
Análisis de los parámetros del modelo NRTL para aminoácidos en mezclas de etanol-agua, empleando el enfoque de la solubilidad relativa

Andrés Rivera* Armando Espinosa¹

Grupo de Investigación en procesos Químicos y Bioquímicos, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Analysis of the NRTL parameters for amino acids in ethanol-water mixtures, using the approach of relative solubility

Anàlisi dels paràmetres del model nrtl per aminoàcids en mesclades d'etanol-aigua, emprant l'enfocament de la solubilitat relativa

Recibido: 9 de octubre de 2014; revisado: 21 de marzo de 2015; aceptado: 16 de abril de 2015

RESUMEN

Este artículo presenta un análisis alternativo al realizado por Ferreira y colaboradores, sobre datos de solubilidad de aminoácidos en soluciones etanol-agua, mediante la correlación de los parámetros del modelo NRTL. El examen inicial de los parámetros energéticos, para el sistema etanol-agua, mostró una alta correlación que permitió una representación por medio de un modelo modificado de un único parámetro y una regla de mezcla basada en la entalpia de vaporización de los componentes puros. Con la información del sistema de solventes y solubilidad de aminoácidos, a diferentes condiciones experimentales, se ajustó del modelo NRTL por medio de un algoritmo híbrido estocástico-determinístico, con el enfoque de solubilidad relativa. El análisis estadístico de los parámetros hallados demuestra que el modelo conduce a valores altamente correlacionados y que, por lo tanto, no son independientes. Los resultados indican que la diferencia de afinidades del soluto por los solventes surge como una variable natural para describir el proceso de disolución.

Palabras clave: Modelo NRTL, aminoácidos, solubilidad, etanol, agua, correlación.

SUMMARY

This article presents an alternative analysis to that carried out by Ferreira and collaborators, through the correlation of the model parameters of the NRTL, using solubility data of amino acids in ethanol-water mixtures. The initial review of the energy parameters, for ethanol-water system, showed a high correlation that allowed a representation with a one-parameter model and a mixing rule based on the enthalpy of vaporization of pure components. With the information of the system and solvent solubility of amino acids, to different experimental conditions, the NRTL model was adjusted, using the approach of relative solubility,

with an stochastic-deterministic hybrid algorithm. The statistical analysis of the parameters shows that the model leads to highly correlated values and, therefore, are not independent. Results indicate that the difference of affinities of the solute in the solvent arises as a natural variable to describe the process of dissolution.

Keywords: NRTL model, amino acids, solubility, ethanol, water, correlation.

RESUM

Aquest article presenta una anàlisi alternatiu al realitzat per Ferreira i col·laboradors, sobre dades de solubilitat d'aminoàcids en solucions etanol-aigua, mitjançant la correlació dels paràmetres del model NRTL. L'examen inicial dels paràmetres energètics, per al sistema etanol-aigua, va mostrar una alta correlació que va permetre una representació per mitjà d'un model modificat d'un únic paràmetre i una regla de mescla basada en l'entalpia de vaporització dels components purs. Amb la informació del sistema de solvents i solubilitat d'aminoàcids, sota diferents condicions experimentals, es va ajustar el model NRTL per mitjà d'un algoritme híbrid estocàstic-determinista, amb l'enfocament de la solubilitat relativa. L'anàlisi estadística dels paràmetres trobats demostra que el model condueix a valors altament correlacionats i que, per tant, no són independents. Els resultats indiquen que la diferència d'afinitats del solut pels solvents sorgeix com una variable natural per descriure el procés de dissolució.

Paraules clau: Model NRTL; aminoàcids; solubilitat; etanol; aigua; correlació.

*Autor para la correspondencia: *afriverag@unal.edu.co
Tel: +57+1+3165000 ext 14322. ¹aespinosah@unal.edu.co
Tel: +57+1+3165000 ext 14097.

INTRODUCCIÓN

El análisis termodinámico de sistemas acuosos de proteínas y aminoácidos es de gran importancia para la industria [1-3]. Algunas operaciones de separación en el área de bioprocesos, como la cristalización y extracción con solventes, requieren de modelos que describan de forma precisa el comportamiento en solución de los compuestos ya mencionados. Desde hace varios años, diversos investigadores han estudiado de manera experimental la solubilidad de los aminoácidos en solución. Needham, y colaboradores [4, 5] evaluaron la solubilidad de diferentes aminoácidos en solventes puros y mezclas, y concluyeron que el comportamiento depende principalmente del balance entre la contribución de los segmentos no polares y la polaridad inducida por la autoprotónación; adicionalmente, lograron realizar ajustes empíricos para predecir la solubilidad en mezclas de solventes.

Gran parte de los esfuerzos investigativos se han enfocado en la derivación teórica de modelos para ajustar el proceso de disolución. Ferrerira y colaboradores [2] estudiaron la solubilidad de aminoácidos en soluciones alcohol-agua utilizando la ecuación de estado PC-SAFT para lo cual se requirió, además de las propiedades de los componentes puros, el ajuste de un parámetro de interacción para el par soluto-solvente. Chen y colaboradores [6] ajustaron la solubilidad de aminoácidos en agua y otros solventes con el modelo NRTL para electrolitos; en comparación, Pinho y colaboradores [7], al igual que Figueiredo y colaboradores [3], modificaron el modelo UNIFAC adicionando un término tipo Debye-Huckel para obtener los parámetros de los grupos característicos de aminoácidos y péptidos, no obstante, estos últimos notaron que para lograr un buen ajuste se requiere la adición de grupos que, aunque poseen la misma estructura, difieren en la posición y entorno molecular. Orella y Kirwan [8] inicialmente presentaron un estudio experimental donde determinaron la solubilidad de varios aminoácidos en mezclas acuosas de alcoholes para, posteriormente, introducir el concepto de solubilidad en exceso y realizar el ajuste con el modelo de Wilson [9]. Yuan y colaboradores [10] consiguieron el ajuste de la solubilidad del ácido dl-málico con la ecuación de Apelblat y λh a varias temperaturas y relaciones alcohol-agua, sin embargo, estos autores no proponen ninguna relación para estimar los coeficientes de ajuste a partir del conocimiento del contenido de alcohol. Es importante puntualizar que los modelos de composición local, como NRTL, generalmente presentan una gran correlación en los parámetros energéticos obtenidos por regresión de datos experimentales, dando lugar a la aplicación de modelos en los que las interacciones de cada par se pueden representar por un único parámetro ajustable [11-14].

METODOLOGÍA

El presente trabajo se llevó a cabo en dos etapas: análisis del equilibrio líquido-vapor (ELV) de mezclas etanol-agua y estudio del equilibrio de solubilidad de los aminoácidos (ESA): glicina, dl-alanina, l-serina, l-treonina, l-isoleucina en estas mezclas. En todos los casos se empleó el modelo NRTL para interpretar los datos.

Modelos termodinámicos

El sistema etanol-agua fue caracterizado a partir de los

resultados reportados por Voutsas y colaboradores [15]. Se consideró el modelo de Hayden O'Connell [12] para realizar la evaluación del coeficiente de fugacidad en la fase vapor y el modelo NRTL para el coeficiente de actividad (ecuaciones 1 a 3) [16].

$$\ln(\gamma_A) = x_B^2 \left[\tau_{B,A} \left(\frac{G_{B,A}}{x_A + x_B G_{B,A}} \right)^2 + \frac{\tau_{A,B} G_{A,B}}{(x_B + x_A G_{A,B})^2} \right] \quad (1)$$

$$G_{A,B} = \exp(-\alpha_{A,B} \tau_{A,B}) \quad (2)$$

$$\tau_{A,B} = \frac{\lambda_{A,B} - \lambda_{B,B}}{R T} = \frac{g_{A,B}}{R T} \quad (3)$$

Donde γ es el coeficiente de actividad, $g(\text{cal/mol})$ es el parámetro energético de interacción, $R(\text{cal/mol K})$ es la constante universal de los gases, $T(\text{K})$ es la temperatura, α es el parámetro de no aleatoriedad, λ (cal/mol) es la energía de referencia del par, x es la fracción molar y G , τ son parámetros propios del modelo NRTL. La propuesta de Vetere [11], basada en el método de Tassios [17], fue usada para ajustar el sistema con un único parámetro (Ecuaciones 4 y 5).

$$\lambda_{A,A} = -(H_{v,A} - R T) \quad (4)$$

$$\lambda_{A,B} = \lambda_{B,A} = K_{A,B} \sqrt{\lambda_{A,A} \lambda_{B,B}} \quad (5)$$

Donde H_v (cal/mol) es el calor de vaporización, calculado por medio de una expresión en función de la temperatura reducida [18], y K es la constante de corrección de la regla de mezcla.

Solamente se usaron los resultados de Ferreira y colaboradores [19, 20] para el sistema etanol (1, EtOH)-agua (2, W)-aminoácido (3, AA), con el fin de evitar el ruido generado por las diferencias en los métodos experimentales, tal como fue encontrado por Yuan y colaboradores [10] al analizar y comparar datos de solubilidad del ácido dl-málico. Debido a la baja solubilidad de los aminoácidos en soluciones acuosas de alcoholes, se emplearon los coeficientes de actividad a dilución infinita (Ecuación 6) [9, 19]. La relación de coeficientes de actividad fue empleada como una aproximación a la relación de fracciones molares, tal como fue demostrado por Orella y Kirwan (Ecuación 7) [9]. Se fijaron los parámetros de no aleatoriedad del aminoácido en 0.02 y 0.05 para el etanol y agua respectivamente [19].

$$\ln(\gamma_{A,mix}^\infty) = \frac{\tau_{B,A} G_{B,A} x'_B + \tau_{C,A} G_{C,A} x'_C}{G_{B,A} x'_B + G_{C,A} x'_C} + \frac{x'_B G_{A,B}}{x'_B + G_{C,B} x'_C} \left[\tau_{A,B} + \frac{x'_C \tau_{C,B} G_{C,B}}{x'_B + G_{C,B} x'_C} \right] + \frac{x'_C G_{A,C}}{G_{B,C} x'_B + x'_C} \left[\tau_{A,C} + \frac{x'_B \tau_{B,C} G_{B,C}}{G_{B,C} x'_B + x'_C} \right] \quad (6)$$

$$\frac{x_{AA,mix}}{x_{AA,W}} = \frac{\gamma_{AA,W}}{\gamma_{AA,mix}} \approx \frac{\gamma_{AA,W}^\infty}{\gamma_{AA,mix}^\infty} \quad (7)$$

Regresión de datos

La función objetivo (F_{-obj}), basada en el cuadrado de la diferencia ponderada (Ecuación 8) [20], fue minimizada en la regresión de los parámetros energéticos. Para la prime-

ra y segunda etapa ψ representa el coeficiente de actividad y relación de fracciones molares, respectivamente.

$$F_{obj} = \sum \left(\frac{\psi_{exp} - \psi_{calc}}{\psi_{exp}} \right)^2 \quad (8)$$

El algoritmo empleado tiene una fase estocástica y una determinística. La búsqueda inició por medio de un algoritmo genético, para posteriormente, ser refinada con un algoritmo simplex secuencial. Figueiredo y colaboradores [3] también emplearon el algoritmo simplex secuencial para ajustar el modelo UNIFAC a la solubilidad de aminoácidos, sin embargo, el uso previo del algoritmo genético al inicio permite aumentar las probabilidades de encontrar el óptimo global. Como indicadores de la regresión se calcularon: el coeficiente de determinación ajustado (R^2_{aj}), error cuadrado medio (s), correlación de los coeficientes (ρ_{ij}) y el número de condición (κ), además se realizó la gráfica de las regiones (no-lineales) de confianza al 80 y 95%. Los modelos y el programa de regresión fueron implementados en la versión R2012a de 32bits del software Matlab®.

RESULTADOS

La Tabla 1 Resultados del modelo NRTL con dos parámetros para el ELV muestra los resultados obtenidos en la regresión del ELV. El valor absoluto de los coeficientes de correlación, cercano a 1, indica posibles problemas de falta de identificabilidad de los parámetros; sin embargo, el número de condición es menor al valor de 30, límite superior recomendado para evitar problemas de multicolinealidad [21].

Las regiones de confianza del 80 y 95% (Figura 1 Regiones de confianza para el modelo NRTL con dos parámetros para el ELV), que representan la distribución de la incertidumbre asociada con la regresión, son bastante similares a elipses alargadas, comportamiento esperado por el elevado coeficiente de correlación. Cabe señalar que los parámetros encontrados son consistentes con los reportados en la literatura abierta (Tabla 2 Parámetros del modelo NRTL con dos parámetros para el ELV reportados en la literatura).

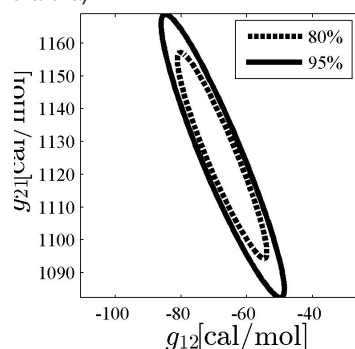


Figura 1 Regiones de confianza para el modelo NRTL con dos parámetros para el ELV.

Tabla 1 Resultados del modelo NRTL con dos parámetros para el ELV

α	$g_{EtOH,W}(\sigma_g)$	$g_{W,EtOH}(\sigma_g)$	R^2_{aj}	$s \times 10^4$	κ	ρ_{ij}
0.3	-68 (8)	1126(17)	0.9954	4.3761	7.5	-0.9330
0.183	-360(12)	1440(23)	0.9953	4.3997	11.0	-0.9744

Tabla 2 Parámetros del modelo NRTL con dos parámetros para el ELV reportados en la literatura

Fuente	α	$g_{EtOH,W}$	$g_{W,EtOH}$
Voutsas et al[15]	0.3 @ 313 K	-38	1039
Springer et al[22]	0.2937	-58	1242
Ferreira et al [19]	0.183 @ 313 K	-392	1443

Por otro lado, la regresión del modelo con un único parámetro (Tabla 3 Resultados del ajuste del modelo NRTL con un parámetro para el ELV) mostró que el mejor ajuste se consigue con el parámetro de 0.3. Vetere [11] reporta un valor de 0.975 para la constante de corrección de la regla de mezcla para el sistema a 50 °C, que a diferencia del encontrado en este trabajo es inferior a la unidad. Ya que se emplearon datos experimentales de diferentes fuentes y un parámetro de no-aleatoriedad diferente, no es posible afirmar que la diferencia sea estadísticamente significativa.

Tabla 3 Resultados del ajuste del modelo NRTL con un parámetro para el ELV

α	$K_{ij}(\sigma_K)$	R^2_{aj}	$s \times 10^4$
0.3	1.0385 (0.0005)	0.9269	44
0.183	1.0357 (0.0005)	0.9042	57

Los resultados, presentados en la Figura 2 Datos experimentales y calculados de los coeficientes de actividad para el ELV, para una presión de 19.7 kPa, permiten observar que el modelo de dos parámetros consigue un mejor ajuste; sin embargo, el modelo de un parámetro permite caracterizar el equilibrio con otra perspectiva. La desviación respecto a una regla de mezcla geométrica puede ser generalizada según la naturaleza de la mezcla, lo que permite estimar la constante de corrección con el conocimiento de los compuestos involucrados, logrando una forma predictiva de NRTL [11].

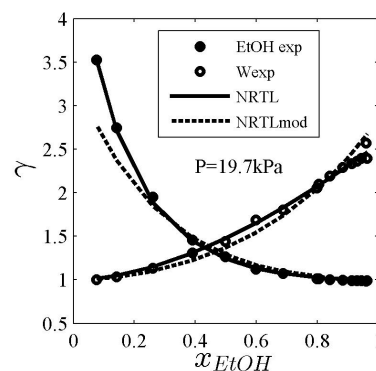


Figura 2 Datos experimentales y calculados de los coeficientes de actividad para el ELV.

La regresión de los datos de disolución de aminoácidos se realizó con los dos parámetros de no-aleatoriedad anali-

Tabla 4 Resultados del modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y dos parámetros para el ELV

	$\alpha = 0.3$			$\alpha = 0.183$		
	$g_{E,AA}(\sigma_g)$	$g_{W,AA}(\sigma_g)$	Δg	$g_{E,AA}(\sigma_g)$	$g_{W,AA}(\sigma_g)$	Δg
glicina	3075 (293)	704 (298)	2371	4125 (293)	1736 (298)	2389
dl-alanina	2342 (315)	397 (318)	1945	3153 (315)	1189 (318)	1964
l-serina	2228 (218)	-415 (207)	2643	2811 (218)	117 (207)	2694
l-treonina	2668 (283)	467 (284)	2201	3580 (283)	1355 (284)	2225
l-isoleucina	440 (485)	-702 (470)	1142	375 (485)	-765 (470)	1140

Tabla 6 Resultados del modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y un parámetro para el ELV

	$\alpha = 0.3$			$\alpha = 0.183$		
	$g_{E,AA}(\sigma_g)$	$g_{W,AA}(\sigma_g)$	Δg	$g_{E,AA}(\sigma_g)$	$g_{W,AA}(\sigma_g)$	Δg
glicina	3824 (358)	1431 (373)	2393	5147 (532)	2781 (579)	2366
dl-alanina	2841 (383)	876 (392)	1965	3806 (576)	1841 (608)	1965
l-serina	2941 (270)	236 (263)	2707	3849 (391)	1094 (389)	2755
l-treonina	3283 (337)	1057 (345)	2226	4427 (498)	2207 (528)	2220
l-isoleucina	85 (543)	-1036 (515)	1121	-460 (842)	-1532 (769)	1072

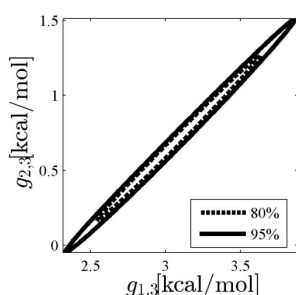
zados anteriormente, 0.3 y 0.183 (Tabla 4). Durante las regresiones se encontró que para cada aminoácido existen dos regiones óptimas: la primera región comprendida en el intervalo -2 a 5 kcal/mol y otra entre 17 y 29 kcal/mol. Al comparar las respuestas se encontró que el óptimo global se encuentra en la primera región, con mejores coeficientes de determinación y menores errores. Los valores encontrados con cada parámetro de no-aleatoriedad difieren considerablemente; sin embargo, la diferencia de energías es relativamente constante.

El diagnóstico estadístico de la regresión (Tabla 5 Resultados estadísticos para el modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y dos parámetros para el ELV), especialmente el coeficiente de determinación, indica que en la mayoría de los casos el modelo representa adecuadamente los datos experimentales, exceptuando la l-isoleucina. Los coeficientes de correlación, cercanos a 1, y números de condición, mayores a 20, son fuertes indicios estadísticos para considerar una alta relación entre los parámetros regresados. Por otra parte, el ángulo de inclinación (ω) de las elipses de confianza al ser cercano a 45° (Figura 3), muestra que la diferencia de los parámetros es constante, independiente de los parámetros del ELV empleados. Debido a esta información, se observa que una variable natural para analizar el sistema, en función de la solubilidad relativa, es la diferencia de afinidades (energías) del aminoácido por cada solvente en la mezcla.

Tabla 5 Resultados estadísticos para el modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y dos parámetros para el ELV

	ρ_{ij}	ω	κ	R_{aj}^2	s
glicina	0.9968	45	24.9	0.9954	0.0217
dl-alanina	0.9970	45	25.9	0.9950	0.0245
l-serina	0.9970	44	25.9	0.9946	0.0124
l-treonina	0.9970	45	25.9	0.9915	0.0204
l-isoleucina	0.9971	44	26.2	0.8978	0.0658

A



B

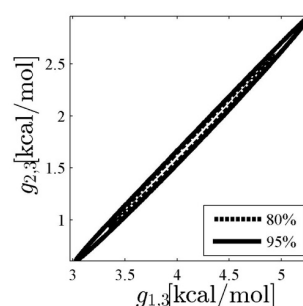


Figura 3 Regiones de confianza modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y dos parámetros para el ELV. A) $\alpha=0.3$, B) $\alpha=0.183$.

Cuando se emplea un único parámetro para representar la interacción entre los solventes, en el modelo de disolución de aminoácidos, se observan desviaciones que van desde 25 hasta 200% para los parámetros energéticos individuales; sin embargo, la máxima desviación para la diferencia de energía es apenas de 6% (Tabla 6). En el caso de la l-isoleucina, se tiene una incertidumbre que incluso afecta el signo del parámetro del alcohol-aminoácido. La diferencia de afinidades surge, nuevamente, como una variable natural para el sistema. Los resultados comprueban que al usar parámetros consistentes con ELV, se llega a un modelo para el cual la diferencia de afinidades entre el aminoácido y los solventes permanece constante.

Los indicadores estadísticos de la regresión (Tabla 7 Resultados estadísticos para el modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y un parámetro para el ELV) son bastante cercanos a los obtenidos para el modelo anterior, incluso superiores; sin embargo, el diagnóstico confirma problemas de multicolinealidad en este escenario. Los coeficientes de correlación son superiores al modelo anterior y el número de condición supera el límite de 30. El ángulo de inclinación de la elipse de confianza se mantiene cercano a 45°.

Tabla 7 Resultados estadísticos para el modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y un parámetro para el ELV

	ρ_{ij}	ω	κ	R_{aj}^2	s
glicina	0.9988	47	41.7	0.9950	0.0214
dl-alanina	0.9990	47	45.1	0.9953	0.0235
l-serina	0.9989	45	42.3	0.9931	0.0128
l-treonina	0.9990	47	44.3	0.9926	0.0185
l-isoleucina	0.9992	42	50.6	0.9087	0.0535

Los resultados obtenidos por Ferreira y colaboradores [19, 20] se distribuyen en el rango de 5- 17 kcal/mol (Tabla 8 Parámetros energéticos del modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y dos parámetros para el ELV de la literatura [19, 20]), valores que se encuentran entre las dos regiones óptimas identificadas en este trabajo. Como los investigadores incluyeron en su análisis datos de solubilidad de otras fuentes no es posible realizar una comparación directa. En el presente estudio, se prefirió emplear únicamente una fuente de información para garantizar la consistencia interna de los datos y evitar el ruido inducido por el uso de diferentes técnicas analíticas en la recolección de datos experimentales.

Tabla 8 Parámetros energéticos del modelo NRTL con dos parámetros para el ESA y dos parámetros para el ELV de la literatura [19, 20]

	$\alpha = 0.183 @ 316 K$	
	g_{EA}	g_{WA}
glicina	5935	6823
dl-alanina	7280	9259
l-serina	9151	11589
l-treonina	14697	17290
l-isoleucina	13386	16880

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se desarrolló un análisis alternativo para la descripción del ELV y la solubilidad de aminoácidos en mezclas etanol-agua con el modelo NRTL, basado en datos experimentales previamente publicados, con la intención de rescatar el significado físico de los parámetros de ajuste, ya que trabajos anteriores han logrado mejorar la precisión del ajuste a costa de la pérdida de dicho significado. Debido a la alta correlación de los parámetros energéticos del sistema etanol-agua para el ELV es posible emplear un modelo de un único parámetro, que por medio de reglas empíricas puede derivar en un modelo predictivo[11]. La regla de mezcla geométrica basada en la entalpía de vaporización de los componentes puros [17] ajustada con un parámetro de corrección permite una descripción competente de los coeficientes de actividad; sin embargo, el modelo de dos parámetros sigue presentando los datos experimentales con una mayor precisión según los indicadores estadísticos.

La Figura 4 Datos experimentales y ajuste con los modelos basados en NRTL. muestra el alto ajuste logrado para el ESA, exceptuando el caso de la l-isoleucina. El análisis de los parámetros regresados permitió observar la elevada correlación existente entre los dos parámetros y postular que la diferencia de afinidades (energías), entre el aminoácido y los solventes, es una variable que surge de forma natural para describir la solubilidad relativa en estos sistemas. Desde la publicación de Gude [23], sobre un modelo de un único parámetro para aminoácidos, se han realizado análisis comparativos de modelos tradicionales como Wilson, NRTL y UNIQUAC, que reclaman mejores ajustes con un incremento en el número de parámetros empleados; sin embargo, el diagnóstico para el modelo NRTL indica que los parámetros ajustados están altamente relacionados y debería ser posible encontrar un modelo subyacente que mantenga las posibilidades de representación con un único parámetro.

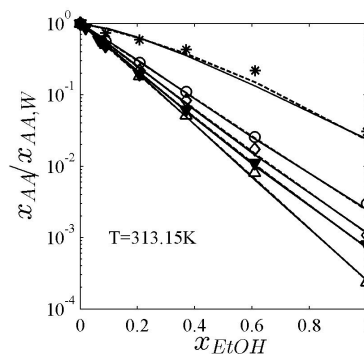


Figura 4 Datos experimentales y ajuste con los modelos basados en NRTL.

BIBLIOGRAFÍA

- Kontogeorgis, G.M. and G.K. Folas, *Thermodynamic models for industrial applications : from classical and advanced mixing rules to association theories*. 2010, Chichester, U.K.: Wiley. xxxi, 692 p.
- Ferreira, L.A., et al., *Thermodynamic Modeling of Several Aqueous Alkanol Solutions Containing Amino Acids with the Perturbed-Chain Statistical Associated Fluid Theory Equation of State*. Ind. Eng. Chem. Res., 2009. **48**(11): p. 5498-5505.
- Figueiredo, B.R., F.A. Da Silva, and C.M. Silva, *Non-ideality and Solubility Modeling of Amino Acids and Peptides in Aqueous Solutions: New Physical and Chemical Approach*. Ind. Eng. Chem. Res., 2013. **52**(45): p. 16044-16056.
- Needham, T.E., A.N. Paruta, and R.J. Gerraughty, *Solubility of amino acids in mixed solvent systems*. J. Pharm. Sci., 1971. **60**(2): p. 258-260.
- Needham, T.E., Jr., A.N. Paruta, and R.J. Gerraughty, *Solubility of amino acids in pure solvent systems*. J. Pharm. Sci., 1971. **60**(4): p. 565-7.
- Chen, C.-C., Y. Zhu, and L.B. Evans, *Phase Partitioning of Biomolecules: Solubilities of Amino Acids*. Biotechnol. Prog., 1989. **5**(3): p. 111-118.
- Pinho, S.P., C.M. Silva, and E.A. Macedo, *Solubility of Amino Acids: A Group-Contribution Model Involving Phase and Chemical Equilibria*. Ind. Eng. Chem. Res., 1994. **33**(5): p. 1341-1347.
- Orella, C.J. and D.J. Kirwan, *The Solubility of Amino Acids in Mixtures of Water and Aliphatic Alcohols*. Biotechnol. Prog., 1989. **5**(3): p. 89-91.
- Orella, C.J. and D.J. Kirwan, *Correlation of amino acid solubilities in aqueous aliphatic alcohol solutions*. Ind. Eng. Chem. Res., 1991. **30**(5): p. 1040-1045.
- Yuan, Y., et al., *Solubility of dl-malic acid in water, ethanol and in mixtures of ethanol + water*. Fluid Phase Equilib., 2014. **377**(0): p. 27-32.
- Vetere, A., *The NRTL equation as a predictive tool for vapor-liquid equilibria*. Fluid Phase Equilib., 2004. **218**(1): p. 33-39.
- Prausnitz, J.M., *Computer calculations for multicomponent vapor-liquid and liquid-liquid equilibria*. Prentice-Hall international series in the physical and chemical engineering sciences. 1980, Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall. xiii, 353 p.
- Poling, B.E., J.M. Prausnitz, and J.P. O'Connell, *The properties of gases and liquids*. 5th ed. 2001, New York: McGraw-Hill.

-
14. Fabries, J.-F. and H. Renon, *Method of evaluation and reduction of vapor-liquid equilibrium data of binary mixtures*. AIChE J., 1975. **21**(4): p. 735-743.
 15. Voutsas, E.C., et al., *Measurements and thermodynamic modeling of the ethanol-water system with emphasis to the azeotropic region*. Fluid Phase Equilib., 2011. **308**(1-2): p. 135-141.
 16. Prausnitz, J.M., R.N. Lichtenthaler, and E.G.d. Azevedo, *Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria*. 3rd ed. Prentice-Hall international series in the physical and chemical engineering sciences. 1999, Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall PTR. xxiii, 860 p.
 17. Tassios, D., *A single-parameter equation for isothermal vapor-liquid equilibrium correlations*. AIChE J., 1971. **17**(6): p. 1367-1371.
 18. Perry, R.H., D.W. Green, and J.O. Maloney, *Perry's chemical engineers' handbook*. 7th ed. 1997, New York: McGraw-Hill.
 19. Ferreira, L.A., E.A. Macedo, and S.P. Pinho, *Solubility of amino acids and diglycine in aqueous-alkanol solutions*. Chem. Eng. Sci., 2004. **59**(15): p. 3117-3124.
 20. Ferreira, L.A., S.P. Pinho, and E.A. Macedo, *Solubility of L-serine, L-threonine and L-isoleucine in aqueous aliphatic alcohol solutions*. Fluid Phase Equilib., 2008. **270**(1-2): p. 1-9.
 21. Belsley, D.A., E. Kuh, and R.E. Welsch, *Regression diagnostics : identifying influential data and sources of collinearity*. Wiley series in probability and mathematical statistics. 1980, New York: Wiley. xv, 292 p.
 22. Springer, P.A.M., R. Baur, and R. Krishna, *Influence of interphase mass transfer on the composition trajectories and crossing of boundaries in ternary azeotropic distillation*. Sep. Purif. Technol., 2002. **29**(1): p. 1-13.
 23. Gude, M.T., L.A.M. van der Wielen, and K.C.A.M. Luyben, *Phase behavior of α -amino acids in multi-component aqueous alkanol solutions*. Fluid Phase Equilib., 1996. **116**(1-2): p. 110-117.