

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS CENTRO DE CIÊNCIAS
EXATAS E DE TECNOLOGIA DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

VALIDAÇÃO DE SOFTWARE PARA SIMULAÇÃO CROMATOGRÁFICA

Murilo Tadeu Rusconi Furlani

Trabalho de Graduação apresentado ao
Departamento de Engenharia Química da
Universidade Federal de São Carlos

Orientador: Prof. Dr. **Thiago Faggion de Pádua**

São Carlos – SP

2022

BANCA EXAMINADORA

Trabalho de Graduação apresentado no dia 12 de setembro de 2022 perante a seguinte banca examinadora:

Orientador: Thiago Faggion de Pádua, DEQ/UFSCar

Convidado: Felipe Coelho Vieira, doutorando DEQ/UFSCar

Professor da Disciplina: José Maria Correa Bueno, DEQ/UFSCar

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família, que sempre me proporcionou tudo que foi necessário para minha jornada até aqui, e foi fator essencial para que eu pudesse concluir minha graduação. Gostaria de deixar também um agradecimento ao meu orientador Thiago Faggion de Pádua, por todo o suporte durante a elaboração do trabalho de graduação, estando sempre disposto a ajudar com discussões, dificuldades e dúvidas. Agradeço também ao Willian Kopp e ao Maicon Vilabruna por confiarem em mim e me possibilitarem uma primeira experiência de estágio, me trazendo conhecimentos fundamentais sobre cromatografia e me auxiliando no meu desenvolvimento profissional. Agradeço a todos meus amigos que levei durante esses anos, por todos os momentos de companhia e boas risadas, valendo um agradecimento especial a todos os amigos dos grupos Choversz, Família e S.O.S. Por fim, agradeço a instituição UFSCar - Universidade Federal de São Carlos e todo seu corpo docente, técnicos e colaboradores que durante a graduação me proporcionaram os conhecimentos necessários para meu desenvolvimento não apenas acadêmico, mas também profissional e pessoal.

RESUMO

O mercado global de bioprodutos apresenta grande aumento nos últimos anos, e demonstra perspectiva de aumento ainda maior nos próximos. Na fabricação de bioprodutos, a etapa de purificação (ou *downstream*) se mostra como um gargalo na viabilidade econômica, representando de 50% a 80% do custo total desses processos. A cromatografia líquida é um tipo de separação de misturas de grande importância na fabricação de bioprodutos, devido à sua versatilidade, possibilitando um grande número de combinações e estratégias. Várias moléculas de alto valor agregado são produzidas em meio complexo, de diversos componentes, contrapondo a especificação por alta pureza no produto final. Nestes casos, a cromatografia é a escolha mais comum nas etapas de purificação. O alto custo e tempo de desenvolvimento de processos cromatográficos, pode representar um entrave para que novos produtos atinjam o mercado e reduz a viabilidade econômica de implementação do processo em larga escala.

Isto reafirma a importância de encontrar formas para simplificar o desenvolvimento dessas técnicas de separação e torna-las mais financeiramente acessíveis. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo testar a aplicação do software Croma Dash Engine (Registrado no INPI, Processo Nº: BR512022000420-8), para simulação de cromatografia utilizando de artifícios como testes de sensibilidade paramétrica e simulações aplicadas.

A partir das simulações, avaliou-se os resultados obtidos utilizando diferentes interpoladores, de modo a definir o método de interpolação de Koren como o mais viável para as condições de processo adotadas, sendo este método preciso ao utilizar uma malha com número de nós relativamente reduzido (200 na maioria dos casos), o que proporcionava simulação em tempo hábil. Também foi possível analisar o comportamento dos picos simulados em termos do que é esperado pela físico-química do processo cromatográfico. O comportamento qualitativo foi avaliado pelo que é esperado da literatura, tanto em termos experimentais como em simulação. Foi possível observar o efeito de afunilamento (*sharp*), que é esperado em condições de sobrecarga, comprimentos relativamente curtos e isoterma favorável. Ademais, os picos com maior afunilamento também apresentaram desenvolvimento para um comportamento de padrão constante, algo conhecido da literatura e importante na experimentação para aumento de escala de colunas de adsorção.

ABSTRACT

The global market for bioproducts has shown a great increase in recent years, and shows the prospect of an even greater increase in the coming years. In the manufacture of bioproducts, the purification step (or downstream) is shown to be a bottleneck in economic viability, representing 50% to 80% of the total cost of these processes. Liquid chromatography is a type of mixture separation of great importance in the manufacture of bioproducts, due to its versatility, allowing a large number of combinations and strategies. Several molecules of high added value are produced in a complex mixture, with several components, in opposition to the specification for high purity in the final product. In these cases, chromatography is the most common choice in the purification steps. The high cost and development time of chromatographic processes can represent an obstacle for new products to reach the market and reduce the economic viability of implementing the process on a large scale.

This reaffirms the importance of finding ways to simplify the development of these separation techniques and make them more affordable. Thus, the present work aimed to test the application of the Croma Dash Engine software (Registered at INPI, Process N°: BR512022000420-8), for chromatography simulation using devices such as parametric sensitivity tests and applied simulations.

From the simulations, the results obtained using different interpolators were evaluated, in order to define the Koren interpolation method as the most viable for the adopted process conditions, being this method accurate when using a mesh with a relatively small number of nodes. (200 in most cases), which provided timely simulation. It was also possible to analyze the behavior of the simulated peaks in terms of what is expected by the physical chemistry of the chromatographic process. The qualitative behavior was evaluated according to what is expected from the literature, both in experimental and simulation terms. It was possible to observe the sharpening effect, which is expected under overload conditions, relatively short lengths and favorable isotherm. In addition, the peaks with greater funneling also showed development to a constant pattern behavior, something known in the literature and important in experimentation for scaling up of adsorption columns.

SUMÁRIO

BANCA EXAMINADORA	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
SUMÁRIO.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
NOMENCLATURA	ix
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Breve revisão sobre a modelagem de colunas cromatográficas.....	12
2.2 Comportamento afunilado do pico.....	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1 Escolha do tamanho de malha e do interpolador	18
4.2 Estudo da instabilidade do interpolador Kappa.....	23
4.3 Estudo da influência do número de Péclet nas simulações	28
4.4 Estudo da influência da quantidade de molécula de interesse injetada no sistema nas simulações	46
5. CONCLUSÕES.....	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
7. APÊNDICES.....	53
APÊNDICE A - CONDIÇÕES DE PROCESSO ADOTADAS NAS SIMULAÇÕES	53
APÊNDICE B - RESULTADOS DAS SIMULAÇÕES DE TESTES DE MALHA E DE INTERPOLADORES.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo de comportamento de afunilamento do pico no fronte.	15
Figura 2. Curvas de concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel utilizando interpolador Kappa e malhas pouco refinadas (simulações S41 e S42).	19
Figura 3. Curvas de concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel utilizando interpolador Kappa e malhas consideravelmente refinadas (simulações S43 e S44).	20
Figura 4. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes refinamentos de malha utilizando o interpolador Koren (simulações S64, S73, S74, S75 e S80).	21
Figura 5. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes refinamentos de malha utilizando o interpolador Upwind (simulações S63, S68, S69, S70, S71 e S72).	22
Figura 6. Curvas de concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para os interpoladores Kappa, Koren e Upwind (simulações S64, S65 e S72).	23
Figura 7. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S76, S141 e S143.	24
Figura 8. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para a simulação S144.	25
Figura 9. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S76, S145, S146, S147, S148, S149, S150 e S151.	26
Figura 10. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S152, S153 e S154.	26
Figura 11. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S155, S142 e S156.	27
Figura 12. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para a simulação S157.	28
Figura 13. Exemplo da representação do perfil de concentração em função do comprimento da coluna.	29
Figura 14. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para colunas nas mesmas condições de processo utilizando as isotermas Linear (S119) e de Langmuir (S86).	30
Figura 15. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes Péclets utilizando colunas com 1cm de diâmetro (Simulações S86, S109, S110, S111 e S112).	31
Figura 16. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para Péclets 3055,77 (S86) e 6111,55 (S112) utilizando colunas com 1cm de diâmetro.	32
Figura 17. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes interpoladores nas mesmas condições de processo (simulações S137, S138 e S139).	32
Figura 18. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes Péclets utilizando colunas com 3cm de diâmetro (simulações S81, S84, S87, S113 e S114).	33
Figura 19. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para Péclets 3055,77 (S87) e 6111,55 (S113) utilizando colunas com 3cm de diâmetro.	34
Figura 20. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes vazões e dispersões axiais mantendo o Péclet em 339,53 (simulações S91 e S101).	35
Figura 21. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes vazões e dispersões axiais mantendo o Péclet em 3055,77 (simulações S94 e S103).	35
Figura 22. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S125.	36
Figura 23. Concentração em função do volume de fase móvel para as seções transversais iniciais da coluna da simulação S125.	37

Figura 24. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 20cm da coluna da simulação S125.....	37
Figura 25. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna das simulações S126 e S129.....	38
Figura 26. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna das simulações S125, S126, S129 e S136.	39
Figura 27. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S127.	40
Figura 28. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna da simulação S127.....	40
Figura 29. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S130.	41
Figura 30. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S131.	42
Figura 31. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S132.	42
Figura 32. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S133.	43
Figura 33. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna das simulações S125, S130 e S132.	43
Figura 34. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna das simulações S127, S131 e S133.	44
Figura 35. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S140.	45
Figura 36. Concentração em função do volume de fase móvel para as seções transversais iniciais da coluna da simulação S140.	45
Figura 37. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 50cm da coluna da simulação S140.....	46
Figura 38. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S160, S162, S163, S164 e S168.	47
Figura 39. Curva de ruptura obtida a partir da simulação com injeção de 15000mg de amostra (S162).	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros e escolhas fixos para todas as simulações realizadas.....	18
Tabela 2. Parâmetros e escolhas fixos para as todas as simulações realizadas na análise de estabilidade do interpolador Kappa.....	24

NOMENCLATURA

Q	Fluxo de fase móvel	[ml.min ⁻¹]
D_a	Coefficiente de dispersão aparente	[cm ² .min ⁻¹]
L	Comprimento da coluna	[cm]
u	Velocidade superficial da fase móvel	[cm.min ⁻¹]
D	Coefficiente de difusão de massa	[cm ² .min ⁻¹]
Pe	Número de Péclet	-
u_i	Velocidade efetiva do componente i no leito fixo	[cm.min ⁻¹]
c_i	Concentração do componente i na fase móvel	[mg.ml ⁻¹]
q_i	Concentração do componente i na fase estacionária	[mg.ml ⁻¹]
ε	Porosidade total do leito	-
t	Tempo	[min]
z	Distância longitudinal na coluna; $z = 0$ na entrada da coluna	[cm]

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVO

A bioseparação envolve a purificação de compostos de origem biológica, derivados de células contidas em animais ou plantas, ou sintetizados em biorreatores contendo células ou enzimas. Entre os principais bioprodutos destacam-se os açúcares, ácidos, álcoois, cetonas, vitaminas, lipídios, proteínas, bactérias, vírus, etc. (HARRISON et al., 2015).

O mercado global de bioprodutos tem um crescimento esperado de 586,8 bilhões de dólares em 2020 para 867,7 bilhões de dólares em 2025, com um crescimento médio de 8.1% ao ano nesse período (BCC RESEARCH, 2021). Em 2018, estes produtos representavam aproximadamente 20% do total da indústria farmacêutica, demonstrando sua relevância nesse mercado (SALERNO et al., 2018).

Na fabricação de bioprodutos, a etapa de purificação (ou *downstream*) se mostra como um gargalo na viabilidade econômica, representando de 50% a 80% do custo total desses processos (HARRISON et al., 2015; NFOR et al., 2009). A cromatografia é um tipo de separação de misturas de grande importância na fabricação de bioprodutos. Ela é uma técnica de separação a partir das diferentes interações dos componentes e envolve duas fases: a fase móvel e a fase estacionária. Na fase móvel, a molécula de interesse está dissolvida em um fluido, que pode ser tanto um gás como um solvente líquido. Já a fase estacionária, é sólida, comumente constituída por uma matriz porosa. A fase sólida pode ser composta por sílica (em fase normal), sílicas ativadas, matrizes de agarose, entre outras (NAZARIO et al., 2013). Nessa técnica, a fase móvel é inserida em uma coluna contendo a fase estacionária, e a separação ocorre devido às diferentes afinidades molécula-sólido, ou seja, diferentes forças de interação entre os componentes da fase móvel e da fase estacionária.

O mercado de cromatografia preparativa e de processo, por estar diretamente relacionado ao mercado de bioprodutos, também possui um crescimento esperado para os próximos anos, indo de 9,3 bilhões de dólares em 2021 para 12,8 bilhões de dólares em 2026. Um dos fatores que contribuem para esse crescimento recente é a pandemia gerada pelo COVID-19, que afeta de maneira significativa o mercado de cromatografia, já que pesquisadores são extremamente dependentes de técnicas analíticas como a cromatografia para criar métodos eficientes e efetivos para caracterização de vírus e análise de potenciais vacinas e compostos anti-COVID-19 (MARKETS AND MARKETS, 2022).

A cromatografia líquida é uma etapa chave na maioria dos processos de purificação de bioprodutos, devido sua versatilidade: possibilitando a aplicação em diferentes escalas e diversas aplicações. A técnica permite um grande número de combinações e estratégias, gerando produtos com elevado grau de qualidade e pureza (SHEKHAWAT et. al., 2019). Ela é considerada o núcleo dos processos de manufatura de proteínas terapêuticas, pois esse tipo de purificação oferece uma alta seletividade e resolução entre o produto desejado e impurezas com características similares às da molécula-alvo, assim, proporciona alta pureza e alto rendimento em processos considerados de especificação difícil de se atingir (SHEKHAWAT et. al., 2019). Porém, apesar dos diversos benefícios, esta é uma técnica que possui um alto custo de implementação e operação (NFOR et al., 2009). Um dos motivos para o alto custo é que apesar dos avanços na modelagem de processos cromatográficos, o desenvolvimento destes ainda são fortemente baseados em estudos empíricos de tentativa e erro (VIEIRA, 2022; HOUDE; BERKOWITZ, 2019). Assim, os custos para desenvolvimento de processos e refinamento das condições de operação é elevado, restringindo a viabilidade econômica para produção ou ampliando os custos do produto final.

As descrições apresentadas ressaltam a importância de simplificar o desenvolvimento dos processos cromatográficos. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo testar um software para simulação de cromatografia, utilizando de artifícios como testes de sensibilidade paramétrica e simulações aplicadas. A partir das simulações, avaliou-se o aspecto numérico para cromatografia isocrática, de modo a definir o método de interpolação e tamanho de malha que melhor se adequavam às condições de processo estudadas. Também foi possível analisar o comportamento dos picos simulados em termos do que é esperado pela físico-química do processo cromatográfico. O comportamento qualitativo foi avaliado pelo que é esperado da literatura, tanto em termos experimentais como em simulação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Breve revisão sobre a modelagem de colunas cromatográficas

A modelagem matemática é uma ferramenta que se mostra promissora no desenvolvimento de técnicas cromatográficas de maneira eficiente, contribuindo com a redução do número de experimentos necessários no desenvolvimento do processo voltado à novas

biomoléculas (BESENHARD et al., 2021; BRHANE et al., 2019; GRITTI, 2021; MOLLERUP et al., 2007; ROCH et al., 2019).

Um desafio encontrado no desenvolvimento e otimização da cromatografia está na quantidade de fatores envolvidos nesse processo, como exemplo: pH, concentração de sal, vazão, tipo e características do gradiente, tipo de fase estacionária, etc. O que dificulta o desenvolvimento de um modelo que descreva bem e de maneira previsível o comportamento dos processos de purificação por cromatografia (SHEKHAWAT et. al., 2019).

Existem diferentes modelos que representam o transporte de massa na cromatografia líquida, sendo estes divididos em três categorias: (i) teoria de equilíbrio, (ii) teoria dos pratos, e (iii) modelos de taxa (SHEKHAWAT et. al., 2019).

A teoria de equilíbrio, inicialmente proposta por Glueckauf, assume um equilíbrio local entre a fase móvel e a fase estacionária, e desconsidera efeitos de transporte de massa, como a dispersão axial e as resistências de transporte de massa, como o transporte de massa no contorno das partículas adsorventes e difusão no interior da partícula. Este modelo é amplamente aplicado em colunas cromatográficas com baixa resistência ao transporte de massa. (SHEKHAWAT et. al., 2019). Esta abordagem é comumente utilizada na cromatografia analítica, destacando-se os sistemas HPLC, onde é utilizado um leito fixo com partículas de pequena dimensão (tamanho médio de partícula de 2 a 50 micrometros) (CHAGURI, 2022).

A teoria dos pratos propõe a divisão da coluna cromatográfica em elementos denominadas pratos teóricos. Um dos modelos de pratos mais amplamente utilizados é o modelo de pratos de fluxo contínuo, que assume a coluna como sendo um arranjo em série de diversos pratos teóricos com mesma razão de volume de fase estacionária e fase móvel. Este modelo apresenta uma precisão comparável a modelos de taxa quando aplicado na otimização de sistemas de cromatografia de troca iônica lineares (SHEKHAWAT et. al., 2019).

Os modelos de taxa consideram todos os efeitos cinéticos e de transferência de massa, incluindo transferência de massa no contorno das partículas adsorventes, difusão no interior da partícula e cinéticas de adsorção e dessorção entre a fase móvel e a fase estacionária. O modelo de taxa geral pode ser simplificado em uma variedade de modelos mais simples, baseando-se na importância dos variados efeitos cinéticos e de transporte de massa (SHEKHAWAT et. al., 2019).

O modelo equilíbrio-dispersivo (EDM) é um exemplo de modelo de taxa simplificado. Este assume que as fases móvel e estacionária estão constantemente em equilíbrio e os efeitos devido a desvios dessa hipótese são agrupados em um termo de dispersão aparente (D_a). Esse modelo também pressupõe que os coeficientes de dispersão dos componentes permaneçam constantes, independentemente da concentração do soluto (GOLSHAN-SHIRAZI; GUIOCHON, 1992; GUIOCHON et al., 2006; SHEKHAWAT; RATHORE, 2019; STABY; RATHORE; AHUJA, 2017). O termo difusivo (D_a) no EDM leva em conta todos os efeitos de espalhamento, incluindo o transporte de massa intersticial e no interior das partículas, por isso a denominação “aparente” (GOLSHAN-SHIRAZI; GUIOCHON, 1992; GUIOCHON et al., 2006). O EDM é representado pela Equação 1, onde u é a velocidade superficial da fase móvel, c_i é a concentração do componente i na fase móvel, q_i é a concentração do componente i na fase estacionária, ε é a porosidade total do leito, t é o tempo, e z é a distância longitudinal na coluna, sendo $z = 0$ na entrada da coluna (VIEIRA, 2022).

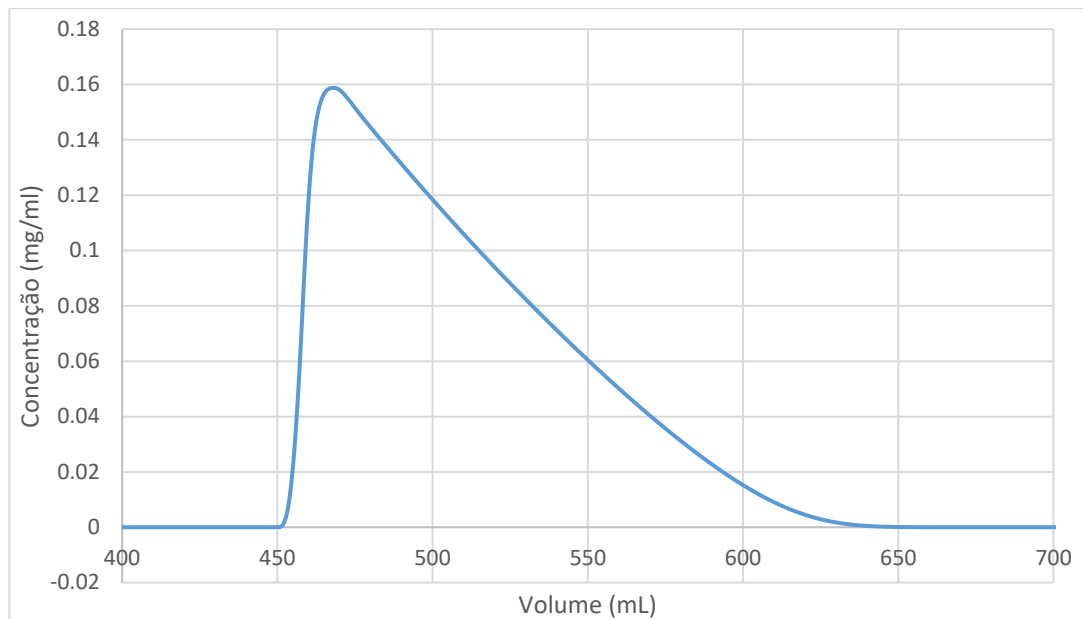
$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon} \frac{\partial q_i}{\partial t} + \frac{u}{\varepsilon} \frac{\partial c_i}{\partial z} = D_a \frac{\partial^2 c_i}{\partial z^2} \quad (\text{Equação 1})$$

Moléculas de proteínas são complexas, possuindo grupos hidrofóbicos e grupos carregados na superfície, que são responsáveis por uma variedade de interações entre o soluto e a fase estacionária. Dependendo da complexidade dessas interações as taxas de adsorção e dessorção podem ser mais rápidas ou mais lentas. Para rápidas cinéticas de adsorção, a concentração do soluto na fase móvel presente no poro da partícula e na fase estacionária estão relacionadas por uma isoterma de equilíbrio. Já para cinéticas de adsorção lentas a concentração do soluto na fase móvel presente no poro da partícula e na fase estacionária estão relacionadas por uma equação cinética (SHEKHAWAT et. al., 2019).

2.2 Comportamento afunilado do pico

Em processos de adsorção, altas concentrações, resistência a transferência de massa e mistura axial na coluna levam a condições muito discrepantes da idealidade e além disso não é aplicável a isoterma linear (HARISSON, 2003). Dessa forma, para processos preparativos e industriais de adsorção de proteínas, caso do estudo em questão, a isoterma de Langmuir é amplamente utilizada. A utilização de isotermas de equilíbrio favoráveis, como a isoterma de Langmuir geram o comportamento de afunilamento do pico, característica que pode ser observada como rigidez no frente, seguido de uma cauda (HARISSON, 2003). A Figura 1 exemplifica o comportamento de afunilamento do pico no frente.

Figura 1. Exemplo de comportamento de afunilamento do pico no frente.



Fonte: Próprio autor.

O comportamento afunilado pode ser explicado matematicamente a partir da simplificação da Equação 1, assumindo-se equilíbrio local e dispersão desprezível. Dessa forma é possível focar na velocidade em que o componente de interesse atravessa a coluna. Utilizando a relação da isoterma de equilíbrio, na forma $q_i = f(c_i)$, e desprezando a dispersão, simplifica-se a Equação 1, obtendo-se a Equação 2, onde $q_i'(c_i)$ é o coeficiente angular da isoterma de equilíbrio na concentração c_i (HARRISSON, 2003).

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{u}{\varepsilon + (1-\varepsilon).q_i'(c_i)} \frac{\partial c_i}{\partial x} = 0 \quad (\text{Equação 2})$$

Ao considerar:

$$u_i = \frac{u}{\varepsilon + (1-\varepsilon).q_i'(c_i)} \quad (\text{Equação 3})$$

A Equação 2 torna-se:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + u_i \frac{\partial c_i}{\partial x} = 0 \quad (\text{Equação 4})$$

É perceptível que a Equação 4 possui a mesma forma que a equação da continuidade para um soluto i movendo a uma velocidade u_i através de uma coluna não empacotada, portanto, a Equação 3 representa a velocidade efetiva do componente i no leito fixo (u_i) (HARRISSON, 2003).

Ressalta-se que a velocidade específica do componente depende da derivada da concentração na fase sólida em função da concentração na fase líquida, dada pela isoterma ($q'_i(c_i)$). Caso a isoterma seja favorável, baixas concentrações de molécula de interesse na fase móvel representam um alto $q'_i(c_i)$, resultando em uma baixa velocidade efetiva do componente i. Analogamente, altas concentrações de molécula de interesse na fase móvel representam um baixo $q'_i(c_i)$, resultando em uma alta velocidade efetiva do componente i. Este fato é compreendido com maior clareza ao observar o comportamento da isoterma favorável.

Sabendo que a concentração de molécula de interesse à frente do fronte é baixa, e que a concentração de molécula de interesse atrás do fronte é alta, ocorre uma desaceleração da velocidade específica na região mais concentrada de componente, o que provoca a cauda, enquanto existe acúmulo de componente químico no fronte, uma vez que a baixa concentração à frente resulta em uma menor velocidade efetiva do componente. Em outras palavras, o fronte da curva de concentração é achatado, ou afunilado, tornando a função rígida nessa região (HARISSON, 2003). É importante destacar que a cauda mencionada não é provocada por efeitos de transporte de massa, ou seja, não ocorre por qualquer dispersão do pico. Pelo contrário, o afunilamento descrito é devido puramente ao equilíbrio, ou seja, a tendência do material sólido em saturar-se no caso de isotermas favoráveis. Ademais, é importante mencionar que o afunilamento não ocorre em condições diluídas, caso em que prevalece uma relação linear, característica também da isoterma de Langmuir em baixas concentrações, uma vez que a mesma tende à lei de Henry nesse caso.

Em contraposição ao afunilamento mencionado atuam no pico os efeitos de dispersão axial (HARISSON, 2003). Uma coluna longa o suficiente tende a ter os efeitos do afunilamento dissipados visualmente. Assim, o pico cromatográfico tende à uma característica de comportamento de padrão constante (*Constant Pattern Behavior*, HARISSON, 2003), em que a forma gaussiana é predominante. Para o estudo dos efeitos de advecção e dispersão na coluna cromatográfica, se faz importante a avaliação do número de Péclet. O número de Péclet é um adimensional relacionado aos efeitos relativos do transporte advectivo e difusivo em um sistema. Para o estudo da difusão de massa em colunas porosas, o número de Péclet é determinado pela Equação 5, onde u é a velocidade do fluido, D é o coeficiente de difusão de massa e L é o comprimento característico (RAPP, 2017).

$$Pe = \frac{uL}{D} \quad (\text{Equação 5})$$

A utilização do software no trabalho de graduação ocorreu para aplicar um modelo de taxa simplificado: o modelo equilíbrio-dispersivo; que agrupa todos os efeitos cinéticos no termo de dispersão axial no leito, levando em consideração efeitos de convecção, dispersão axial aparente e considerando equilíbrio para a adsorção. Sendo assim, no presente trabalho de conclusão de curso, na equação do número de Péclet, D será substituído por Da , que representará o coeficiente de dispersão no leito.

Para a discretização espacial em relação à posição na coluna é necessário a utilização de um interpolador de volumes finitos para evitar oscilações numéricas. No presente estudo foram utilizados os interpoladores Upwind (de primeira ordem), Kappa (de segunda ordem), Koren (de ordem superior), Minmod (de ordem superior) e Superbee (de ordem superior) (MEDI et. al., 2011; AVRAHAM, 2020; QAMAR et. al., 2016; JAVEED et. al. 2011).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para desenvolvimento do trabalho foi utilizado o software Croma Dash Engine (Registrado no INPI, Processo N°: BR512022000420-8) para a realização das simulações de colunas cromatográficas. O programa possui outros módulos além da simulação:

- Ajuste paramétrico a partir de dados de ensaios em coluna;
- Ajuste paramétrico a partir de ensaios em placas (técnica High Throughput) (ATTENE-RAMOS, 2014; LACKI, 2012);
- Análise e visualização de dados experimentais e resultados.

No presente trabalho de graduação, aplicou-se o módulo de simulação por modelo equilíbrio-dispersivo. No software, foram selecionados o interpolador, tipo de injeção, tipo de eluição, tipo de isoterma e o tamanho de malha desejados, e foram inseridos os valores desejados de comprimento e diâmetro da coluna, vazão de fase móvel, massa e concentração de molécula alvo injetada, e coeficiente de dispersão aparente. As simulações realizadas com o software em um computador com 4 processadores lógicos, 2 núcleos e velocidade base de 2,00GHz retornaram valores de concentração ao longo do tempo e ao longo do volume de injeção de eluente, que foram utilizadas nas discussões da próxima seção. Os parâmetros e escolhas mantidos fixos em todas as simulações são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros e escolhas fixos para todas as simulações realizadas.

Tipo de eluição	Isocrática
Tipo de injeção	Pulso retangular
Porosidade do leito fixo	0,95
Concentração de alimentação de molécula alvo	10mg/ml

Fonte: Próprio autor.

O controle da quantidade de amostra injetada no sistema foi realizado a partir da alteração da massa de molécula de interesse injetada, mantendo a concentração de molécula de interesse injetada constante, sendo conseqüentemente alterado o volume de injeção ao alterar-se a massa de amostra injetada, alterando-se a duração do pulso retangular. Os parâmetros de cada simulação em destaque ao longo do trabalho de graduação estão apresentados no Apêndice A, em que cada simulação é enumerada: Si.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Escolha do tamanho de malha e do interpolador

A validação do software iniciou-se com testes de malha e de interpoladores, visando a possibilitar a definição do melhor interpolador e do melhor refinamento da malha para a aplicação em questão, que apresentassem resultados precisos em tempo de simulação adequado.

Nessa fase, cinco interpoladores foram testados, sendo eles o Kappa, Koren, Upwind, Minmod e Superbee. O número de pontos discretos (nós) testados na malha de volumes finitos foram de 50, 100, 200, 500, 1000 e 1500 pontos. As condições de processo utilizadas nas simulações são apresentadas no Apêndice A. Os resultados das simulações são apresentados no Apêndice B, que foi citado frequentemente para comparação de resultados.

Observando os resultados, apresentados no Apêndice B, é possível verificar que nas simulações com malhas contendo 1500 pontos, maior refinamento testado, todos os interpoladores apresentaram o pico de retenção no volume de 428,23ml, com exceção do interpolador Upwind, que apresentava um resultado com discrepância de 1,1% desse valor, apesar de ser o interpolador com o tempo de simulação mais rápido. Isto indica a necessidade de um refinamento maior da malha ao utilizar o interpolador Upwind para que o mesmo apresente resultados precisos.

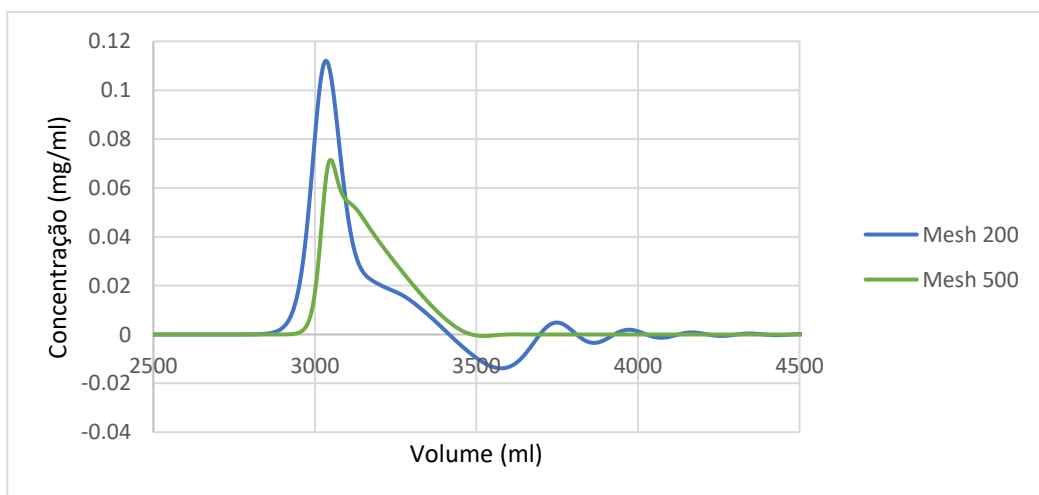
Outro ponto observado foi que ao utilizar os interpoladores Minmod e Superbee o pico de retenção atingiu o valor de 428,23ml apenas em simulações com alto refinamento de malha

(mesh maior que 1000), apresentando um tempo de simulação alto para que o resultado preciso fosse encontrado, sendo necessário mais de 2 horas ao simular com o interpolador Minmod e aproximadamente 4 horas ao simular com o interpolador Superbee para que o resultado fosse gerado. Assim, sendo descartada a possibilidade de utilização destes interpoladores no estudo em questão devido ao alto tempo computacional requerido.

Comparando os tempos de simulação ao utilizar os interpoladores Kappa e Koren foi perceptível a maior velocidade ao utilizar o interpolador Kappa, que apresentou tempo de simulação cerca de 6 vezes mais rápido, considerando malha contendo 1000 pontos em cada simulação. Além disso, mesmo com uma malha consideravelmente reduzida (200 pontos discretos) e poucos segundos de tempo de simulação, o interpolador Kappa apresenta o mesmo resultado de volume de pico de retenção que os demais interpoladores com malhas de 1500 pontos, e conseqüentemente tempos de simulação consideravelmente maiores.

Porém, ao observar as curvas de concentração em função do volume de fase móvel injetada, observou-se que as simulações onde o interpolador Kappa era utilizado com malhas pouco refinadas (mesh abaixo de 1000) apresentavam instabilidades quando certas condições eram estabelecidas. A Figura 2 e a Figura 3 mostram as curvas de concentração em função do volume de fase móvel injetada para as simulações S41, S42, S43 e S44, realizadas utilizando o interpolador Kappa com diferentes refinamentos de malha. Para casos em que se apresentou concentração em função do volume desse modo, os resultados foram obtidos da simulação ao final da coluna e o volume representa o acumulado do processo.

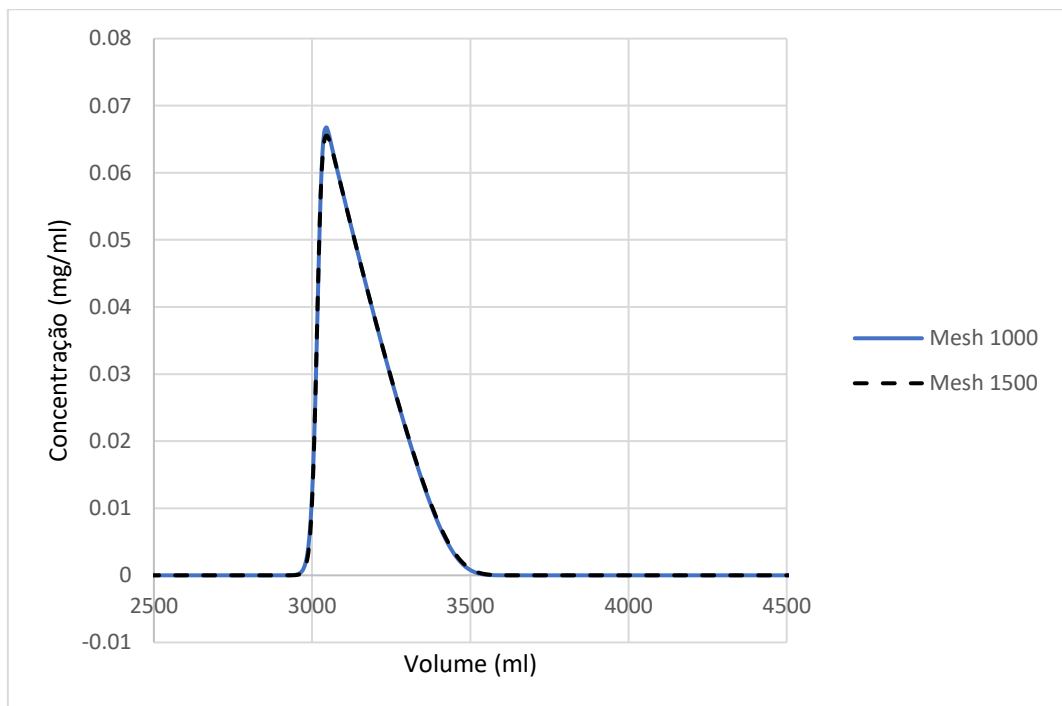
Figura 2. Curvas de concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel utilizando interpolador Kappa e malhas pouco refinadas (simulações S41 e S42).



Fonte: Próprio autor.

É perceptível na Figura 2 a instabilidade gerada ao simular a coluna em questão com uma malha pouco refinada com o interpolador Kappa, fazendo com que a concentração apresente oscilações e permaneça negativa em certos períodos, algo impossível fisicamente.

Figura 3. Curvas de concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel utilizando interpolador Kappa e malhas consideravelmente refinadas (simulações S43 e S44).

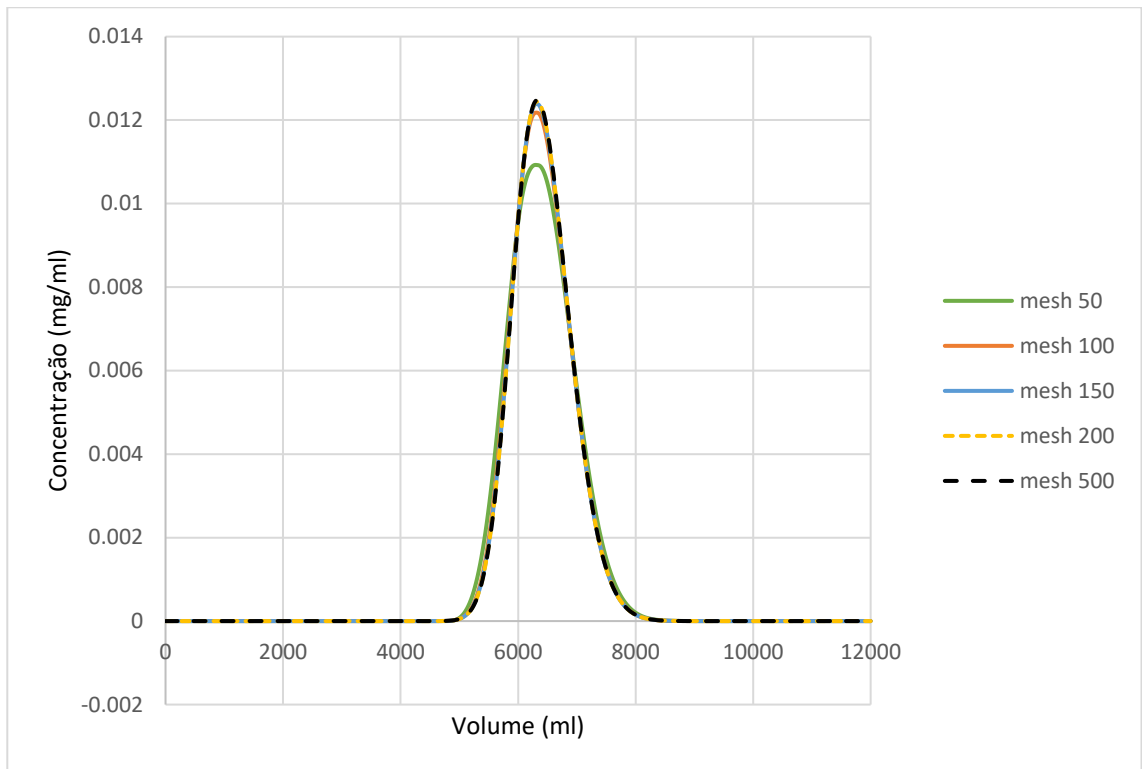


Fonte: Próprio autor.

A Figura 3, por sua vez, demonstra que ao utilizar malhas mais refinadas (mesh acima de 1000) o problema da instabilidade é solucionado, sendo possível obter um resultado coerente utilizando o interpolador Kappa, ao custo de maior tempo computacional. As condições que estimulam a instabilidade analisada serão discutidas na seção seguinte.

Os resultados de concentração em função do volume de fase móvel obtidos para diferentes refinamentos de malha indicaram a variação das curvas em função do refinamento da malha, até que fosse atingido um limite onde um aumento no refinamento da malha não gerava mais mudanças na curva, sendo encontrado assim o refinamento ideal para cada interpolador. A Figura 4 e Figura 5 apresentam resultados dessa análise.

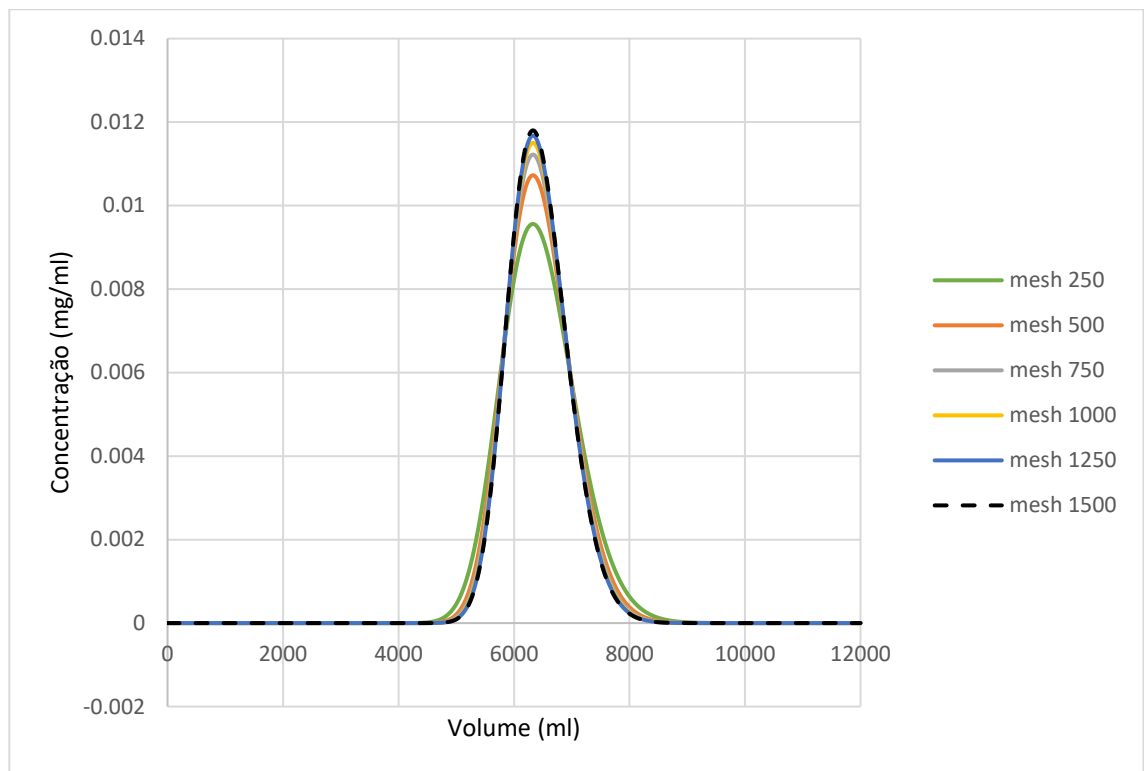
Figura 4. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes refinamentos de malha utilizando o interpolador Koren (simulações S64, S73, S74, S75 e S80).



Fonte: Próprio autor.

Observando a Figura 4 percebe-se que ao atingir malhas superiores a 150 mesh a curva de concentração em função do volume de fase móvel ao utilizar o interpolador Koren não varia com um maior refinamento da malha, indicando que uma malha com 200 pontos discretos é capaz de apresentar um resultado coerente para a coluna em questão. Na próxima seção, simulações que geraram instabilidades para o interpolador Kappa serão também simuladas aplicando Koren, desenvolvendo uma análise comparativa. Os resultados indicarão que para as mesmas situações é possível aplicar Koren sem os problemas de oscilação.

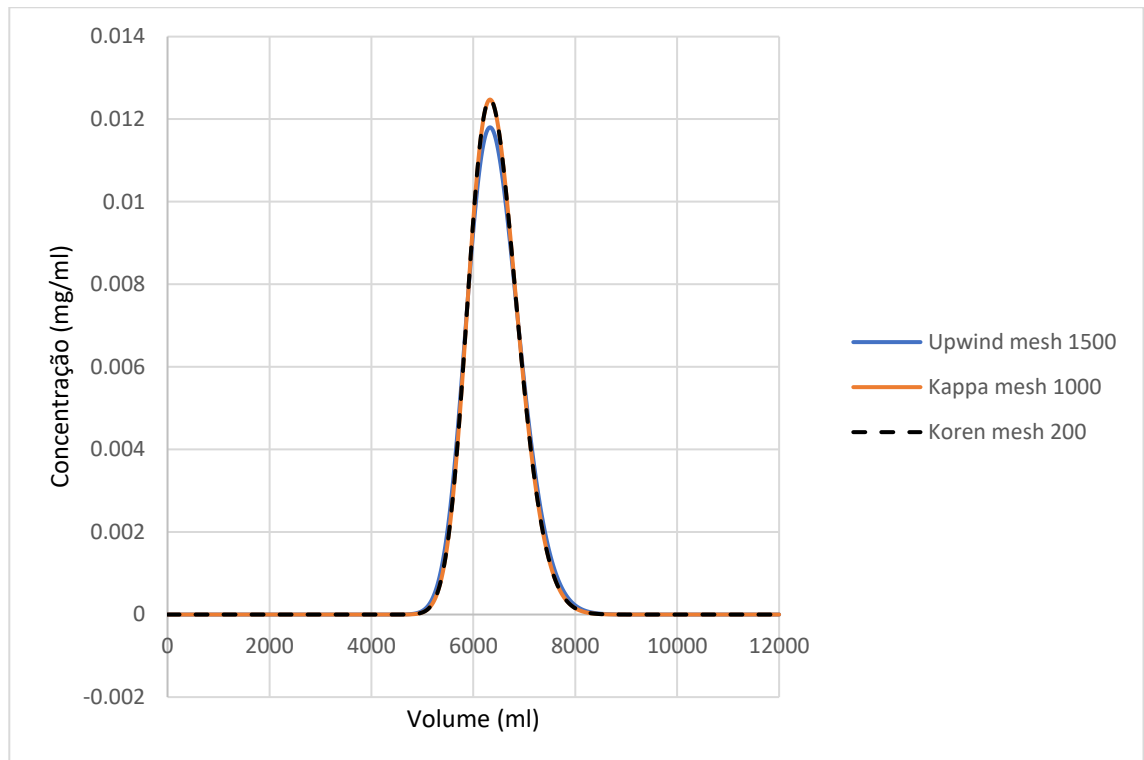
Figura 5. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes refinamentos de malha utilizando o interpolador Upwind (simulações S63, S68, S69, S70, S71 e S72).



Fonte: Próprio autor.

Observando a Figura 5, que analisa o comportamento para o método Upwind, é perceptível que mesmo em malhas muito refinadas (acima de 1000 nós) ainda haja variações na curva de concentração em função do volume de fase móvel com o aumento do refinamento da malha, indicando a necessidade de um refinamento maior da malha ao utilizar o interpolador Upwind para que ele apresente resultados precisos. Assim, existe a exigência de alto tempo computacional, resultado que corrobora a contraindicação desse interpolador. Esta afirmação é reforçada ao analisar a Figura 6, que apresenta as curvas de concentração em função do volume de fase móvel para diferentes interpoladores, sendo perceptível que o resultado obtido ao utilizar os interpoladores Kappa e Koren com malhas adequadas (onde o aumento do refinamento não gera alterações na curva) são idênticos, enquanto o resultado obtido ao utilizar o interpolador Upwind com uma malha contendo 1500 pontos discretos apresenta discrepância do resultado apresentado pelos demais interpoladores.

Figura 6. Curvas de concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para os interpoladores Kappa, Koren e Upwind (simulações S64, S65 e S72).



Fonte: Próprio autor.

Para o presente estudo, considerando a estabilidade e precisão dos resultados, e o tempo computacional envolvido, o interpolador e refinamento escolhido para o estudo em questão foi o interpolador Koren com 200 pontos discretos. Esta configuração garante um resultado preciso com um tempo de simulação adequado, sendo obtido o resultado com uma média de 4 minutos de simulação, enquanto as condições necessárias para gerar um resultado coerente utilizando o interpolador Kappa resultam em um tempo de simulação de aproximadamente 15 minutos. Já ao utilizar o interpolador Upwind, mesmo com simulações com 1500 pontos discretos, e um tempo de simulação de aproximadamente 40 minutos, não foi possível atingir um resultado preciso. Assim, utilizar o interpolador Koren com malhas contendo 200 pontos discretos permite que diversas simulações sejam realizadas em um curto espaço de tempo e com resultados coerentes.

4.2 Estudo da instabilidade do interpolador Kappa

Visando a entender quais condições geravam instabilidade quando o interpolador Kappa era utilizado, diversas simulações foram realizadas. Para isso, estabeleceu-se como padrão para

as simulações as condições apresentadas na Tabela 2, que resultavam em uma simulação estável nas condições da simulação S76, utilizada como base de comparação.

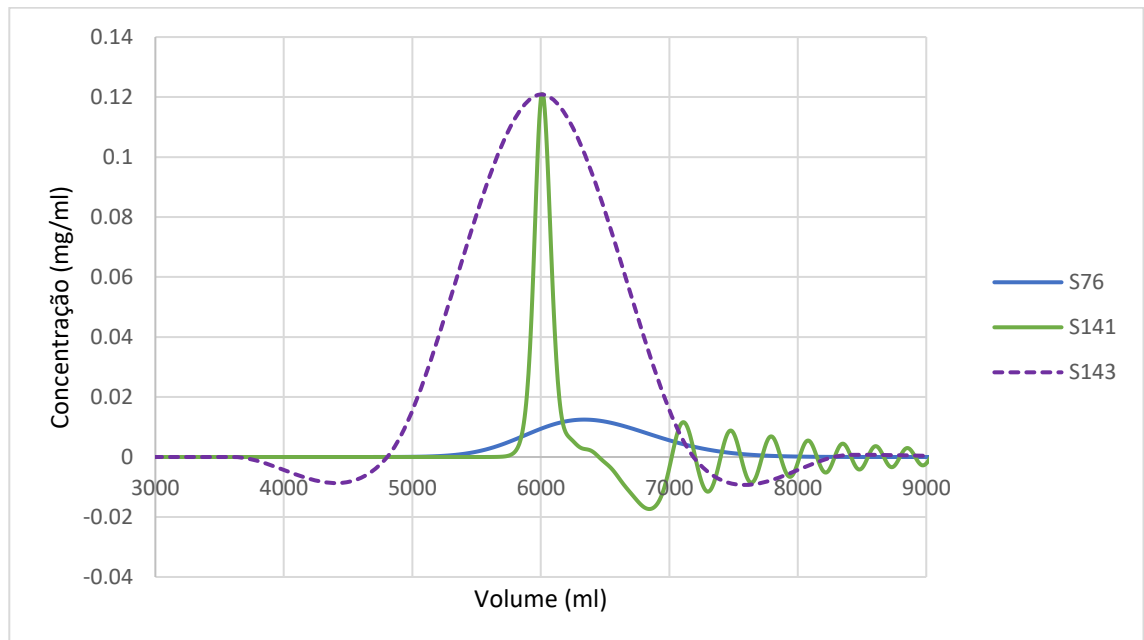
Tabela 2. Parâmetros e escolhas fixos para as todas as simulações realizadas na análise de estabilidade do interpolador Kappa.

Comprimento da coluna (L)	10cm
Diâmetro da coluna	3cm
Coefficiente de dispersão aparente (Da)	0,05cm ² /min
vazão (Q)	12cm ³ /min
velocidade da fase móvel (u)	1,7cm/min

Fonte: Próprio autor.

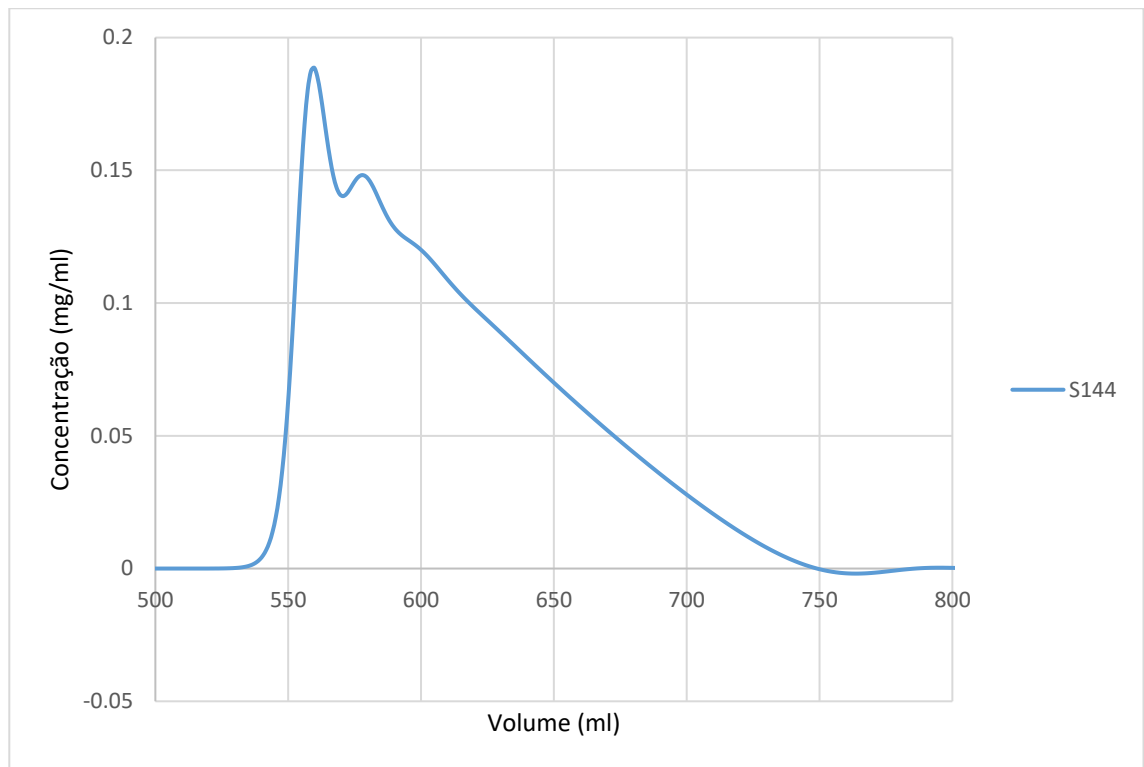
Diversas simulações foram realizadas alterando os parâmetros um a um, utilizando o interpolador Kappa e mesh igual a 250. Os parâmetros alterados foram a dispersão axial, vazão e diâmetro. As condições de processo utilizadas são apresentadas no Apêndice A, e os resultados obtidos estão apresentados na Figura 7 e na Figura 8.

Figura 7. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S76, S141 e S143.



Fonte: Próprio autor.

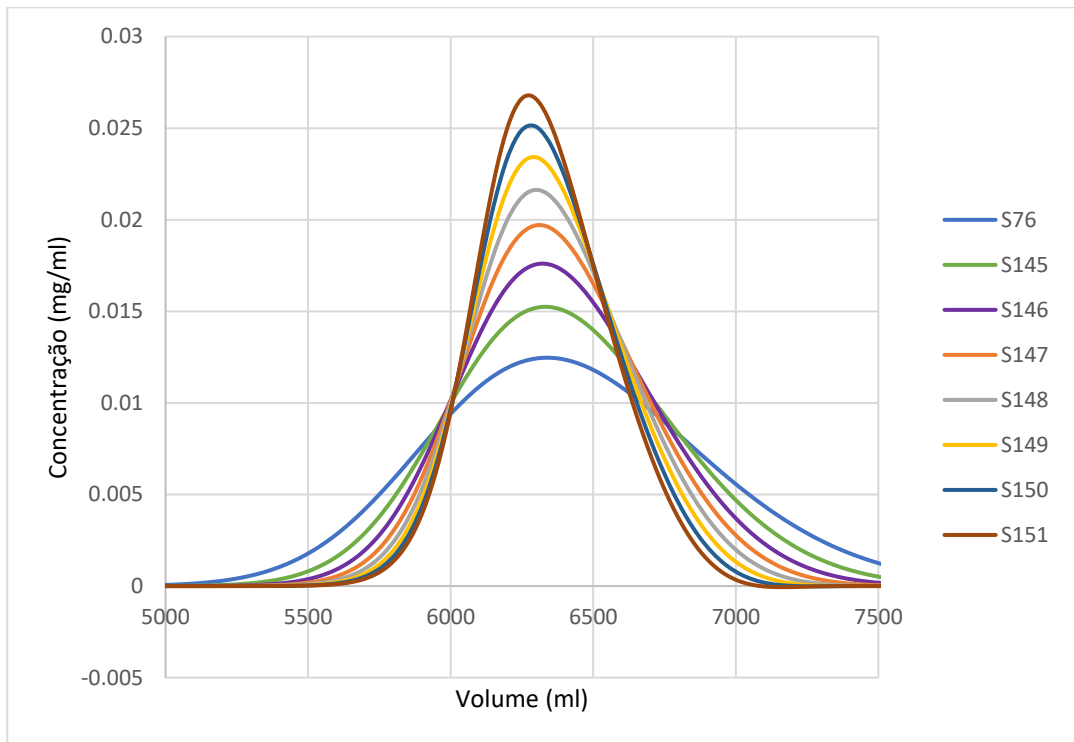
Figura 8. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para a simulação S144.



Fonte: Próprio autor.

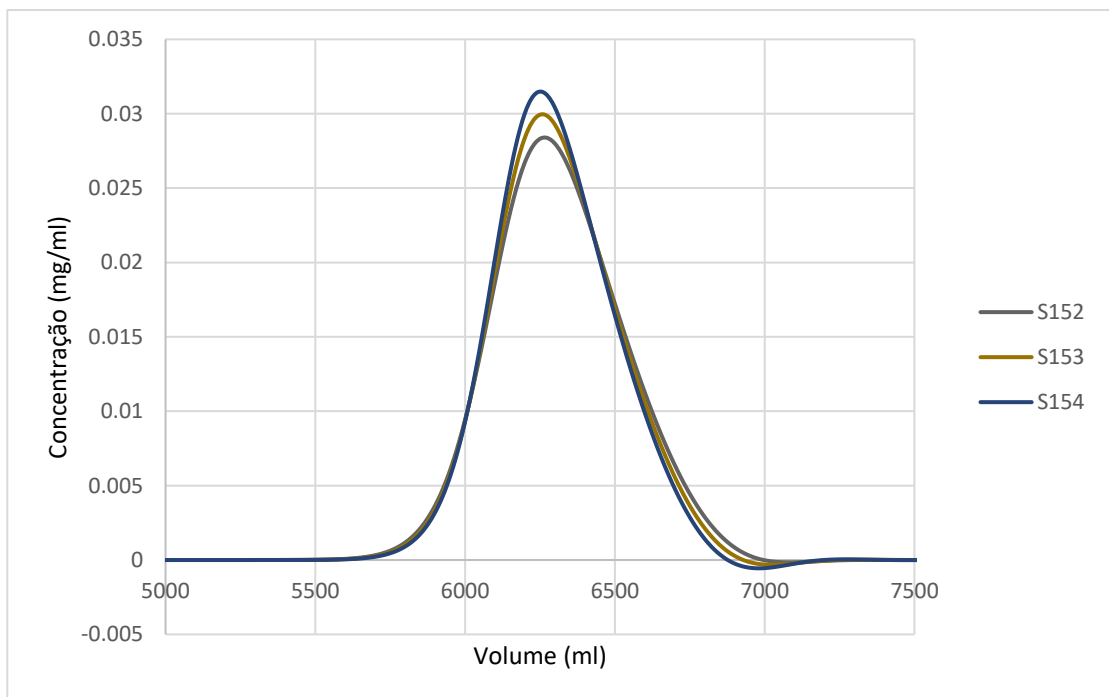
Analisando a Figura 7 e Figura 8 foi perceptível que independentemente do parâmetro modificado: dispersão axial, vazão ou diâmetro; se as condições estabelecidas resultavam em um número de Péclet alto, a simulação apresentava instabilidade. Sendo assim, realizou-se um teste de sensibilidade paramétrica para comprovar a hipótese de que o aumento do número de Péclet gera instabilidade nas simulações utilizando o interpolador Kappa. As condições utilizadas nas simulações do teste de sensibilidade são apresentadas no Apêndice A, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 9 e na Figura 10.

Figura 9. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S76, S145, S146, S147, S148, S149, S150 e S151.



Fonte: Próprio autor.

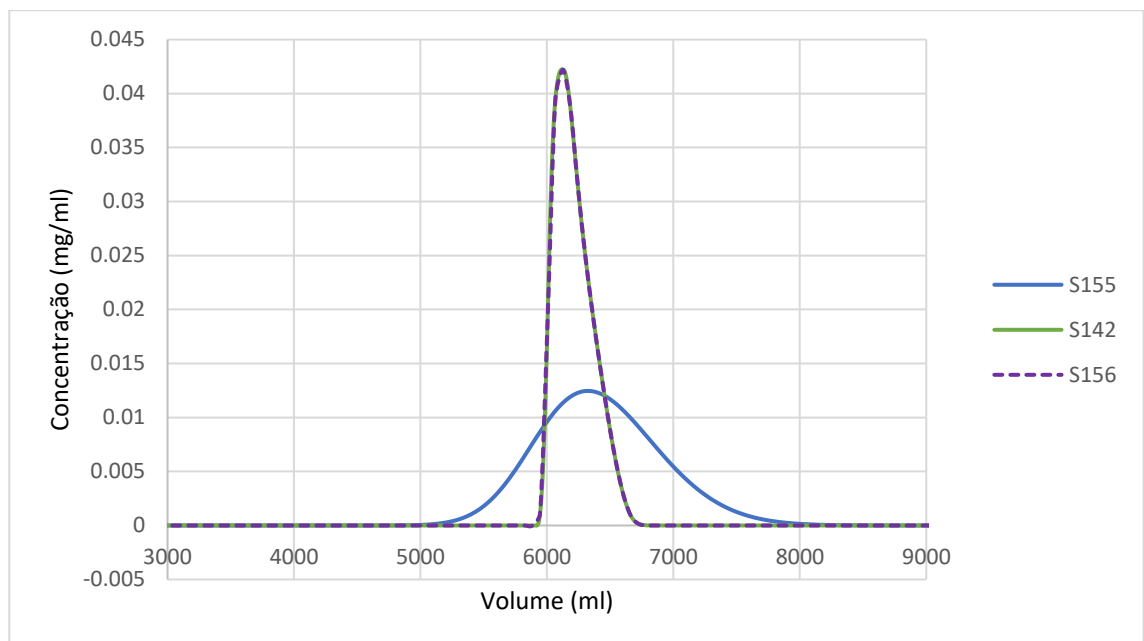
Figura 10. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S152, S153 e S154.



Fonte: Próprio autor.

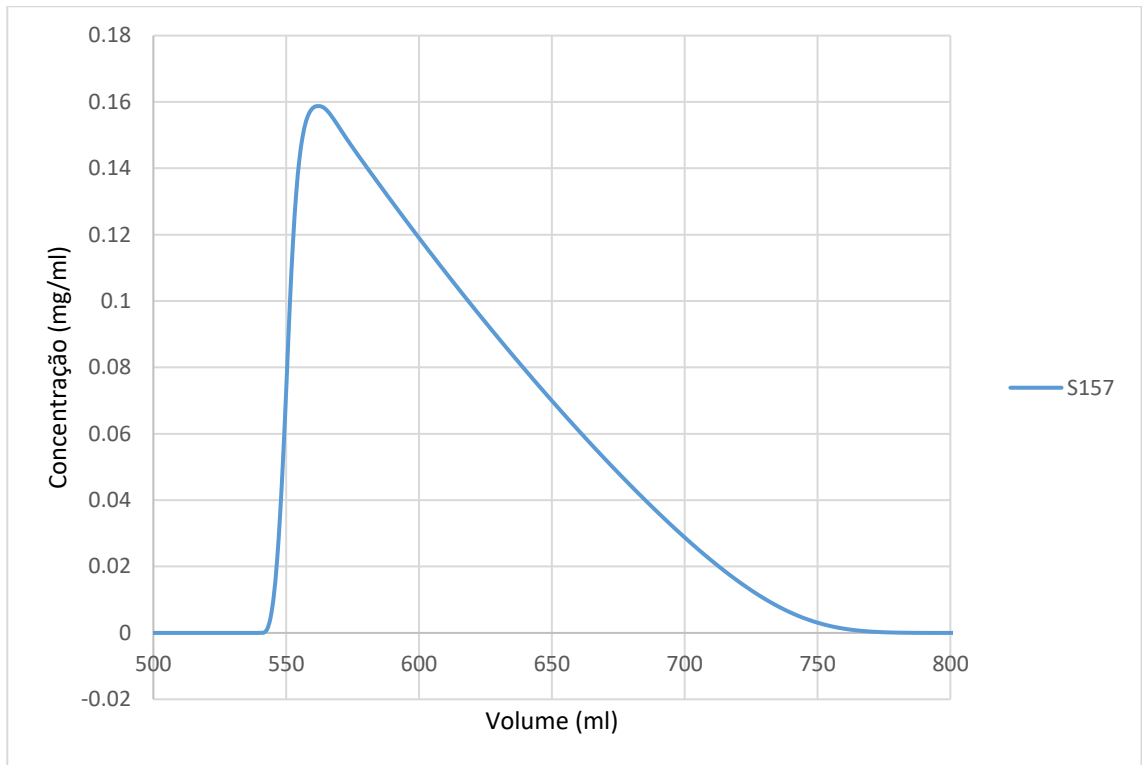
Observando a Figura 9 é perceptível que para as condições adotadas, até a simulação S151, ou seja, em números de Péclet inferiores a 1530, a simulação utilizando o interpolador Kappa não apresentava instabilidade. Já ao observar a Figura 10, é perceptível que após a simulação S152, ou seja, em Péclets acima de 1690, a simulação apresentava instabilidades, fazendo com que a concentração tivesse oscilações e permanecesse negativa em certos volumes, problema que só pode ser ocasionado por imprecisão numérica. As mesmas condições das simulações S76, S141, S143 e S144 foram simuladas novamente utilizando o interpolador Koren, resultando nas curvas apresentadas na Figura 11 e na Figura 12. Utilizando o interpolador Koren nas mesmas condições de processo onde o Kappa foi aplicado não foi observada qualquer instabilidade. Isso corrobora que as oscilações eram um problema numérico, gerado ao utilizar o interpolador Kappa com uma malha pouco refinada e em condições de número de Péclet mais elevado.

Figura 11. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S155, S142 e S156.



Fonte: Próprio autor.

Figura 12. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para a simulação S157.



Fonte: Próprio autor.

Como discutido anteriormente, o aumento do refinamento da malha é uma maneira de solucionar o problema de instabilidade ao utilizar o interpolador Kappa. Porém, isto demanda maior tempo computacional, sendo preferível a utilização do interpolador Koren com uma malha menos refinada. Para efeito de comparação, ao observar os resultados apresentados na no apêndice B, é possível verificar que uma simulação utilizando o interpolador Kappa com uma malha contendo 1000 pontos discretos, refinamento necessário para que este interpolador gere resultados coerentes, leva um tempo superior a 15 minutos para que o resultado seja gerado, enquanto que uma simulação utilizando o interpolador Koren com uma malha contendo 200 pontos discretos, o suficiente para garantir um resultado coerente nas condições estudadas, leva aproximadamente 4 minutos para que o resultado seja gerado.

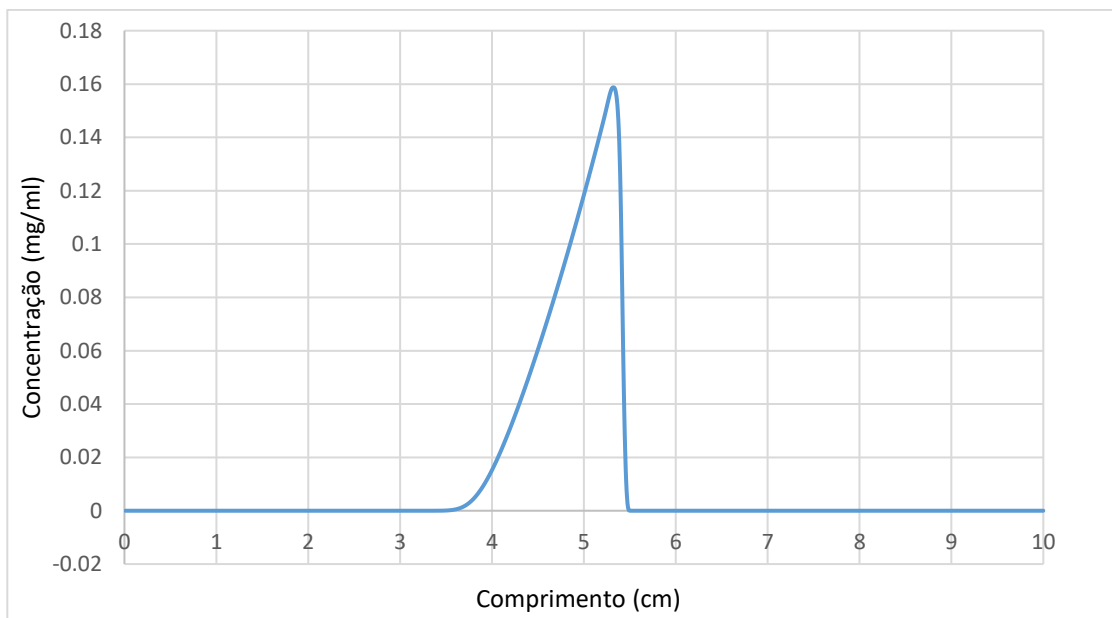
4.3 Estudo da influência do número de Péclet nas simulações

Durante as diversas simulações realizadas notou-se a falta de simetria na curva de concentração da molécula-alvo ao final da coluna em função do volume de fase móvel injetada no sistema, apresentando um pico rígido (“afunilado” ou “afiado”, *sharp*) no frente. Sobre frente, entende-se a parcela de material injetado que sai primeiro da coluna, ou seja, caminha à

frente da cauda. Sabendo que este comportamento da curva poderia estar relacionado à fenômenos físico-químicos, foi realizado um estudo para comprovar se o comportamento observado era a representação do fenômeno ou um efeito numérico das condições utilizadas na simulação. Para isso, esse estudo levou como parâmetro chave o número de Péclet na coluna.

É importante ressaltar que o perfil observado nas simulações é da concentração da molécula de interesse ao final da coluna, portanto, o fronte da curva de concentração é representado à esquerda, ou seja, em direção aos menores volumes acumulados (Figura 3). Caso este perfil fosse analisado em função do comprimento da coluna, o fronte seria observado à direita, em direção à saída da coluna, conforme o exemplo representado na Figura 13.

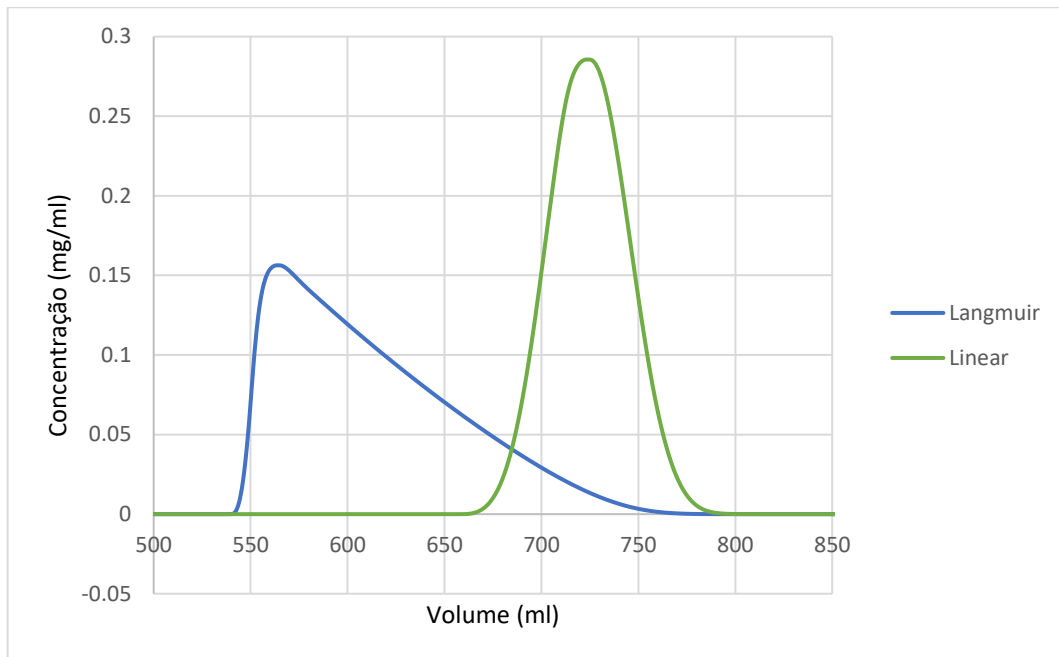
Figura 13. Exemplo da representação do perfil de concentração em função do comprimento da coluna.



Fonte: Próprio autor.

Para verificar se o comportamento observado é a representação do fenômeno físico de afunilamento ou um problema numérico das condições utilizadas na simulação, duas simulações nas mesmas condições de processo já apresentadas (Apêndice A) foram realizadas, alterando a isoterma utilizada, sendo uma simulação feita com a isoterma de Langmuir e uma com a isoterma linear, resultando nas curvas apresentadas na Figura 14.

Figura 14. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para colunas nas mesmas condições de processo utilizando as isotermas Linear (S119) e de Langmuir (S86).

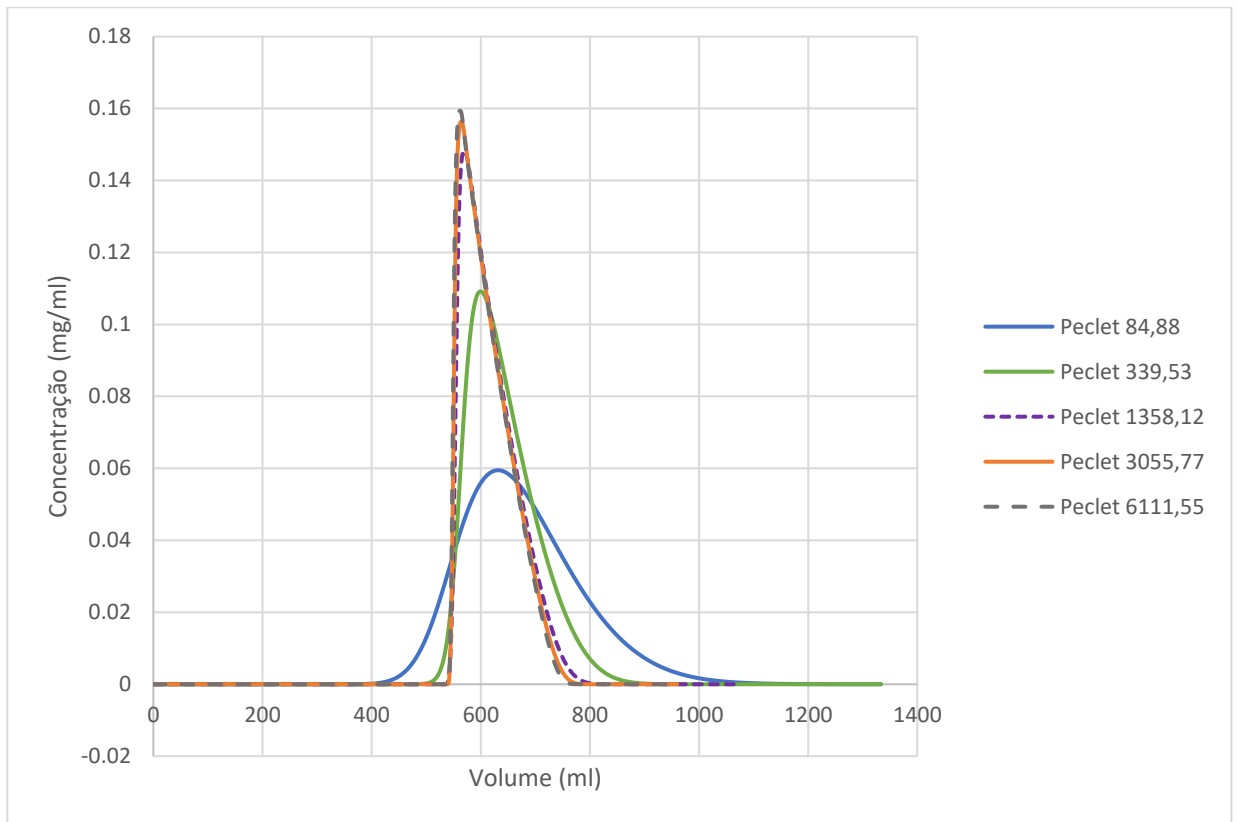


Fonte: Próprio autor.

Analisando a Figura 14 é possível observar que, ao utilizar a isoterma linear, a curva de concentração não apresenta pico rígido no fronte, diferentemente da curva de concentração obtida ao utilizar a isoterma de Langmuir. Esse comportamento era esperado, uma vez que a isoterma linear não deve apresentar afunilamento do pico, característica esperada para isoterma favorável.

Seguindo com a análise do comportamento da curva de concentração, realizou-se diversas simulações de colunas com comprimento igual a 10cm e diâmetro igual a 1cm, utilizando o interpolador Koren com uma malha contendo 200 pontos discretos e a isoterma de Langmuir. Nas diferentes simulações, a vazão de injeção de fase móvel foi alterada, a fim de obter-se diferentes números de Péclet. As condições utilizadas nas simulações são apresentadas no apêndice A, e os resultados obtidos nas simulações apresentados na Figura 15.

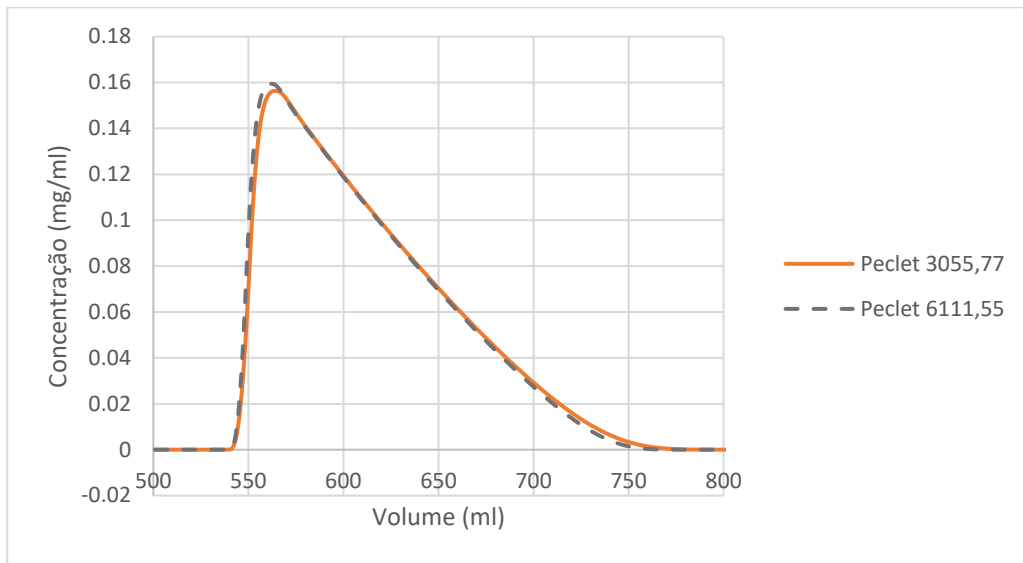
Figura 15. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes Péclets utilizando colunas com 1cm de diâmetro (Simulações S86, S109, S110, S111 e S112).



Fonte: Próprio autor.

Analisando os resultados apresentados na Figura 15 é possível observar que a simulação não apresentou instabilidade em nenhum dos casos simulados, tanto utilizando números de Péclet baixos quanto altos. Além disso, observa-se que o aumento do número de Péclet torna mais severo o efeito de pico rígido no frente, tornando as curvas de concentração na saída da coluna menos simétricas quanto maior o Péclet. Este comportamento era esperado, já que um número de Péclet maior representa uma maior importância das forças de advecção em relação às forças de difusão, implicando em uma menor dispersão da molécula de interesse. Este comportamento pode ser visto com maior detalhe na Figura 16.

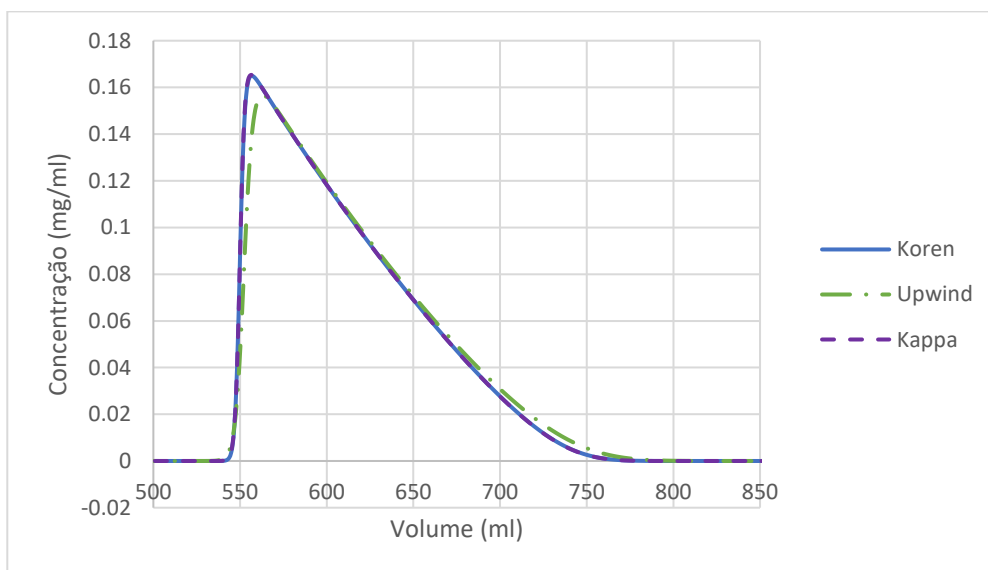
Figura 16. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para Péclets 3055,77 (S86) e 6111,55 (S112) utilizando colunas com 1cm de diâmetro.



Fonte: Próprio autor.

Como uma forma de verificar se o comportamento de pico rígido no frente estava relacionado ao método numérico utilizado ou se seria um comportamento físico, realizou-se simulações com diversos interpoladores nas mesmas condições e com malhas refinadas (2000 nós para os interpoladores Upwind e Kappa, e 1000 nós para o interpolador Koren), resultando nas curvas apresentadas na Figura 17.

Figura 17. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes interpoladores nas mesmas condições de processo (simulações S137, S138 e S139).

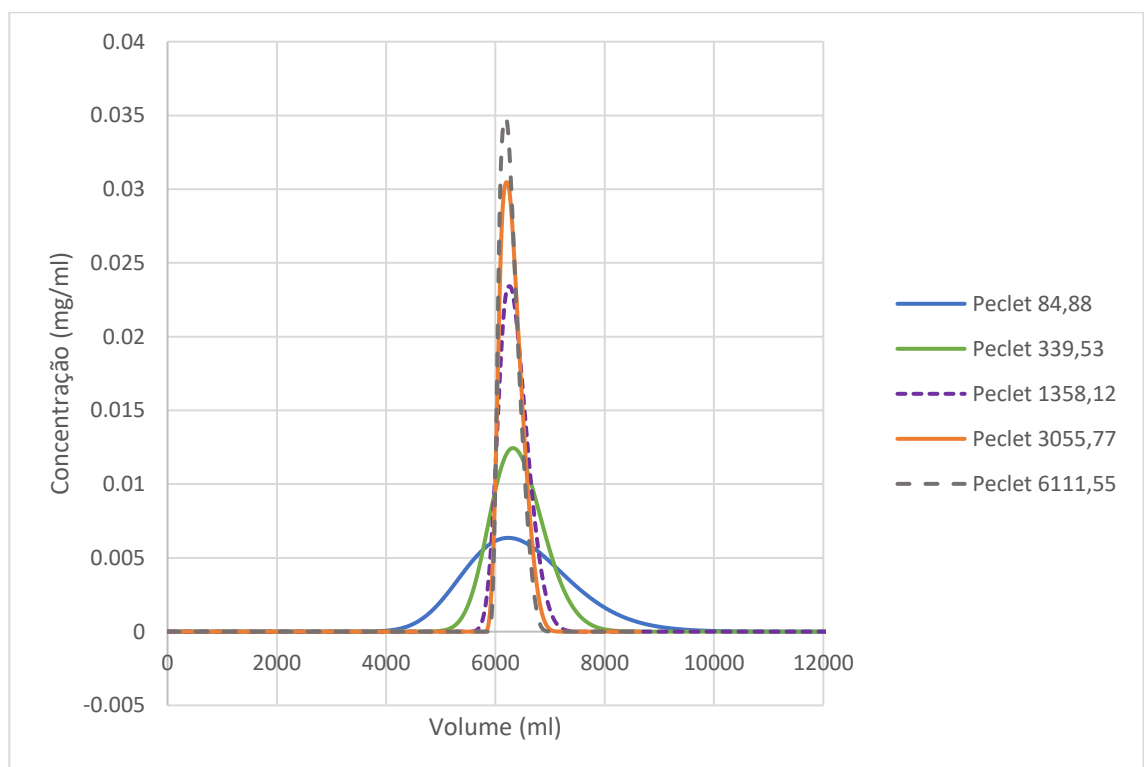


Fonte: Próprio autor.

A Figura 17 evidencia que independentemente do interpolador utilizado o comportamento da curva é similar, mesmo frente ao refinamento de malha utilizado. O comportamento ao utilizar o interpolador Upwind é similar aos outros interpoladores, não sendo idêntico devido à necessidade de maior refinamento da malha ao utilizar este interpolador, o que exige um grande tempo computacional, conforme discutido anteriormente. Além disso, verificou-se que mesmo utilizando malhas altamente refinadas (2000 nós para os interpoladores Upwind e Kappa, e 1000 nós para o interpolador Koren) o efeito de pico rígido no frente se mantém presente. Sendo assim, há evidências que o comportamento de pico rígido nas curvas de concentração não é um problema numérico.

Realizou-se novas simulações, alterando o diâmetro da coluna para 3cm, obtendo-se os resultados apresentados na Figura 18.

Figura 18. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes Péclets utilizando colunas com 3cm de diâmetro (simulações S81, S84, S87, S113 e S114).

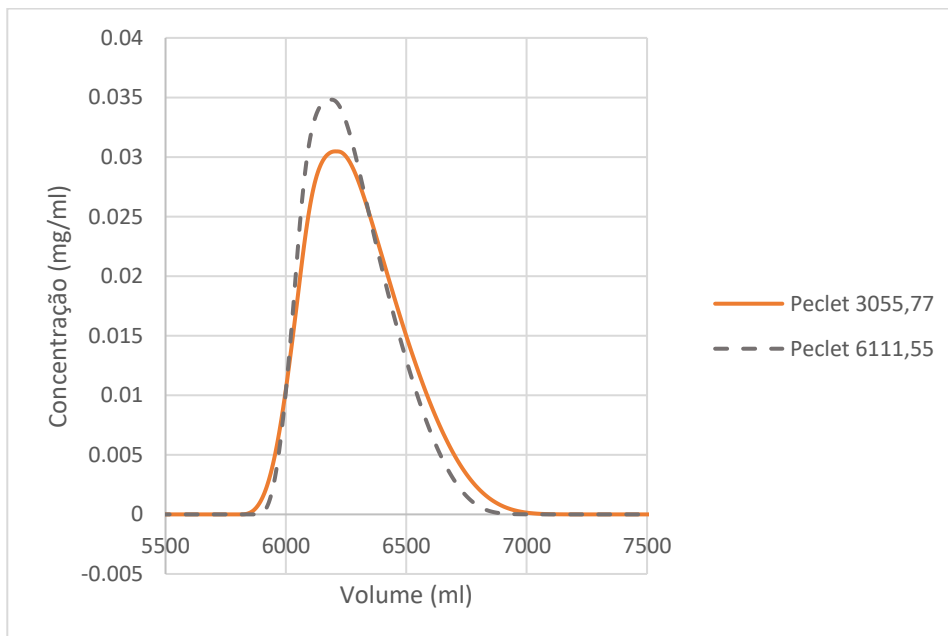


Fonte: Próprio autor.

Analisando os resultados apresentados na Figura 18 é perceptível que o aumento do diâmetro da coluna torna menos severo o efeito de pico rígido no frente, tornando as curvas de concentração na saída da coluna mais simétricas quanto maior o diâmetro, como pode ser observado com maior detalhe na a Figura 19. Este comportamento é esperado, já que o volume

e concentração de injeção de amostra foram mantidos constantes em todas as simulações, sendo inserido no sistema 1,5ml de amostra com concentração de 10mg/ml de molécula de interesse. Assim, na coluna com diâmetro menor, o volume de amostra ocupa um comprimento maior da coluna, ou seja, a banda contendo a amostra é maior na coluna com menor diâmetro, resultando em menor tempo de residência da molécula de interesse no interior da coluna, já que ambas colunas possuem o mesmo comprimento. Assim, o menor tempo de residência resulta em uma menor dispersão axial da molécula de interesse, gerando um efeito de pico rígido no fronte mais pronunciado para o mesmo comprimento de coluna. Este comportamento pode ser observado com maior detalhe ao comparar-se a Figura 16 e a Figura 19.

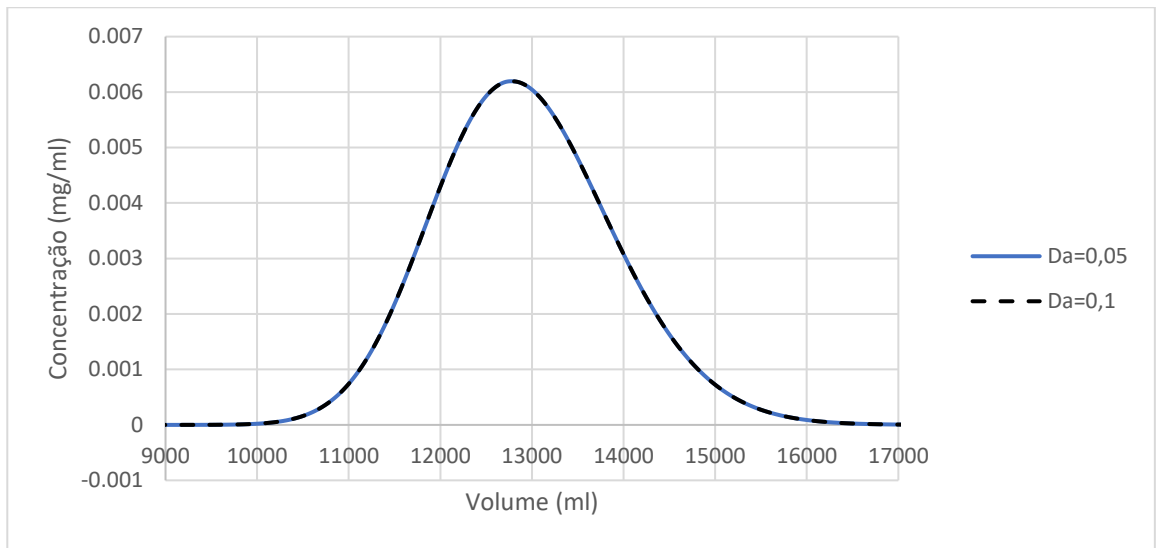
Figura 19. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para Péclets 3055,77 (S87) e 6111,55 (S113) utilizando colunas com 3cm de diâmetro.



Fonte: Próprio autor.

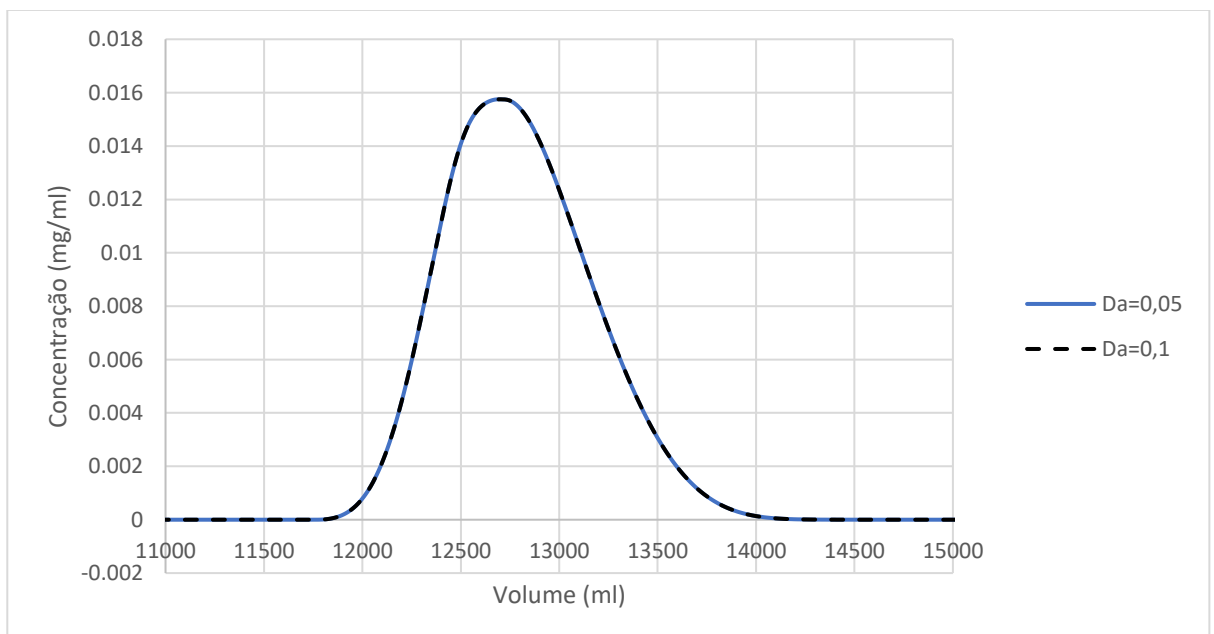
Como uma forma de verificar se o comportamento observado nas curvas de concentração na saída da coluna estava realmente relacionado ao número de Péclet, realizou-se simulações mantendo o parâmetro constante e alterando a vazão e a dispersão axial. Esta análise foi realizada com os Péclets 339,53 e 3055,77. Os ensaios computacionais resultaram nos resultados apresentados na Figura 20 e na Figura 21. As condições de processo utilizadas nos ensaios são apresentadas no apêndice A.

Figura 20. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes vazões e dispersões axiais mantendo o Péclet em 339,53 (simulações S91 e S101).



Fonte: Próprio autor.

Figura 21. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para diferentes vazões e dispersões axiais mantendo o Péclet em 3055,77 (simulações S94 e S103).



Fonte: Próprio autor.

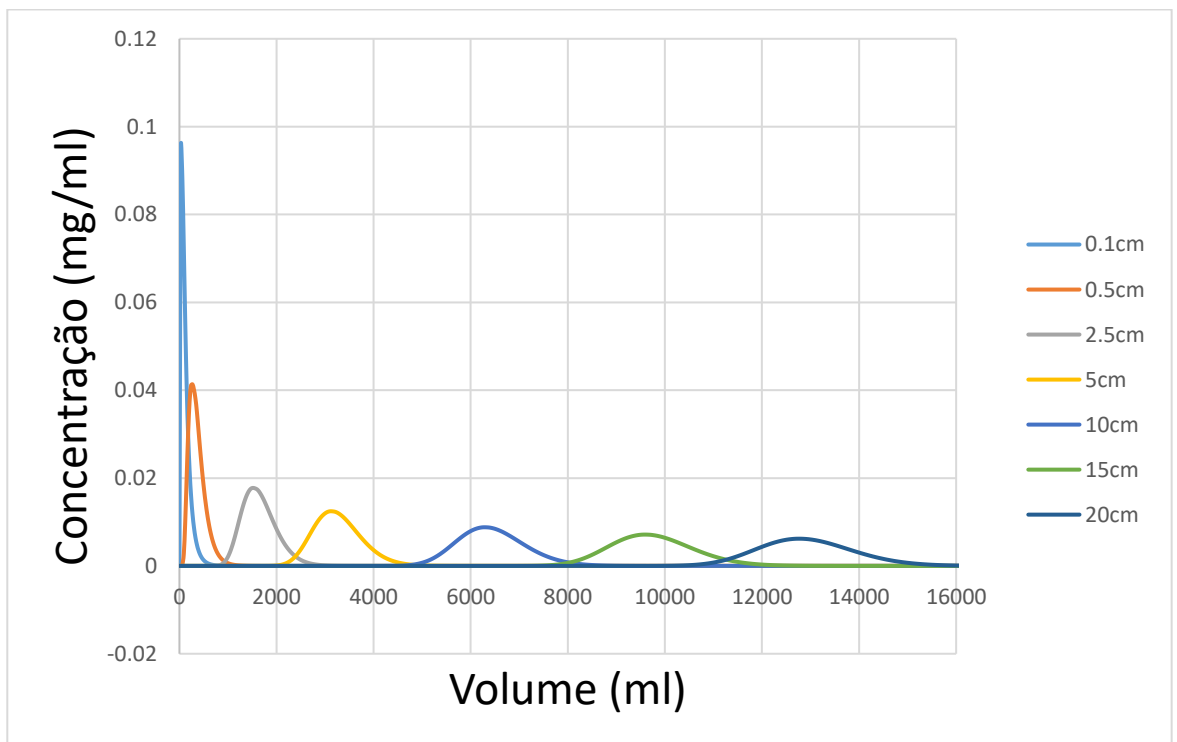
Analisando a Figura 20 e a Figura 21, observou-se que, assim como esperado, ao variar a vazão e a dispersão axial mantendo a razão entre a velocidade do fluido e o coeficiente de dispersão na coluna constante, as simulações foram idênticas tanto para Péclets baixos, como 339,53, quanto para Péclets altos, como 3055,77. Dessa forma fica evidente a influência do

número de Péclet no comportamento das curvas de concentração na saída da coluna. Em outras palavras, velocidade e dispersão axial não influem de modo independente no comportamento da cromatografia, ao invés disso, eles têm seu papel associado.

Para analisar em maiores detalhes o comportamento do afunilamento no sistema, fez-se necessária a avaliação do comportamento da curva de concentração da molécula de interesse ao longo do tempo em diferentes seções transversais da coluna. Realizou-se diversas simulações utilizando o interpolador Koren com uma malha contendo 200 pontos discretos, cujas condições de processo utilizadas são apresentadas no Apêndice A.

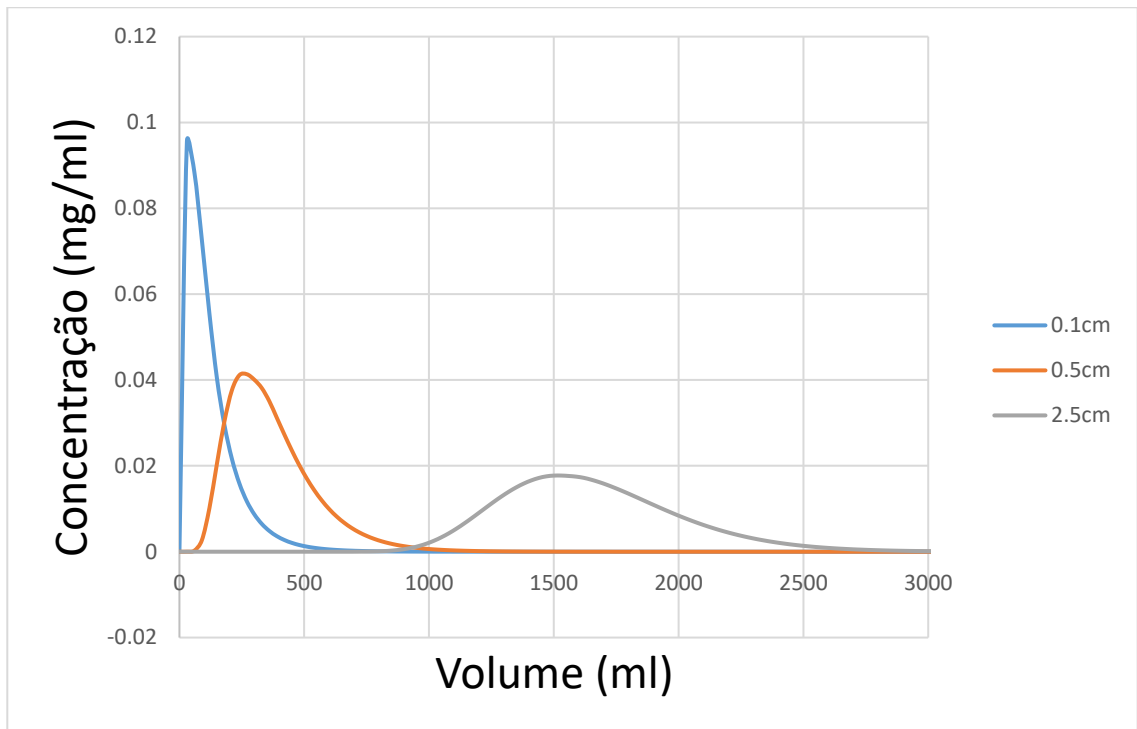
Os resultados obtidos a partir da simulação S125, de uma coluna com 20cm de comprimento e 3cm de diâmetro, são apresentados na Figura 22, na Figura 23 e na Figura 24.

Figura 22. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S125.



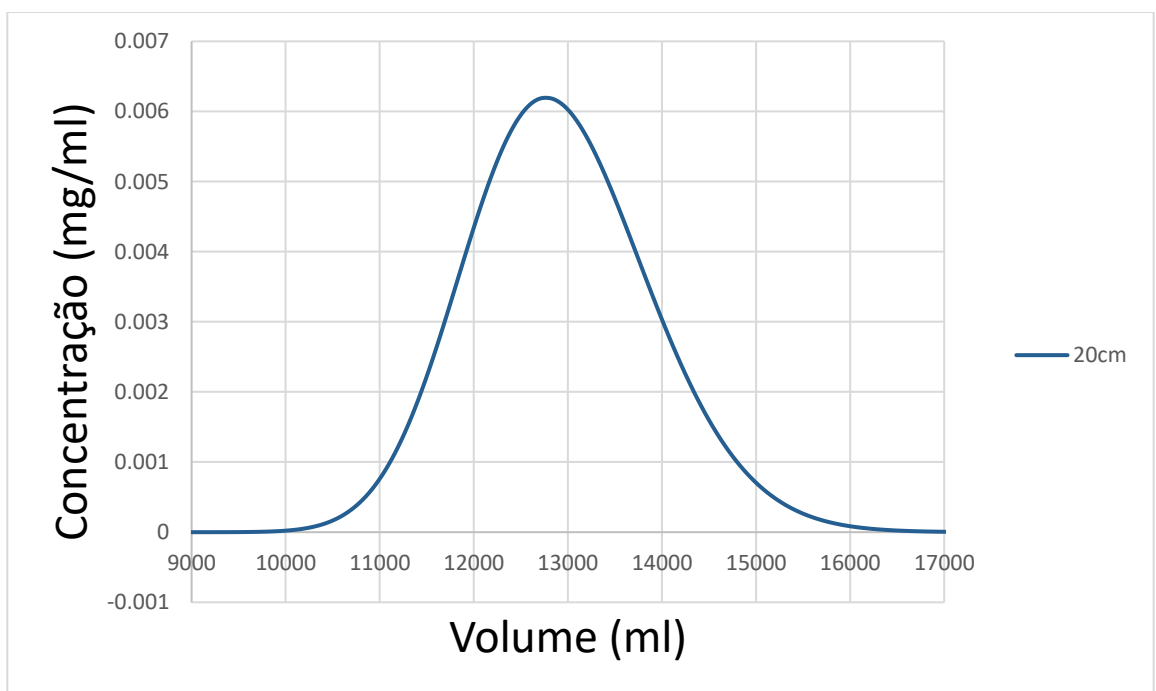
Fonte: Próprio autor.

Figura 23. Concentração em função do volume de fase móvel para as seções transversais iniciais da coluna da simulação S125.



Fonte: Próprio autor.

Figura 24. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 20cm da coluna da simulação S125.

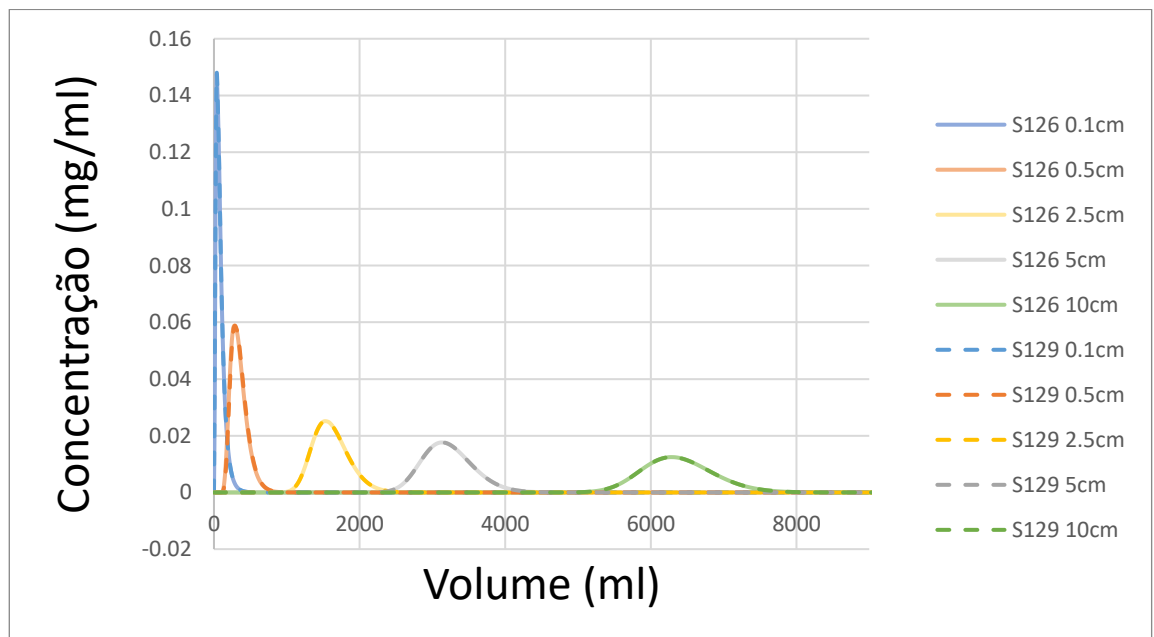


Fonte: Próprio autor.

A Figura 22 apresenta o comportamento da curva de concentração da molécula de interesse em função do volume de eluente injetado para diferentes seções transversais da coluna. Ao observar em maior detalhe as seções iniciais da coluna, na Figura 23, é perceptível que no início da coluna o efeito de afunilamento é mais evidente. Já ao observar a Figura 24, percebe-se que, ao final da coluna, o efeito é amenizado, sendo quase imperceptível. Este comportamento era esperado, já que quanto mais distante do ponto de entrada da coluna, maior é a dispersão total da molécula de interesse, devido ao maior tempo de residência, consequentemente reduzindo a rigidez do frente. Isso resulta no comportamento de padrão constante, observado ao utilizar isoterma favoráveis, onde o perfil da curva de concentração se mantém com comportamento constante após certo ponto da coluna, devido à dispersão da molécula de interesse (HARRISSON, 2003). Assim, isto promove perfis de concentração com comportamento gaussiano ao final da coluna, como observado nas simulações.

Realizou-se então a simulação de duas colunas de 10cm de comprimento e 3cm de diâmetro, S126 e S129, mantendo a razão entre velocidade do fluido e o coeficiente de dispersão de massa constante, alterando a vazão e a o coeficiente de dispersão axial, obtendo-se os resultados apresentados na Figura 25.

Figura 25. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna das simulações S126 e S129.

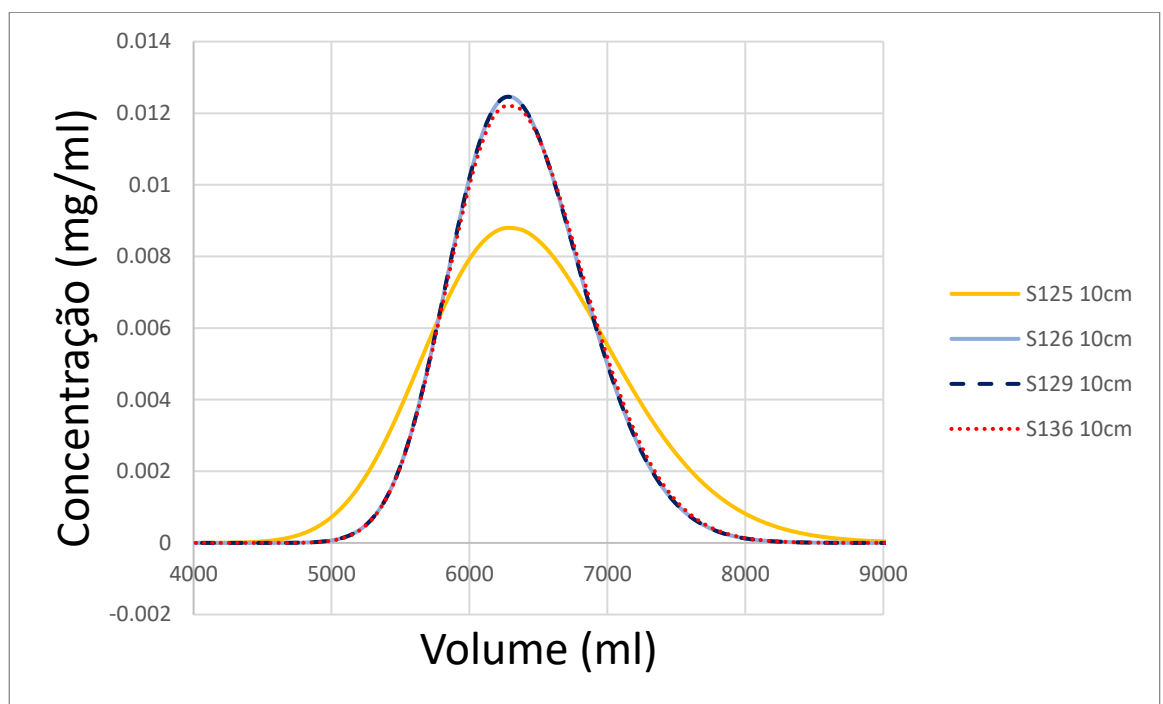


Fonte: Próprio autor.

Observando a Figura 25 é perceptível que mesmo alterando a vazão e a o coeficiente de dispersão, o comportamento das curvas de concentração é idêntico em todas as seções transversais da coluna ao manter a razão entre velocidade do fluido e o coeficiente de dispersão de massa constante.

As curvas de concentração obtidas nas seções transversais no comprimento de 10cm das colunas das simulações S125, S126, S129 e S136 são apresentadas na Figura 26.

Figura 26. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna das simulações S125, S126, S129 e S136.

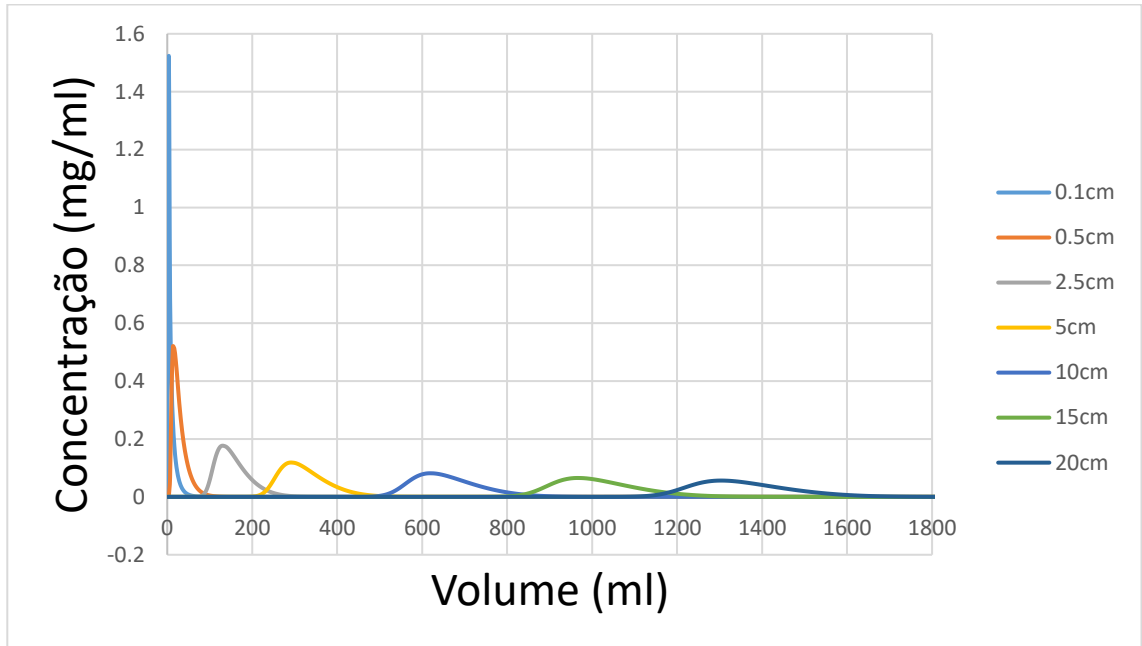


Fonte: Próprio autor.

Analisando a Figura 26, é perceptível que o comportamento das curvas das simulações S126, S129 e S136, que possuem a mesma razão entre u e D_a , é semelhante, apresentando mínimas diferenças, ocasionadas possivelmente devido a erros numéricos. Já a simulação S125, apesar de possuir o mesmo número de Péclet que as simulações S126 e S129, apresenta um perfil com comportamento levemente distinto às demais simulações, apresentando um pico mais disperso, devido à menor razão entre u e D_a . Assim como era esperado, isso demonstra que o comportamento da curva de concentração em uma seção transversal fixa da coluna é definido pela a razão entre velocidade do fluido e o coeficiente de dispersão de massa, que atuam de modo combinado.

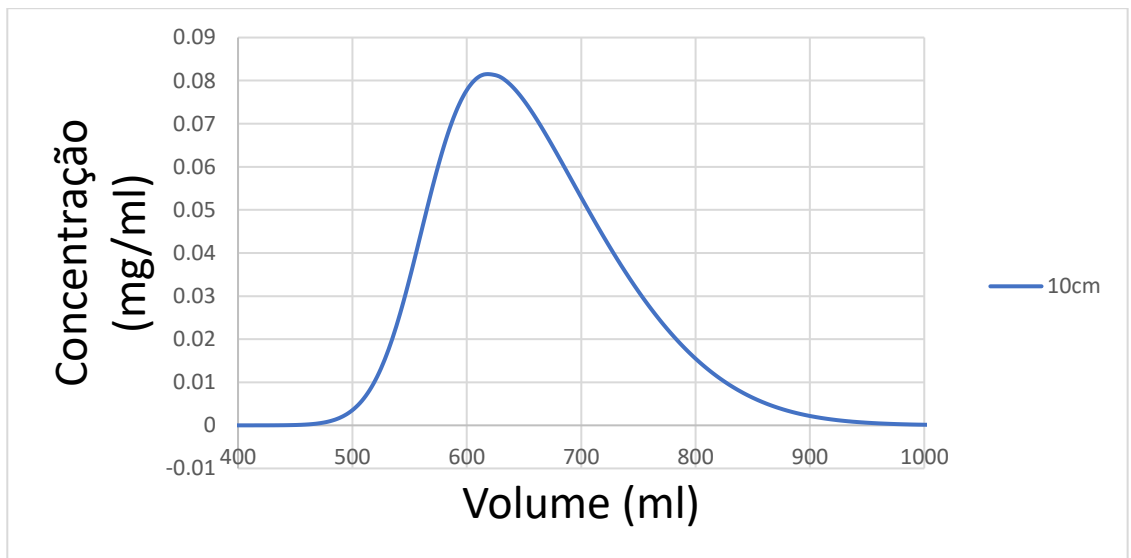
Para observar o efeito da variação do diâmetro da coluna no comportamento da curva de concentração realizou-se a simulação S127, onde o diâmetro da coluna foi reduzido para 1cm mantendo a razão entre u e D_a e o número de Péclet constantes em relação à simulação S125, obtendo-se as curvas apresentadas na Figura 27 e na Figura 28.

Figura 27. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S127.



Fonte: Próprio autor.

Figura 28. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna da simulação S127.

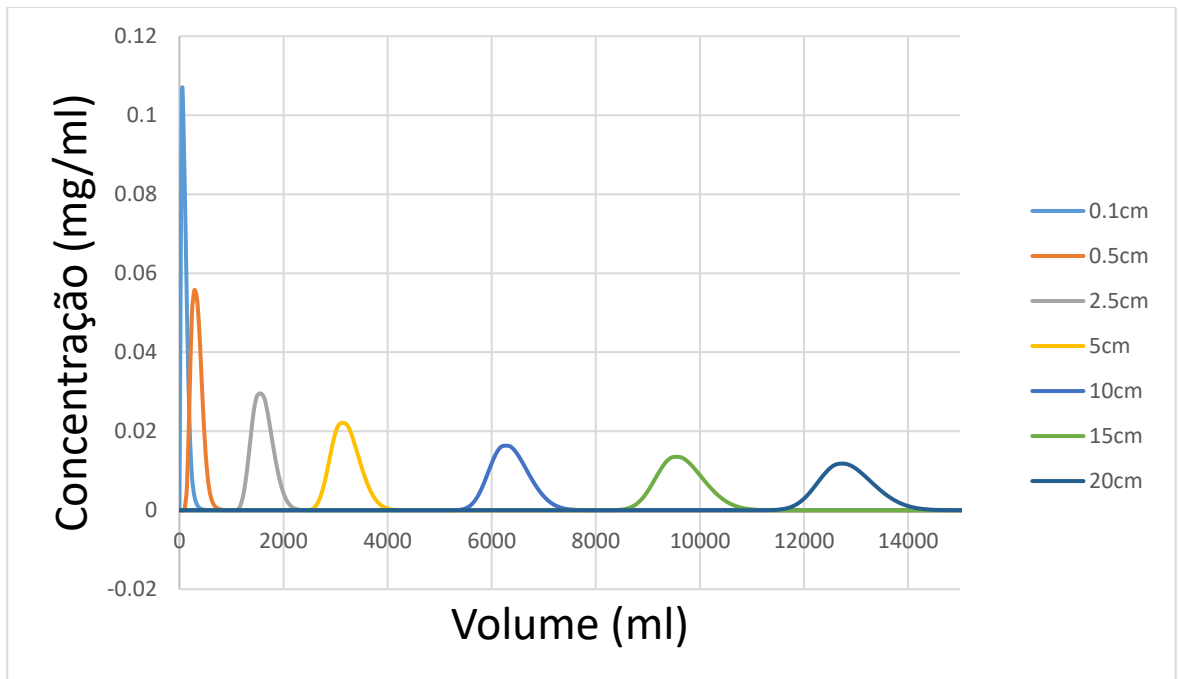


Fonte: Próprio autor.

Ao comparar a Figura 26 e a Figura 28 é perceptível uma ampliação na rigidez do pico no fronte da curva de concentração obtida na simulação S127, indicando que a redução do diâmetro da coluna gera de fato aumento do afunilamento do pico, efeito esperado, conforme discutido anteriormente.

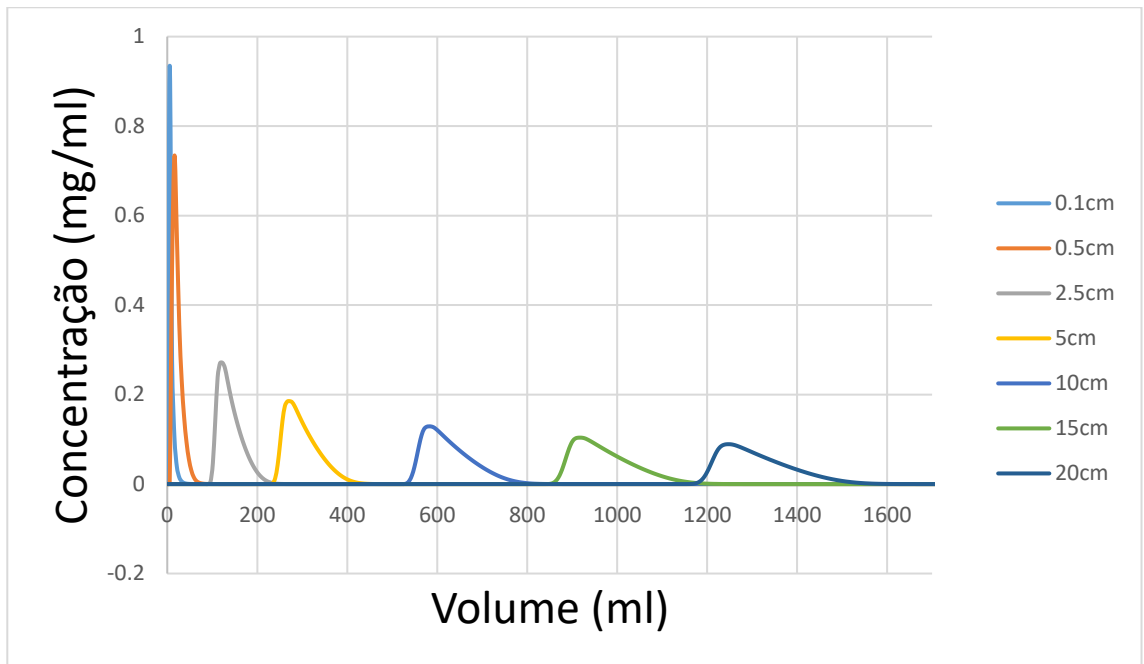
Para avaliar o efeito do aumento do número de Péclet no comportamento da curva de concentração ao longo da coluna mantendo o comprimento da coluna constante, realizou-se as simulações S130, S131, S132 e S133, onde foram avaliados os Péclets 1358,12 e 3055,77 para colunas com diâmetros de 3cm e 1cm. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 29, Figura 30, Figura 31 e na Figura 32.

Figura 29. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S130.



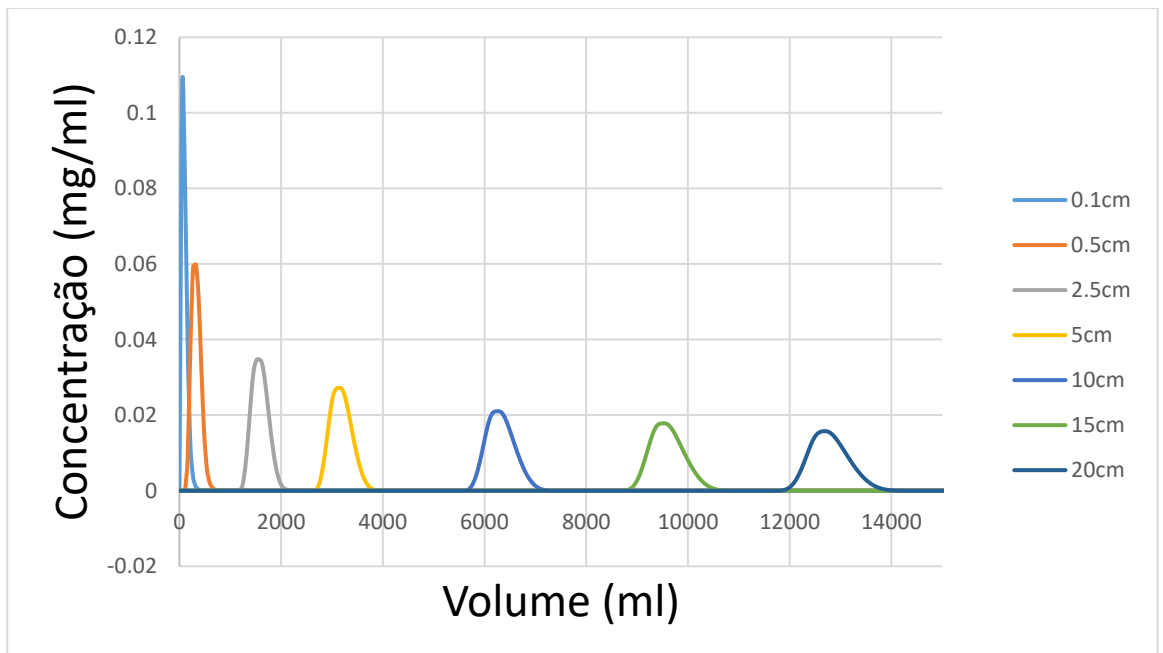
Fonte: Próprio autor.

Figura 30. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S131.



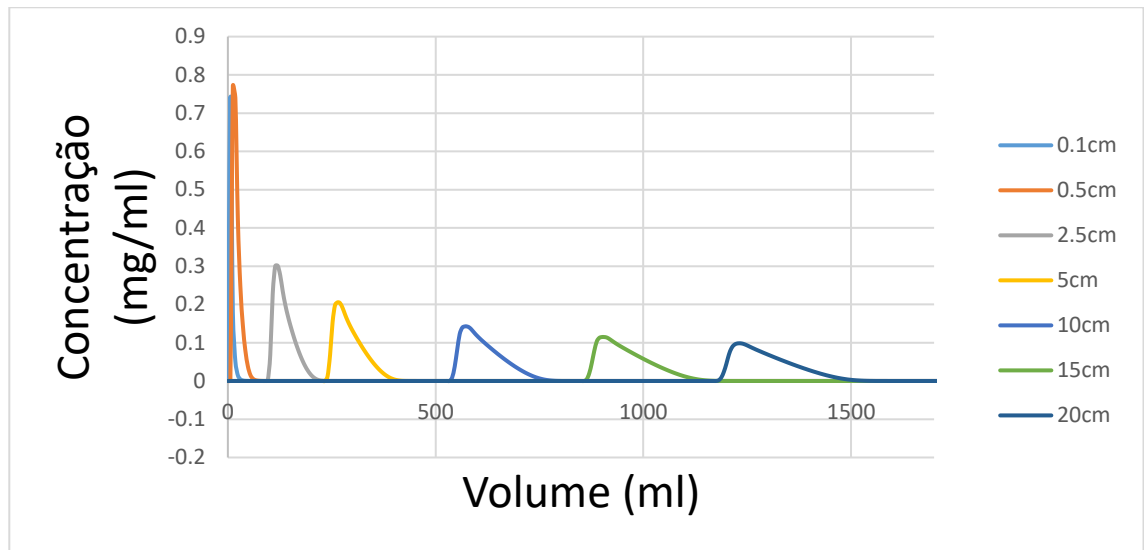
Fonte: Próprio autor.

Figura 31. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S132.



Fonte: Próprio autor.

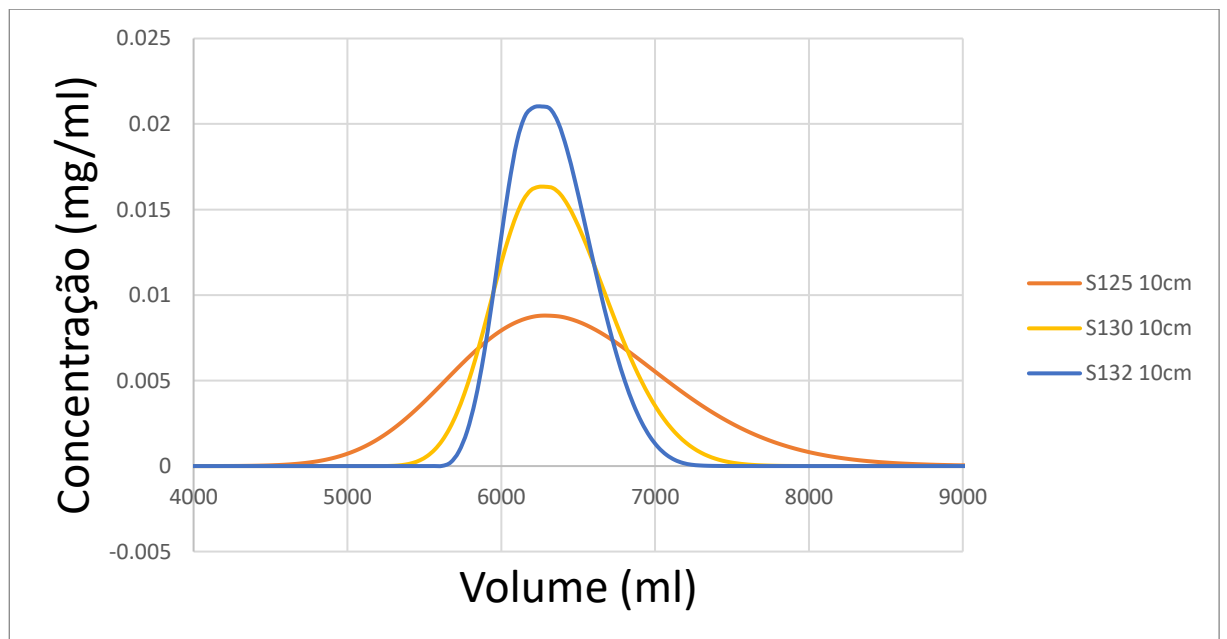
Figura 32. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S133.



Fonte: Próprio autor.

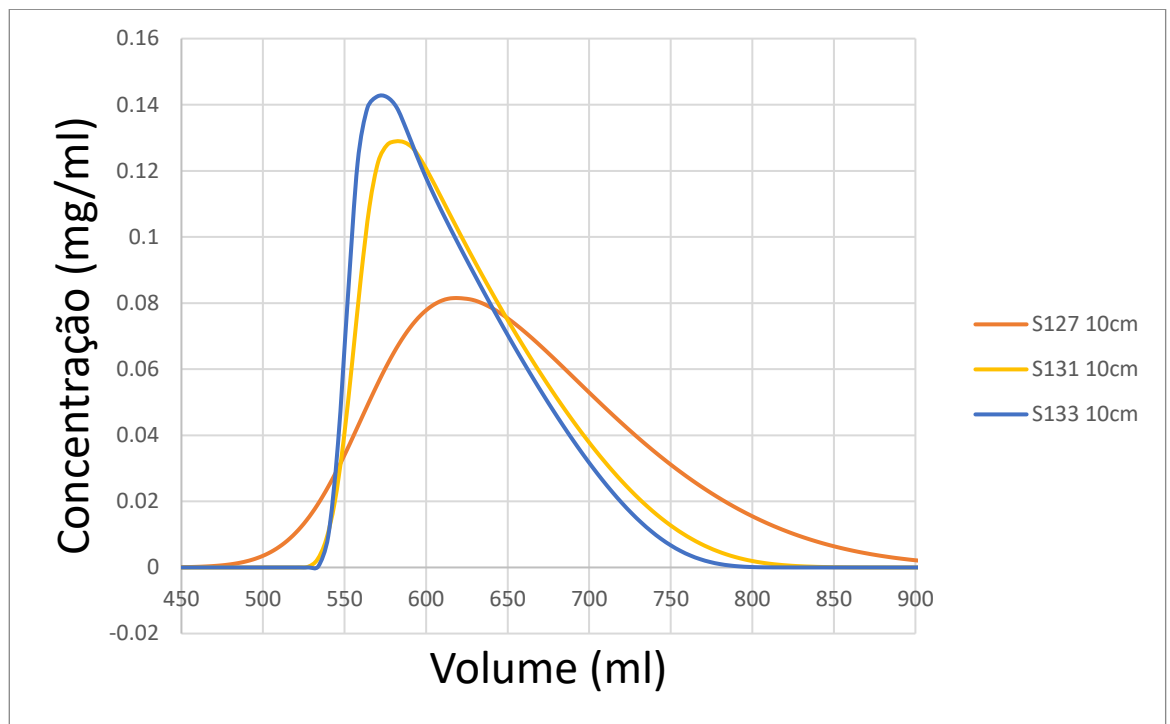
Analisando a Figura 29, Figura 30, Figura 31 e a Figura 32 é perceptível o aumento do efeito de afunilamento em comprimentos mais longos de coluna, ou seja, mais distantes do início da coluna, ao aumentar o número de Péclet e ao reduzir o diâmetro. Isto pode ser observado com maior clareza na Figura 33 e na Figura 34.

Figura 33. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna das simulações S125, S130 e S132.



Fonte: Próprio autor.

Figura 34. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 10cm da coluna das simulações S127, S131 e S133.

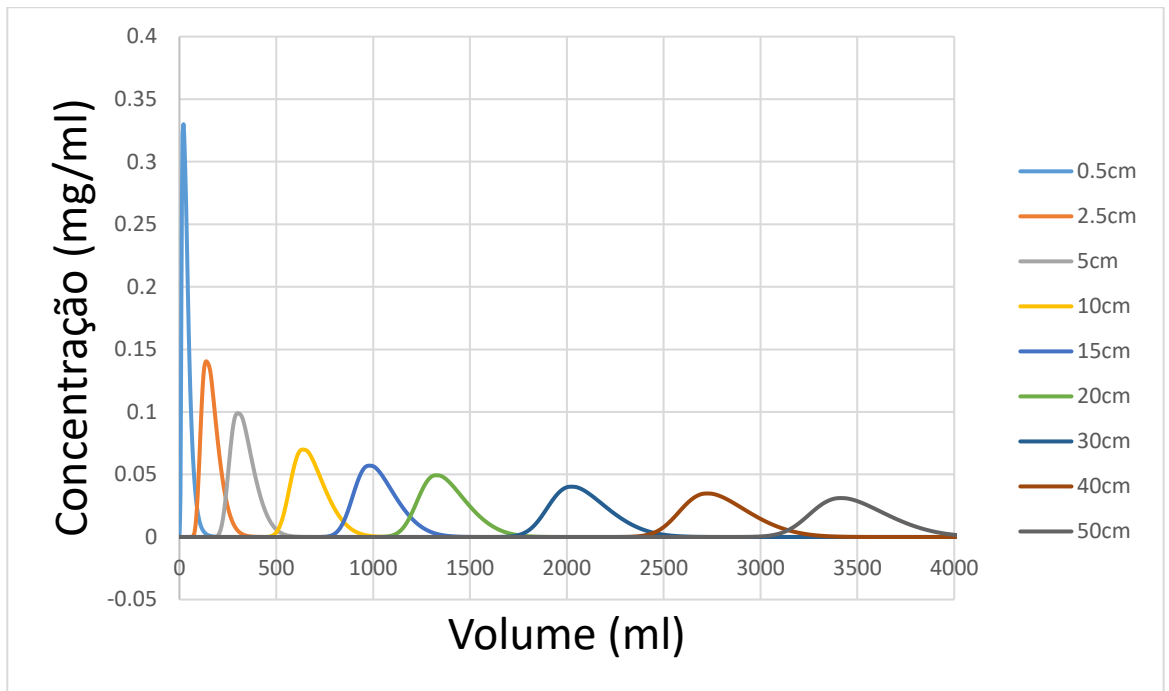


Fonte: Próprio autor.

A diferença entre a Figura 33 e a Figura 34 é o diâmetro da coluna de 3cm para 1cm, ficando explícito a influência da redução do diâmetro da coluna no aumento da rigidez do pico, efeito discutido anteriormente. Além disso, é perceptível que o aumento do número de Péclet leva ao maior afinamento e maior rigidez do pico. O comportamento já era esperado, pois o maior número de Péclet representa uma maior predominância da ação advectiva sobre a difusiva, tornando o pico menos disperso para o mesmo comprimento percorrido.

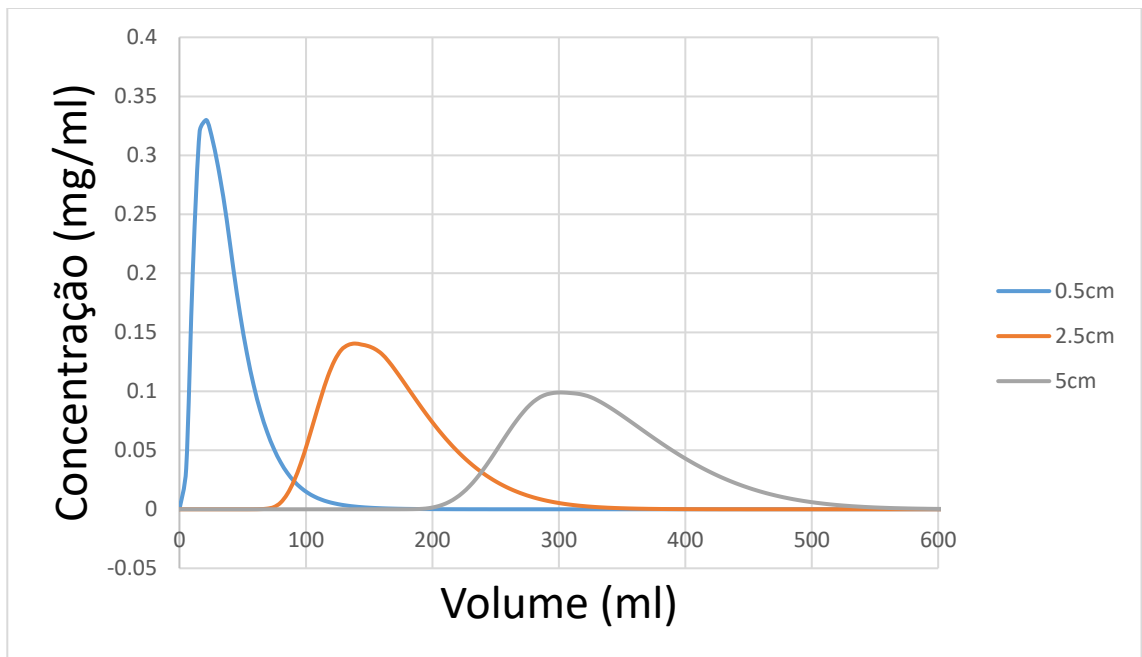
Como uma forma de verificar se o comportamento de amenização da rigidez do pico ao longo da coluna ocorria também em simulações de colunas com diâmetros pequenos, como 1 cm, que é uma condição onde anteriormente foi observado grande afinamento, realizou-se a simulação de uma coluna com 50cm de comprimento e 1cm de diâmetro, gerando os resultados apresentados na Figura 35, Figura 36 e Figura 37.

Figura 35. Concentração em função do volume de fase móvel para diferentes seções transversais da coluna da simulação S140.



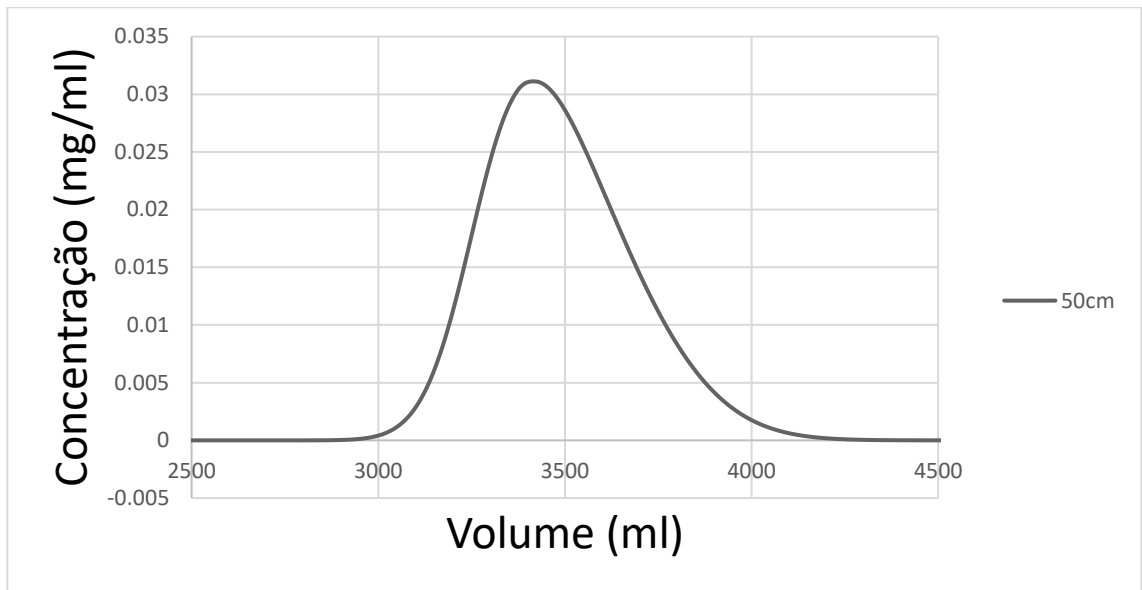
Fonte: Próprio autor.

Figura 36. Concentração em função do volume de fase móvel para as seções transversais iniciais da coluna da simulação S140.



Fonte: Próprio autor.

Figura 37. Concentração em função do volume de fase móvel para a seção transversal do comprimento igual a 50cm da coluna da simulação S140.



Fonte: Próprio autor.

Observando a Figura 35, a Figura 36 e a Figura 37, percebe-se que assim como esperado, utilizando uma coluna com 1cm de diâmetro, nas seções transversais iniciais da coluna o comportamento de afunilamento é mais preponderante, porém, ao longo da coluna este comportamento é amenizado, se tornando quase imperceptível em certo ponto da coluna, fazendo com que a curva assuma um padrão gaussiano, que é mantido de forma constante até o final da coluna, como evidenciado na Figura 37.

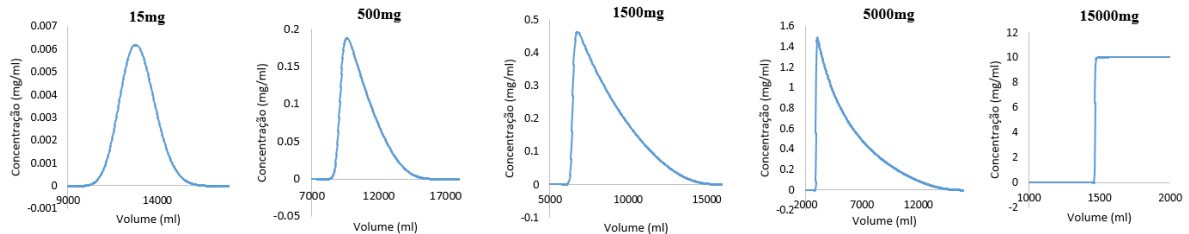
A partir das simulações e discussões apresentadas, há evidências suficientes para afirmar que o comportamento rígido do pico no fronte é um fenômeno físico, e não um problema numérico das condições utilizadas na simulação. Ademais, foi possível analisar fisicamente o desenvolvimento do pico para um comportamento de padrão constante, comprimento esse que é mais curto para uma razão velocidade-dispersão menor.

4.4 Estudo da influência da quantidade de molécula de interesse injetada no sistema nas simulações

Visando a estudar a influência da quantidade de molécula de interesse injetada no sistema nas simulações, realizou-se 5 simulações nas mesmas condições de processo (S160, S162, S163, S164 e S168), alterando a massa de amostra injetada no sistema. As massas de molécula de interesse testadas foram de 15mg, 500mg, 1500mg, 5000mg e 15000mg,

resultando nas curvas apresentadas na Figura 38. Ressalta-se que as massas eram alteradas, mantida a concentração na injeção, assim, é necessário manter a injeção por maior tempo (maior volume acumulado).

Figura 38. Concentração ao final da coluna em função do volume de fase móvel para as simulações S160, S162, S163, S164 e S168.

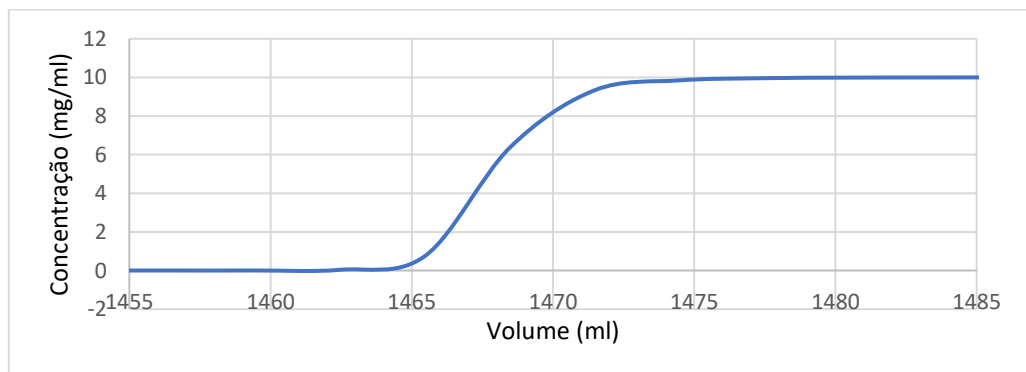


Fonte: Próprio autor.

Observando a Figura 38 é perceptível que o aumento da massa de molécula de interesse injetada no sistema gera um aumento na rigidez do pico no frente. Este comportamento é esperado, já que ao aumentar a massa de molécula de interesse injetada no sistema aumenta-se o volume de amostra injetado, assim, a amostra ocupa um comprimento maior da coluna. Deste modo, a banda contendo a amostra é alargada, o que também resulta em menor tempo de residência da molécula de interesse no interior da coluna. Assim, o menor tempo de residência resulta em uma menor dispersão axial da molécula de interesse, gerando uma maior severidade no efeito de pico rígido no frente.

Na curva referente à injeção de 15000mg de molécula de interesse na Figura 38 é perceptível a saturação da coluna, onde a partir de certo momento a concentração de saída é a mesma concentração de alimentação de amostra (10 mg/ml). A curva de saturação da coluna é conhecida como curva de ruptura (ou *breakthrough curve*) e pode ser vista com maior detalhamento na Figura 39.

Figura 39. Curva de ruptura obtida a partir da simulação com injeção de 15000mg de amostra (S162).



Fonte: Próprio autor.

A curva de ruptura é de grande importância no estudo de colunas cromatográficas, principalmente quando voltadas à cromatografia on-off (ou simplesmente operação unitária de adsorção). Com a curva é possível determinar o ponto de quebra (*Breakpoint*) da coluna, quando a concentração de molécula de interesse na saída atinge seu limite, sendo possível a determinação da quantidade máxima de amostra que pode ser injetada. A curva de ruptura possui também grande utilização em métodos de aumento de escala, como o método LUB (*length of unused bed*). Tanto o ponto de quebra quanto a forma da curva de ruptura são características muito importantes para determinar o funcionamento e a dinâmica de uma coluna de adsorção (SOUSA et al., 2007; AKSU et al., 2006).

5. CONCLUSÕES

Em vista dos resultados obtidos e das discussões levantadas, o estudo cumpriu seu objetivo inicial, sendo testado o software para simulação de cromatografia. Utilizando de artifícios como testes de sensibilidade paramétrica e simulações aplicadas, os resultados foram avaliados com base na expectativa de forma do pico e comportamento com variáveis do sistema, que são reportados na literatura, concluindo-se que o software representa de maneira fiel os resultados esperados quando um interpolador e tamanho de malha adequados são utilizados, sendo utilizado o interpolador Koren com malha de 200 pontos discretos em grande parte das simulações, já que esta era a configuração que permitia que diversas simulações fossem realizadas em tempo hábil e com resultados coerentes para as condições de processo estudadas. Avaliou-se o comportamento de diversos interpoladores em relação a precisão dos resultados e tempo computacional requerido, sendo obtidos resultados relevantes para demais estudos que utilizem o software ou métodos similares. Verificou-se que a instabilidade apresentada ao utilizar o interpolador Kappa é solucionada ao aumentar o refinamento da malha, porém isto demanda um maior tempo computacional, sendo preferível a utilização do interpolador Koren com malhas reduzidas para as condições utilizadas nos ensaios deste estudo. As diversas simulações demonstraram que o comportamento de pico rígido no fronte (afunilamento) pode ser explicado por um fenômeno físico, e não um problema numérico das condições utilizadas na simulação, sendo demonstrada a capacidade do software em representar de maneira coerente os fenômenos físico-químicos envolvidos na cromatografia. Ademais, foi demonstrada a utilidade do software na determinação de curvas de ruptura, fundamentais na determinação do funcionamento e da dinâmica de uma coluna de adsorção, por simulação, desde que ajustados ou conhecidos os parâmetros do modelo equilíbrio dispersivo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSU, Z.; GÖNEN, F. 2006. Binary biosorption of phenol and chromium (VI) onto immobilized activated sludge in a packed bed: Prediction of kinetic parameters and breakthrough curves. *Separation and Purification Technology*, v. 49, p. 205-216.

ATTENE-RAMOS M.S.; AUSTIN C.P.; XIA M. High Throughput Screening. *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*. Academic Press. 2014. Pages 916-917, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00209-8>.

AVRAHAM, T. Discretization Schemes – Upwinding. 2020. Disponível em: <https://cfdisrael.blog/2020/04/14/discretization-schemes-upwinding/>. Acesso em: Setembro de 2022.

BBC Research. Biorefinery Products: Global Markets. Jan 2021. Disponível em: <https://www.bccresearch.com/market-research/energy-and-resources/biorefinery-products-markets-report.html>. Acesso em: maio de 2022.

BESENHARD, Maximilian O.; TSATSE, Aikaterini; MAZZEI, Luca; SORENSEN, Eva. Recent advances in modelling and control of liquid chromatography. *Current Opinion in Chemical Engineering*, vol. 32, p. 100685, 1 Jun. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2021.100685>.

BRHANE, Kewani Welay; QAMAR, Shamsul; SEIDEL-MORGENSTERN, Andreas. Two-Dimensional General Rate Model of Liquid Chromatography Incorporating Finite Rates of Adsorption-Desorption Kinetics and Core-Shell Particles. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, vol. 58, no. 19, p. 8296–8308, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00364>.

CHAGURI, João L. Cromatografia líquida. 2022. Disponível em: <https://ceatox.ibb.unesp.br/padrao.php?id=15> Acesso em: maio de 2022.

GOLSHAN-SHIRAZI, S.; GUIOCHON, G. The Equilibrium-Dispersive Model of Chromatography. *Theoretical Advancement in Chromatography and Related Separation Techniques*, p. 35–59, 1992. https://doi.org/10.1007/978-94-011-2686-1_2

GRITTI, Fabrice; GUIOCHON, Georges. Exact peak compression factor in linear gradient elution. *Journal of Chromatography A*, vol. 1212, no. 1–2, p. 35–40, Nov. 2008. DOI 10.1016/j.chroma.2008.09.113.

GUIOCHON, Georges; FELINGER, Attila; SHIRAZI, Dean G.; KATTI, Anita M. *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*. 2nd ed. [S. l.]: Academic Press, 2006.

HARRISON, Roger; TODD, Paul; RUDGE, Scott; PETRIDES, Demetri. *Bioseparations science and engineering*. [S. l.: s. n.], 2015.

HOUDE, Damian J.; BERKOWITZ, Steven A. *Biophysical characterization of proteins in developing biopharmaceuticals*. 2nd Editio. [S. l.]: Elsevier, 2019. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-03008-2>.

JAVEED, Shumaila; QAMAR, Shamsul; SEIDEL-MORGENSTERN, Andreas; WARNECKE, Gerald. Efficient and accurate numerical simulation of nonlinear chromatographic processes. *Computers and Chemical Engineering*, vol. 35, no. 11, p. 2294–2305, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2010.10.002>.

ŁACKI, K. M. (2012). High-throughput process development of chromatography steps: Advantages and limitations of different formats used. *Biotechnology Journal*, 7 (10), 1192–1202.

MARKETS AND MARKETS. *Preparative and Process Chromatography Market by Type (Preparative (Chemicals and Reagents, Resin (Affinity, Ion Exchange), Column, Systems (Liquid Chromatography), Services), Process), End User (Research Laboratories) - Global Forecasts to 2026*. Jan 2022. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/preparative-process-chromatography-market-151748164.html>. Acesso em: maio de 2022.

MEDI, Bijan; AMANULLAH, Mohammad. Application of a finite-volume method in the simulation of chromatographic systems: Effects of flux limiters. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, vol. 50, no. 3, p. 1739–1748, 2011. <https://doi.org/10.1021/ie100617c>.

MOLLERUP, Jørgen M.; HANSEN, Thomas Budde; KIDAL, Steffen; SEJERGAARD, Lars; STABY, Arne. Development, modelling, optimisation and scale-up of chromatographic purification of a therapeutic protein. *Fluid Phase Equilibria*, vol. 261, no. 1–2, p. 133–139, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2007.07.047>.

NAZARIO, Carlos Eduardo D.; LANÇAS, Fernando M. 2013. Suportes cromatográficos e fases estacionárias para cromatografia líquida: preparo, evolução e tendências. <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2013.009>

NFOR, Beckley K.; VERHAERT, Peter D.E.M.; VAN DER WIELEN, Luuk A.M.; HUBBUCH, Jürgen; OTTENS, Marcel. Rational and systematic protein purification process development: the next generation. *Trends in Biotechnology*, vol. 27, no. 12, p. 673–679, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.09.002>.

PIMENTEL R. Adsorção de Cromo VI utilizando carvão ativado produzido do mesocarpo do coco verde, 2018.

QAMAR, Shamsul; SATTAR, Fouzia Abdul; ABBASI, Javeria Nawaz; SEIDEL-MORGENSTERN, Andreas. Numerical simulation of nonlinear chromatography with core-shell particles applying the general rate model. *Chemical Engineering Science*, vol. 147, p. 54–64, 2016. DOI 10.1016/j.ces.2016.03.027. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ces.2016.03.027>.

RAPP, Bastian E. *Microfluidics: Modelling, Mechanics and Mathematics*. 2017. <https://doi.org/10.1016/C2012-0-02230-2>

ROCH, Patricia; SELLBERG, Anton; ANDERSSON, Niklas; GUNNE, Matthias; HAUPTMANN, Peter; NILSSON, Bernt; MANDENIUS, Carl Fredrik. Model-based monitoring of industrial reversed phase chromatography to predict insulin variants. *Biotechnology Progress*, vol. 35, no. 4, p. 1–10, 2019. <https://doi.org/10.1002/btpr.2813>.

SALERNO, Mario Sergio; MATSUMOTO, Cristiane; FERRAZ, Isabela. Biofármacos no Brasil: características, importância e delineamento de políticas públicas para seu desenvolvimento. p. 86, 2018.

SHAHALAM, A. B. et al. Competitive Adsorption Phenomena of Petrochemicals – Benzene, Toluene, and Xylene in Hexane in Fixed-Beds of Sands. *Water, Air, & Soil Pollution*, Vol. 95, p. 221-235, 1997.

SHEKHAWAT, Lalita K.; RATHORE, Anurag S. 2019. An overview of mechanistic modeling of liquid chromatography, *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49:6, 623-638, DOI: 10.1080/10826068.2019.1615504

SOUSA, F. W. D. Adsorção de metais tóxicos em efluente aquoso usando pó da casca de coco verde tratado. 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil. Saneamento Ambiental) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

STABY, Arne; RATHORE, Anurag S.; AHUJA, Satinder (Eds.). *Preparative Chromatography for Separation of Proteins*. New Jersey: John Wiley and Sons, 2017. <https://doi.org/10.1002/9781119031116>.

VIEIRA, Felipe C. Modelagem de coluna cromatográfica para o desenvolvimento de processos de separação de biomoléculas. São Carlos, 2022.

7. APÊNDICES

APÊNDICE A - CONDIÇÕES DE PROCESSO ADOTADAS NAS SIMULAÇÕES

Simulação	Modelo de isoterma	Pontos discretos (mesh)	Interpolador	Massa de molécula de interesse (mg)	Q (ml/min)	Da (cm ² /min)	L [cm]	Diâmetro (cm)	u (cm/min)	Péclet	u/Da (cm ⁻¹)
S1	Langmuir	50	kappa	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S2	Langmuir	100	kappa	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S3	Langmuir	200	kappa	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S4	Langmuir	500	kappa	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S5	Langmuir	1000	kappa	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S6	Langmuir	1500	kappa	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S7	Langmuir	50	Koren	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S8	Langmuir	100	Koren	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S9	Langmuir	200	Koren	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S10	Langmuir	500	Koren	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S11	Langmuir	1000	Koren	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S12	Langmuir	1500	Koren	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S13	Langmuir	50	Upwind	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S14	Langmuir	100	Upwind	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S15	Langmuir	200	Upwind	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S16	Langmuir	500	Upwind	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S17	Langmuir	1000	Upwind	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57

S18	Langmuir	1500	Upwind	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S19	Langmuir	50	Minmod	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S20	Langmuir	100	Minmod	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S21	Langmuir	200	Minmod	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S22	Langmuir	500	Minmod	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S23	Langmuir	1000	Minmod	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S24	Langmuir	1500	Minmod	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S25	Langmuir	50	Superbee	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S26	Langmuir	100	Superbee	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S27	Langmuir	200	Superbee	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S28	Langmuir	500	Superbee	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S29	Langmuir	1000	Superbee	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S30	Langmuir	1500	Superbee	15	12,00	0,05	5,00	1,25	9,78	977,85	195,57
S41	Langmuir	200	kappa	15	12,00	0,05	30,00	1,25	9,78	5867,09	195,57
S42	Langmuir	500	kappa	15	12,00	0,05	30,00	1,25	9,78	5867,09	195,57
S43	Langmuir	1000	kappa	15	12,00	0,05	30,00	1,25	9,78	5867,09	195,57
S44	Langmuir	1500	kappa	15	12,00	0,05	30,00	1,25	9,78	5867,09	195,57
S63	Langmuir	1000	Upwind	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S64	Langmuir	200	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S65	Langmuir	1000	Kappa	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S68	Langmuir	250	Upwind	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S69	Langmuir	500	Upwind	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S70	Langmuir	750	Upwind	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S71	Langmuir	1250	Upwind	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S72	Langmuir	1500	Upwind	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S73	Langmuir	50	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S74	Langmuir	100	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S75	Langmuir	150	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95

S76	Langmuir	250	Kappa	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S80	Langmuir	500	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S81	Langmuir	200	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S84	Langmuir	200	Koren	15	48,00	0,05	10,00	3,00	6,79	1358,12	135,81
S86	Langmuir	200	Koren	15	12,00	0,05	10,00	1,00	15,28	3055,77	305,58
S87	Langmuir	200	Koren	15	108,00	0,05	10,00	3,00	15,28	3055,77	305,58
S91	Langmuir	200	Koren	15	6,00	0,05	20,00	3,00	0,85	339,53	16,98
S94	Langmuir	200	Koren	15	54,00	0,05	20,00	3,00	7,64	3055,77	152,79
S101	Langmuir	200	Koren	15	12,00	0,10	20,00	3,00	1,70	339,53	16,98
S103	Langmuir	200	Koren	15	108,00	0,10	20,00	3,00	15,28	3055,77	152,79
S109	Langmuir	200	Koren	15	1,33	0,05	10,00	1,00	1,70	339,53	33,95
S110	Langmuir	200	Koren	15	5,33	0,05	10,00	1,00	6,79	1358,12	135,81
S111	Langmuir	200	Koren	15	0,33	0,05	10,00	1,00	0,42	84,88	8,49
S112	Langmuir	200	Koren	15	24,00	0,05	10,00	1,00	30,56	6111,55	611,15
S113	Langmuir	200	Koren	15	216,00	0,05	10,00	3,00	30,56	6111,55	611,15
S114	Langmuir	200	Koren	15	3,00	0,05	10,00	3,00	0,42	84,88	8,49
S119	Linear	200	Koren	15	12,00	0,05	10,00	1,00	15,28	3055,77	305,58
S125	Langmuir	200	Koren	15	6,00	0,05	20,00	3,00	0,85	339,53	16,98
S126	Langmuir	200	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S127	Langmuir	200	Koren	15	0,67	0,05	20,00	1,00	0,85	339,53	16,98
S129	Langmuir	200	Koren	15	6,00	0,03	10,00	3,00	0,85	339,53	33,95
S130	Langmuir	200	Koren	15	24,00	0,05	20,00	3,00	3,40	1358,12	67,91
S131	Langmuir	200	Koren	15	2,67	0,05	20,00	1,00	3,40	1358,12	67,91
S132	Langmuir	200	Koren	15	54,00	0,05	20,00	3,00	7,64	3055,77	152,79
S133	Langmuir	200	Koren	15	6,00	0,05	20,00	1,00	7,64	3055,77	152,79
S136	Langmuir	200	Koren	15	12,00	0,05	20,00	3,00	1,70	679,06	33,95
S137	Langmuir	2000	Upwind	15	12,00	0,05	10,00	1,00	15,28	3055,77	305,58
S138	Langmuir	2000	Kappa	15	12,00	0,05	10,00	1,00	15,28	3055,77	305,58

S139	Langmuir	1000	Koren	15	12,00	0,05	10,00	1,00	15,28	3055,77	305,58
S140	Langmuir	200	Koren	15	0,53	0,05	50,00	1,00	0,68	679,06	13,58
S141	Langmuir	250	Kappa	15	12,00	0,00	10,00	3,00	1,70	33953,05	3395,31
S142	Langmuir	250	Koren	15	12,00	0,00	10,00	3,00	1,70	33953,05	3395,31
S143	Langmuir	250	Kappa	15	1200,00	0,05	10,00	3,00	169,77	33953,05	3395,31
S144	Langmuir	250	Kappa	15	12,00	0,05	10,00	1,00	15,28	3055,77	305,58
S145	Langmuir	250	Kappa	15	18,00	0,05	10,00	3,00	2,55	509,30	50,93
S146	Langmuir	250	Kappa	15	24,00	0,05	10,00	3,00	3,40	679,06	67,91
S147	Langmuir	250	Kappa	15	30,00	0,05	10,00	3,00	4,24	848,83	84,88
S148	Langmuir	250	Kappa	15	36,00	0,05	10,00	3,00	5,09	1018,59	101,86
S149	Langmuir	250	Kappa	15	42,00	0,05	10,00	3,00	5,94	1188,36	118,84
S150	Langmuir	250	Kappa	15	48,00	0,05	10,00	3,00	6,79	1358,12	135,81
S151	Langmuir	250	Kappa	15	54,00	0,05	10,00	3,00	7,64	1527,89	152,79
S152	Langmuir	250	Kappa	15	60,00	0,05	10,00	3,00	8,49	1697,65	169,77
S153	Langmuir	250	Kappa	15	66,00	0,05	10,00	3,00	9,34	1867,42	186,74
S154	Langmuir	250	Kappa	15	72,00	0,05	10,00	3,00	10,19	2037,18	203,72
S155	Langmuir	250	Koren	15	12,00	0,05	10,00	3,00	1,70	339,53	33,95
S156	Langmuir	250	Koren	15	1200,00	0,05	10,00	3,00	169,77	33953,05	3395,31
S157	Langmuir	250	Koren	15	12,00	0,05	10,00	1,00	15,28	3055,77	305,58
S160	Langmuir	200	Koren	1500	6,00	0,05	20,00	3,00	0,85	339,53	16,98
S162	Langmuir	200	Koren	15000	6,00	0,05	20,00	3,00	0,85	339,53	16,98
S163	Langmuir	200	Koren	15	6,00	0,05	20,00	3,00	0,85	339,53	16,98
S164	Langmuir	200	Koren	500	6,00	0,05	20,00	3,00	0,85	339,53	16,98
S168	Langmuir	200	Koren	5000	6,00	0,05	20,00	3,00	0,85	339,53	16,98

APÊNDICE B - RESULTADOS DAS SIMULAÇÕES DE TESTES DE MALHA E DE INTERPOLADORES

Simulação	Tempo total de simulação (hh:mm:ss)	Pontos discretos (mesh)	Interpolador	Volume de pico de retenção (ml)
S1	00:00:02	50	kappa	431,83
S2	00:00:04	100	kappa	431,83
S3	00:00:15	200	kappa	428,23
S4	00:01:15	500	kappa	428,23
S5	00:15:59	1000	kappa	428,23
S6	00:53:13	1500	kappa	428,23
S7	00:00:23	50	Koren	449,25
S8	00:00:51	100	Koren	435,44
S9	00:03:52	200	Koren	428,23
S10	00:35:43	500	Koren	428,23
S11	01:47:35	1000	Koren	428,23
S12	02:42:25	1500	Koren	428,23
S13	00:00:01	50	Upwind	485,29
S14	00:00:03	100	Upwind	470,27

S15	00:00:12	200	Upwind	455,26
S16	00:01:48	500	Upwind	440,84
S17	00:14:36	1000	Upwind	435,44
S18	00:43:44	1500	Upwind	433,03
S19	00:00:05	50	Minmod	463,06
S20	00:00:23	100	Minmod	443,24
S21	00:02:08	200	Minmod	434,23
S22	00:30:34	500	Minmod	429,43
S23	02:04:25	1000	Minmod	428,83
S24	04:10:45	1500	Minmod	428,23
S25	00:00:13	50	Superbee	442,64
S26	00:00:59	100	Superbee	433,03
S27	00:04:31	200	Superbee	428,83
S28	00:43:57	500	Superbee	427,63
S29	03:50:30	1000	Superbee	428,23
S30	05:17:25	1500	Superbee	428,23