243 (2000) 231.
- [6] R. D. Rogers, S. T. Griffin, *J. Chromatogr. B*, 711 (1998) 277.
- [7] N. Yoshikuni, T. Baba, N. Tsunoda, K. Oguma, *Talanta*, 66 (2005) 40.
- [8] R. D. Rogers, C. B. Bauer, *J. Chromatogr. B*, 680 (1996) 237.
- [9] R. D. Rogers, A. H. Bond, C. B. Bauer, *Sep. Sci. Technol.*, 28 (1993) 1091.
- [10] R. D. Rogers, J. Zhang, *J. Chromatogr. B*, 680 (1996) 231.
- [11] R.A.N.Aquino, MS thesis, Brazil, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, BR, 2004.
- [12] M. Li, T. L. Peeples, *J. Chromatogr. B*, 807 (2004) 69.
- [13] A. P. B. Rabelo, E. B. Tambourgi, A. P. Júnior, *J. Chromatogr. B*, 807 (2004) 61.
- [14] B. Bolognese, B. Nerli, G. Picó, *J. Chromatogr. B*, 814 (2005) 347.
- [15] E. S. M. Filho, J. S. R., L. A. Minim, L. H. M. Silva, A. J. A. Meirelles, *J. Chem. Eng. Data*, 47 (2002) 1346.
- [16] C. A. Fiske, I. Subarrow, *The Colorimetric Determination of Phosphorus*, *J. Biol. Chem.* 66 (1925) 375.
- [17] C. P. Carvalho, MS thesis, Brazil, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, BR, 2004.
- [18] R. I. Boysen, Y. Wang, H. H. Keah. M. T. W. Hearn, *Biophys. Chem.*, 77 (1999) 79.
- [19] M. Svenssom, P. Linse, F. Tjerneld, *Macromolecules*, 28 (1995) 3597.
- [20] M. Svensson, K. Berggren, A. Veide, F. Tjerneld, *J. Chromatogr. A*, 839 (1999) 71.
- [21] L. H. M. Silva, M. C. H. Silva, A. F. Mesquita, K. S. Nascimento, J. S. R. Coimbra, L. A. Minim, *J. Chem. Eng. Data*, 50 (2005) 1457.
- [22] P. Alexandridis, T. A. Hatton, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 96 (1995) 1.

- [23] S. T. Griffin, S. K. Spear, R. D. Rogers, *J. Chromatogr. B*, 807 (2004) 151.
- [24] T. A. Graber, B. A. Andrews, J. A. Asenjo, *J. Chromatogr. B*, 743 (2000) 57.
- [25] R. D. Rogers, J. Zhang, S. T. Griffin, *Sep. Sci. Technol.*, 32 (1997) 699.
- [26] J. G. Huddleston, H. D. Willauer, R. D. Rogers, *J. Chromatogr. B*, 743 (2000) 137.
- [27] A. Bakk, R. Metzler, *Chem. Phys. Lett*, 398 (2004) 190.
- [28] R. J. Wison, A. E. Beezer, *Int. J. Pharm.*, 258 (2003) 77.
- [29] S. A. Leharne, *J. Therm Anal. Calorim.*, 69 (2002) 465.
- [30] Y. Yamazaki, T. Tada, S. Kimugi, *Colloid Polym. Sci.*, 278 (2000) 80
- [31] B.-L. Chen, J. A. Schellman, *Biochemistry*, 28 (1989) 685.
- [32] B. L. Rivas, E. D. Pereira, I. M. Villoslada, *Prog. Polym. Sci.*, 28 (2003) 173.
- [33] X. Xu, P. P. Madeira, E. A. Macedo, *Chem. Eng. Sci.*, 59 (2004) 1153.
- [34] A. Haghtalab, B. Mokhtarani, *Fluid Phase Equilibria*, 180 (2001) 139.
- [35] M. Wang, Y. Zhang, M. Muhanned, *Hydrometallurgy*, 45 (1997) 21.
- [36] H. -O. Johansson, G. Karlström, F. Tjerneld, C. A. Haynes, *J. Chromatogr. B*, 711 (1998) 3.

APÊNDICE

Tabela 1. Composições globais utilizadas para a partição dos complexos em sistemas aquosos bifásicos formados por PEO/ fosfato de potássio (pH=7)/água

Temperatura (°C)	Ponto Global	Composição	
		PEO%(m/m)	SAL%(m/m)
5	1	15,85	10,60
	2	17,11	12,07
	3	17,86	13,19
	4	19,60	14,85
	5	20,84	16,39
25	1	15,97	11,27
	2	16,96	11,97
	3	17,96	13,01
	4	19,32	14,00
35	1	14,49	11,14
	2	15,82	10,65
	3	16,65	11,66
	4	17,33	12,51
	5	18,68	12,87
45	1	15,44	10,70
	2	16,32	11,52
	3	17,55	12,50
	4	18,69	13,71
	5	19,67	16,12

Tabela 2. Composições globais utilizadas para a partição dos complexos em sistemas aquosos bifásicos formados por F68/ fosfato de potássio (pH=7)/água

Ponto	Sistemas a 10°C		Sistemas a 25°C		Sistemas a 45°C	
Global	F68%(m/m)	Sal%(m/m)	F68%(m/m)	Sal%(m/m)	F68%(m/m)	Sal%(m/m)
1	14,25	7,98	14,02	6,99	12,99	5,99
2	17,02	9,97	17,02	7,99	15,99	7,99
3	20,12	10,99	18,99	8,97	18,99	8,99
4	21,89	12,79	22,07	10,99	20,93	9,96

Tabela 3. Composições globais utilizadas para a partição dos complexos em sistemas aquosos bifásicos formados por L35/ fosfato de potássio (pH=7)/água.

Ponto	Sistemas a 10°C		Sistemas a 25°C		Sistemas a 45°C	
Global	L35%(m/m)	Sal%(m/m)	L35%(m/m)	Sal%(m/m)	L35%(m/m)	Sal%(m/m)
1	13,11	9,99	12,78	8,83	21,07	4,99
2	18,36	14,00	17,15	11,98	30,15	6,99
3	22,99	16,99	20,07	14,92	38,03	8,77
4	28,22	20,99	24,01	16,96	47,06	10,98