

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ESTUDO DA CINÉTICA E DO EQUILÍBRIO DA ADSORÇÃO
DA CEFAMICINA C EM RESINA DE TROCA IÔNICA E
SIMULAÇÃO DO PROCESSO CONTÍNUO**

Guilherme Youssef Rodriguez

São Carlos, março de 2011

**ESTUDO DA CINÉTICA E DO EQUILÍBRIO DA ADSORÇÃO
DA CEFAMICINA C EM RESINA DE TROCA IÔNICA E
SIMULAÇÃO DO PROCESSO CONTÍNUO**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ESTUDO DA CINÉTICA E DO EQUILÍBRIO DA ADSORÇÃO
DA CEFAMICINA C EM RESINA DE TROCA IÔNICA E
SIMULAÇÃO DO PROCESSO CONTÍNUO**

Guilherme Youssef Rodriguez

Aluno de Mestrado

Prof. Dr. Marlei Barboza Pasotto

Orientador do PPG-EQ/UFSCar

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de **Mestre em Engenharia Química**, área de concentração em **Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos**.

São Carlos, março de 2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

R696ec

Rodriguez, Guilherme Youssef.

Estudo da cinética e do equilíbrio da adsorção da cefamicina C em resina de troca iônica e simulação do processo contínuo / Guilherme Youssef Rodriguez. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
70 f.

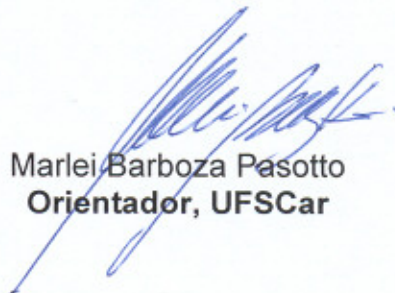
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Engenharia bioquímica. 2. Antibióticos. 3. Produtos biotecnológicos - purificação. 4. Modelagem. I. Título.

CDD: 660.63 (20ª)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE
GUILHERME YOUSSEF RODRIGUEZ APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS, EM 1º DE MARÇO DE 2011.

BANCA EXAMINADORA:



Marlei Barboza Pasotto
Orientador, UFSCar



Nivaldo Aparecido Corrêa
USP

Wu Hong Kwong

Wu Hong Kwong
UFSCar

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado especialmente à minha família pelo amor e pelo incentivo em completar mais essa etapa da minha vida: meu pai Alberto, minha mãe Nádia e minha irmã Cinthia.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marlei Barboza Pasotto pela orientação, amizade e confiança.

Aos meus pais (Alberto e Nádia) e minha irmã (Cíntia) que sempre estão presentes e são testemunhas de cada conquista da minha vida. Amo vocês!

Ao Clóvis e ao Álvaro pelas informações sempre bem-vindas, pelo apoio prestado, pela amizade, pelos almoços no Restaurante Farol e por me ensinarem a operar o Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência.

À Carol pelo fornecimento do caldo fermentado de cefamicina C. Sem ela, a obtenção dessa matéria-prima ficaria bem mais difícil.

Ao técnico Amadeus pela amizade e auxílio nas análises laboratoriais e HPLC.

Ao Prof. Dr. Alberto Colli Badino Jr. pela participação e colaboração como membro integrante da banca examinadora no exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Nivaldo Aparecido Corrêa pela participação e colaboração como membro integrante da banca examinadora na defesa da dissertação.

Ao Prof. Dr. Wu Hong Kwong pela amizade, consideração e participação como membro integrante da banca examinadora no exame de qualificação e defesa da dissertação.

Aos colegas de laboratório Liliane, Luciana, Maritza, Douglas (Mineiro), Sérgio e Cecília pelo companheirismo e descontração no ambiente laboratorial.

À simpatia do pessoal de Minas Gerais, em especial a Patrícia, pela amizade.

Aos meus ex-vizinhos e eternos amigos Vítor (Tio), Henrique e Lucas.

À turma 2004 da Engenharia Química/UFSCar. Essa foi minha família em São Carlos durante 5 anos, e que também me incentivou em seguir a carreira acadêmica.

Ao CNPq e à FAPESP (proc. 09/03551-2 e 05/55079-4) pelo auxílio financeiro.

EPÍGRAFE

*“Mestre não é aquele que aprendeu a ensinar,
mas aquele que ensina a aprender.”*

Marcelo Soriano

RESUMO

A cefamicina C (CefC) é um antibiótico beta-lactâmico produzido a partir de cultivos submersos e aerados de *Streptomyces clavuligerus*. Age como inibidor da formação da parede celular de bactérias Gram-negativas, além de ser resistente à ação hidrolítica de enzimas beta-lactamases. A literatura apresenta poucos resultados científicos publicados a respeito da purificação da CefC, sendo que as informações são restritas às patentes internacionais. Os primeiros resultados a respeito da produção e purificação da CefC estão sendo divulgados pelo grupo de pesquisa em Engenharia Bioquímica do DEQ/UFSCar, em congressos nacionais e internacionais. Sendo assim, devido à importância da CefC, entende-se que são imprescindíveis pesquisas referentes à obtenção deste antibiótico, particularmente a respeito do processo de extração e purificação. Neste trabalho foram propostos modelos matemáticos de cinética e equilíbrio da adsorção da CefC na resina de troca iônica StreamLine QX-L. Através de ensaios experimentais em batelada foi verificada a influência do pH (2,8; 4,7 e 6,8) e da temperatura (13°C, 20°C e 30°C) sobre o sistema, analisando os parâmetros intrínsecos calculados por regressão não-linear. O modelo CARE (*Continuous Adsorption Recycle Extraction*) de processo contínuo foi adotado e balanços de massa foram efetuados em cada fronteira pertinente. Tais equações de balanço foram geradas considerando os modelos propostos nos ensaios em batelada, sendo que o objetivo geral do trabalho é simular e otimizar o processo contínuo, aplicado à CefC. As simulações foram conduzidas tanto em regime transiente quanto no permanente. O estado estacionário foi otimizado nos parâmetros de desempenho fator de concentração (FC), fator de purificação (FP), rendimento (η) e produtividade (σ), tomando as vazões do sistema como variáveis independentes. O método numérico empregado foi a Programação Sequencial Quadrática.

Foi verificado que a resina StreamLine QX-L adsorve a CefC em torno de 0,25 mg/g, sendo que maiores valores podem ser alcançados com maiores concentrações iniciais em pH 4,7. A melhor condição encontrada foi em pH 6,8 à 30°C, pois forneceu uma capacidade máxima de adsorção razoável sem perda substancial de afinidade adsorvente-adsorbato. Os modelos propostos em batelada concordaram com a tendência observada experimentalmente e o processo contínuo foi simulado e otimizado na melhor condição. Os cálculos mostraram que é possível concentrar a CefC e operar o sistema em altos rendimentos, embora esses fatos não ocorram concomitantemente.

ABSTRACT

The cephamycin C (CefC) is a beta-lactam antibiotic produced from submerged and aerated cultures of *Streptomyces clavuligerus*. Acts as inhibitor of cell wall formation of Gram-negative bacteria and is resistant to the hydrolytic action of beta-lactamases enzymes. The literature presents few scientific results published regarding the purification of CefC, and the information is restricted to international patents. The first results regarding the production and purification of CefC are being released by the research group in Biochemical Engineering from the DEQ/UFSCar, in national and international conferences. Thus, given the importance of CefC, indispensable researches are needed particularly regarding the process of extraction and purification. In this work kinetics and equilibrium mathematical models were proposed to the adsorption of CefC on StreamLine QX-L ion exchange resin. Through experimental batch assays, the effects of pH (2.8, 4.7 and 6.8) and temperature (13°C, 20°C and 30°C) were studied, analyzing the intrinsic parameters calculated by nonlinear regression. The CARE model was adopted for continuous process and material balances were performed at each control surface. These balance equations were generated considering the models proposed in the batch tests. The general objective of this work is the simulation and optimization of the continuous process, applied to CefC. The simulations were carried both in transient and permanent modes. Steady state was optimized on performance parameters concentration factor (CF), purification factor (PF), efficiency (η) and productivity (σ), taking the system flows as independent variables. The numeric method adopted was the Sequential Quadratic Programming (SQP).

It was found that the StreamLine QX-L resin adsorbs CefC around 0.25 mg/g, although higher values can be achieved with higher initial concentrations at pH 4.7. The best condition found was at pH 6.8 at 30°C, since it provides a reasonable maximum adsorption capacity without substantial affinity adsorbent-adsorbate loss. The batch models proposed agree with the tendency observed experimentally and the continuous process was simulated and optimized in the best condition. The calculations showed that it is possible to concentrate the CefC and operate the system in high yields, although these events do not occur concurrently.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Estrutura molecular do anel beta-lactâmico	1
Figura 1.2 – Estrutura molecular geral de cefamicinas e seu anel beta-lactâmico (STAPLEY et al, 1972).....	2
Figura 2.1 – Esquema do processo contínuo de purificação de enzima por afinidade cromatográfica com reciclo de gel (adaptado de RODRIGUES, 1992).....	7
Figura 3.1 – Aparato experimental de microfiltração e ultrafiltração utilizado nos ensaios. V1 - válvula para regulação da vazão. V2 - válvula de segurança (ou alívio). P1 e P2 - manômetros do tipo Bourdon (SILVA et al, 2007).....	12
Figura 3.2 – Coloração do caldo de CefC de acordo com o tratamento realizado. Da esquerda para a direita: caldo microfiltrado, caldo ultrafiltrado e caldo tratado na resina XAD-4.....	13
Figura 3.3 – Esquema do aparato empregado nos ensaios de cinética de adsorção da CefC...	14
Figura 3.4 – Esquema do aparato empregado nos ensaios de cinética de dessorção da CefC.	14
Figura 3.5 – Esquema do procedimento experimental empregado nos ensaios de equilíbrio de adsorção da CefC.....	15
Figura 4.1 – Diagrama de blocos do processo CARE aplicado à adsorção da CefC com as devidas notações.....	20
Figura 5.1 – Isoterma de equilíbrio da CefC obtida em triplicata a 20°C e pH 6,8. Os símbolos são dados experimentais e a linha corresponde ao modelo de Langmuir ajustado	26
Figura 5.2 – Isotermas de equilíbrio da CefC em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). Símbolos são dados experimentais e linhas são tendências de acordo com o modelo de Langmuir.....	28
Figura 5.3 – Curvas cinéticas de adsorção da CefC em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de C/C_0 e as azuis aos valores de q . Ambas são tendências segundo o modelo reversível elementar	30
Figura 5.4 – Curvas cinéticas de dessorção da CefC em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de C/C_0 e as azuis aos valores de q . Ambas são tendências segundo o modelo de primeira ordem com saturação	34
Figura 5.5 – Gráfico de $\ln(K_L)$ em função do inverso da temperatura para cada pH.....	36
Figura 5.6 – Isoterma de equilíbrio de contaminantes obtida em duplicata a 20°C e pH 6,8. Os símbolos são dados experimentais e a linha corresponde ao modelo de Langmuir ajustado...	39
Figura 5.7 – Isotermas de equilíbrio de contaminantes em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). Símbolos são dados experimentais e linhas são tendências de acordo com o modelo de Langmuir	41

Figura 5.8 – Curvas cinéticas de adsorção de contaminantes em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de A/A_0 e as azuis aos valores de q_A . Ambas são tendências segundo o modelo cinético reversível	44
Figura 5.9 – Curvas cinéticas de dessorção de contaminantes em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de A/A_0 e as azuis aos valores de q_A . Ambas são tendências segundo o modelo cinético com saturação	46
Figura 5.10 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) nas condições de referência. As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio.....	50
Figura 5.11 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_1 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio	51
Figura 5.12 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_2 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio	53
Figura 5.13 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_r . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio	54
Figura 5.14 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) nas condições de referência. As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio	56
Figura 5.15 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_1 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio	57
Figura 5.16 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_2 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio	59
Figura 5.17 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_r . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Parâmetros de equilíbrio da adsorção da CefC calculados a partir do modelo de Langmuir	28
Tabela 5.2 – Parâmetros cinéticos de adsorção da CefC obtidos através do modelo reversível elementar	31
Tabela 5.3 – Constante cinética de dessorção da CefC obtida através do modelo cinético de primeira ordem com saturação	34
Tabela 5.4 – Energias envolvidas na adsorção da CefC em função do pH	37
Tabela 5.5 – Estimativa da quantidade de CefC não ionizável através da equação de Henderson-Hasselbach	39
Tabela 5.6 – Parâmetros de equilíbrio de contaminantes calculados a partir do modelo de Langmuir	42
Tabela 5.7 – Parâmetros cinéticos de adsorção de contaminantes obtidos através do modelo cinético reversível	44
Tabela 5.8 – Constante cinética de dessorção de contaminantes obtida através do modelo cinético com saturação	46
Tabela 5.9 – Fatores de purificação obtidos nos ensaios cinéticos	47
Tabela 5.10 – Condições de referência para o processo contínuo	48
Tabela 5.11 – Variáveis de entrada e de saída consideradas na análise de sensibilidade paramétrica	61
Tabela 5.12 – Resultados da análise de sensibilidade paramétrica no estado estacionário	62
Tabela 5.13 – Resultados da otimização multivariada do processo contínuo	65
Tabela 5.14 – Resultados complementares acerca da otimização	66

NOMENCLATURA

A_0	Área do espectro de varredura da amostra inicial (uA)
A_{final}	Área do espectro de varredura da última amostra na eluição (uA)
A	Área do espectro de varredura (uA)
\tilde{A}	Área adimensional A/A_0 (-)
\tilde{A}_∞	Área adimensional na saturação (-)
\tilde{A}_1	Área adimensional no primeiro estágio (-)
\tilde{A}_2	Área adimensional no segundo estágio (-)
\tilde{A}_{est_1}	Área adimensional no estado estacionário no primeiro estágio (-)
\tilde{A}_{est_2}	Área adimensional no estado estacionário no segundo estágio (-)
C_n	Concentração de CefC não ionizável (mg/L)
C_0	Concentração inicial de CefC no processo em batelada (mg/L)
C_o	Concentração de CefC na alimentação do processo contínuo (mg/L)
C_{final}	Concentração final de CefC na eluição (mg/L)
C	Concentração de CefC (mg/L)
C_{eq}	Concentração de CefC no equilíbrio (mg/L)
\tilde{C}	Concentração adimensional de CefC, C/C_0 (-)
\tilde{C}_∞	Concentração adimensional de CefC na saturação (-)
\tilde{C}_{exp}	Concentração adimensional de CefC experimental (-)
\tilde{C}_{calc}	Concentração adimensional de CefC calculada pelo modelo (-)
\tilde{C}_1	Concentração adimensional de CefC no primeiro estágio (-)
\tilde{C}_2	Concentração adimensional de CefC no segundo estágio (-)
\tilde{C}_{est_1}	Concentração adimensional de CefC no estado estacionário no primeiro estágio (-)
\tilde{C}_{est_2}	Concentração adimensional de CefC no estado estacionário no segundo estágio (-)
F_1	Vazão referente ao primeiro estágio (mL/min)
F_2	Vazão referente ao segundo estágio (mL/min)
F_r	Vazão de reciclo (mL/min)
FC	Fator de concentração (-)
FP	Fator de purificação (-)
G°	Energia livre de Gibbs padrão (kJ/mol)

H°	Entalpia padrão (kJ/mol)
k_{ads}	Constante cinética de adsorção da CefC (L/g.min)
k_{Aads}	Constante cinética de adsorção dos contaminantes ($uA^{-1} \cdot min^{-1}$)
k_{des}	Constante cinética de dessorção da CefC (min^{-1})
$k_{A des}$	Constante cinética de dessorção dos contaminantes (min^{-1})
k_{DES}	Constante cinética de dessorção da CefC no processo de eluição (min^{-1})
k_{ADES}	Constante cinética de dessorção dos contaminantes no processo de eluição (min^{-1})
K_L	Constante de afinidade da resina pela CefC (mg/L; mol/L)
K_{AL}	Constante de afinidade da resina pelos contaminantes (uA)
m_{res}	Massa de resina (g)
q	Quantidade de CefC adsorvida por massa de resina (mg/g)
q_1	Quantidade de CefC adsorvida por massa de resina no primeiro estágio (mg/g)
q_2	Quantidade de CefC adsorvida por massa de resina no segundo estágio (mg/g)
q_{est_1}	Quantidade de CefC adsorvida por massa de resina no estado estacionário no primeiro estágio (mg/g)
q_{est_2}	Quantidade de CefC adsorvida por massa de resina no estado estacionário no segundo estágio (mg/g)
q_A	Quantidade de contaminantes adsorvida por massa de resina (uA.L/g)
q_{A_1}	Quantidade de contaminantes adsorvida por massa de resina no primeiro estágio (uA.L/g)
q_{A_2}	Quantidade de contaminantes adsorvida por massa de resina no segundo estágio (uA.L/g)
q_{Aest_1}	Quantidade de contaminantes adsorvida por massa de resina no estado estacionário no primeiro estágio (uA.L/g)
q_{Aest_2}	Quantidade de contaminantes adsorvida por massa de resina no estado estacionário no segundo estágio (uA.L/g)
q_o	Quantidade inicial de CefC adsorvida por massa de resina (mg/g)
q_{Ao}	Quantidade inicial de contaminantes adsorvida por massa de resina (uA.L/g)
q_{eq}	Quantidade de CefC adsorvida por massa de resina no equilíbrio (mg/g)
q_{Aeq}	Quantidade de contaminantes adsorvida por massa de resina no equilíbrio (uA.L/g)
q_m	Capacidade máxima de adsorção para a CefC (mg/g)
q_{Am}	Capacidade máxima de adsorção para os contaminantes (uA.L/g)

R^2	Coeficiente de correlação (-)
S°	Entropia padrão (kJ/mol.K)
$S_{j,i}$	Sensibilidade da variável de saída j com relação à variável de entrada i (-)
S_j	Sensibilidade da variável de saída j (-)
t	Tempo (min, h)
T	Temperatura (°C; K)
uA	Unidade de área referente ao espectro de varredura (abs.nm)
$V_{líq}$	Volume de fase líquida (mL)
V_1	Volume de fase líquida no primeiro estágio (mL)
V_2	Volume de fase líquida no segundo estágio (mL)

Letras gregas

Φ	Proporção massa de resina/volume de fase líquida (g/mL)
Ω	Função somatório dos quadrados dos desvios (-)
η	Rendimento (%)
σ	Produtividade (g/L.h)
Δ	Operador variação (-)

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1 Fundamentos do processo de adsorção.....	4
2.2 Recuperação da cefamicina C por adsorção.....	5
2.3 O processo contínuo de adsorção.....	6
3. Materiais e Métodos.....	9
3.1 Materiais.....	9
3.1.1 Caldo de cefamicina C.....	9
3.1.2 Membrana de microfiltração.....	9
3.1.3 Membrana de ultrafiltração.....	9
3.1.4 Bomba peristáltica.....	9
3.1.5 Resina para remoção de pigmentos.....	10
3.1.6 Resina de troca iônica.....	10
3.1.7 Sistema de tampões.....	10
3.1.8 Reagentes e compostos diversos.....	10
3.2 Métodos.....	10
3.2.1 Limpeza das membranas de microfiltração e ultrafiltração.....	10
3.2.2 Limpeza e regeneração da resina XAD-4.....	11
3.2.3 Limpeza e regeneração da resina StreamLine QX-L.....	11
3.2.4 Determinação da concentração da cefamicina C.....	11
3.2.5 Determinação de contaminantes.....	11
3.3 Procedimento experimental.....	12
3.3.1 Etapa de separação primária por membranas de microfiltração e ultrafiltração.....	12
3.3.2 Tratamento com resina polimérica não-iônica XAD-4.....	13
3.3.3 Ensaios de cinética de adsorção e dessorção.....	13
3.3.4 Ensaios de equilíbrio de adsorção.....	14
4. Equacionamento e Modelagem Matemática.....	16
4.1 Processos em batelada.....	16
4.1.1 Cefamicina C.....	16
4.1.2 Contaminantes.....	17
4.1.3 Parâmetros de desempenho referentes à adsorção em batelada.....	19
4.2 Processo contínuo.....	19

4.2.1 Cefamicina C	21
4.2.2 Contaminantes	22
4.2.3 Parâmetros de desempenho referentes ao processo contínuo de adsorção.....	24
5. Resultados e Discussão.....	26
5.1 Ensaio em batelada e cálculo de parâmetros cinéticos e de equilíbrio	26
5.1.1 Cefamicina C	26
5.1.2 Contaminantes	39
5.1.3 Fatores de purificação dos ensaios em batelada	46
5.2 Simulação do processo contínuo em regime transiente.....	47
5.2.1 Cefamicina C	47
5.2.2 Contaminantes	55
5.3 Análise de sensibilidade paramétrica do processo contínuo em regime permanente.....	60
5.4 Otimização do processo contínuo em regime permanente	63
6. Conclusão	67
7. Referências Bibliográficas.....	68

1. INTRODUÇÃO

Os antibióticos beta-lactâmicos são caracterizados por apresentarem em sua estrutura molecular o anel beta-lactâmico, apresentado na Figura 1.1, o qual lhes confere atividade antibacteriana. Esses antibióticos podem ser divididos em cinco subgrupos de acordo com o tipo de radical que está ligado ao anel: clavans, carbapenens, monobactams, penicilinas e cefalosporinas.

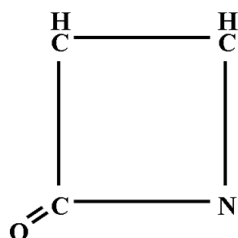


Figura 1.1 – Estrutura molecular do anel beta-lactâmico

A classe dos beta-lactâmicos se destaca por ser a mais utilizada para o tratamento de infecções. De acordo com Elander (2003), as vendas de antibióticos beta-lactâmicos foram de aproximadamente US\$ 15 bilhões em 2003, representando cerca de 65% do mercado mundial de antibióticos.

A cefamicina C (CefC) está entre os mais importantes dos antibióticos beta-lactâmicos devido a sua maior estabilidade e resistência contra a ação das enzimas beta-lactamase, capazes de destruir moléculas por hidrólise. Baggaley et al (1997) mostraram através de seus estudos que a CefC apresenta maior estabilidade a ação das enzimas beta-lactamase quando comparada com a cefalosporina C, produzida por fungos. A CefC é utilizada como matéria-prima para a produção de vários antibióticos semi-sintéticos como a cefoxitina, o cefotetan, entre outros. A Figura 1.2 mostra a estrutura molecular geral de cefamicinas juntamente com seu anel beta-lactâmico. Para a cefamicina da classe C, o radical R presente na extremidade direita é substituído pelo grupo $-NH_2$.

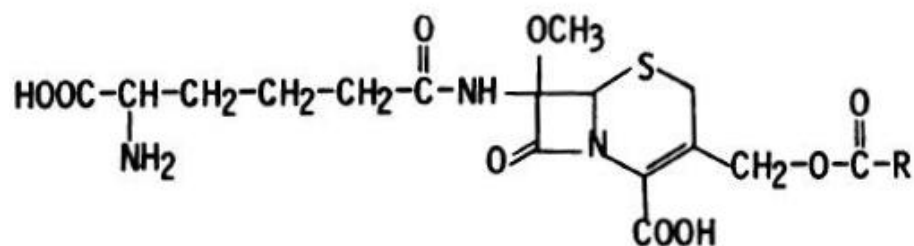


Figura 1.2 – Estrutura molecular geral de cefamicinas e seu anel beta-lactâmico (STAPLEY et al, 1972)

O primeiro passo para o isolamento de compostos de caldo de cultivo é a separação das células. De acordo com Charcosset (2006), são relatados vários trabalhos utilizando membranas de microfiltração de 0,45 a 0,22 μm de diâmetro de poro no intuito de remover células. Uma das vantagens da utilização dessa técnica de separação é a obtenção de altos valores de recuperação com altos rendimentos. O processo de ultrafiltração é muito utilizado para a retirada de macromoléculas (como proteínas, enzimas, pigmentos e óleos) que interferem nos processos subsequentes, incluindo adsorção e precipitação (HABERT et al, 2006). Além disso, também pode ser utilizada para a remoção de emulsificação de caldos de antibióticos (CHARCOSSET, 2006).

Após as etapas de filtração, podem ser utilizadas as técnicas de extração líquido-líquido e/ou cromatográficas, tal como a permeação em gel. De acordo com Barboza et al (2002a), para as cefalosporinas, antibióticos hidrofílicos, a extração líquido-líquido não é muito eficiente devido sua alta solubilidade em água. Neste caso utiliza-se a adsorção em resinas não funcionais do tipo Ambertlite XAD-2 para a extração do antibiótico do meio de cultura.

Resinas poliméricas e carvão ativado, entre outros suportes sólidos destinados à adsorção, têm sido relatados como opção para a separação e purificação de antibióticos hidrofílicos. Segundo Dutta et al (1997), a utilização de resina de troca iônica já está sendo utilizada em escala industrial para a separação e obtenção de cefalosporinas. Em uma patente depositada por Kamogashira et al (1982), é descrita a utilização de resina de troca iônica para a separação da cefamicina C. Poucos estudos foram feitos a respeito dos processos pós-fermentativos da CefC. A literatura apresenta poucos resultados científicos publicados a respeito da purificação desse antibiótico, sendo que a maioria das informações disponíveis é restrita às patentes internacionais.

Com base nos estudos realizados e na necessidade de processos de extração e separação mais eficientes, a proposta deste trabalho é simular e otimizar o processo contínuo de adsorção da CefC na resina de troca iônica StreamLine QX-L. Este objetivo será alcançado à medida que os seguintes objetivos específicos forem cumpridos:

- Propor modelos matemáticos de cinética e de equilíbrio do processo de adsorção da CefC em batelada;
- Verificar a influência do pH (2,8; 4,7 e 6,8) e da temperatura (13°C, 20°C e 30°C) sobre o sistema, analisando os parâmetros intrínsecos calculados via regressão não-linear;
- Efetuar balanços de massa nas fronteiras pertinentes do processo contínuo, incluindo os modelos propostos em batelada;
- Simular o processo contínuo em regime transiente e permanente, considerando a melhor condição de pH e temperatura obtida nos ensaios em batelada;
- Otimizar o processo contínuo nos parâmetros de desempenho fator de concentração (FC), fator de purificação (FP), rendimento (η) e produtividade (σ), tomando as vazões do sistema como variáveis independentes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fundamentos do processo de adsorção

A adsorção pode ser utilizada em várias etapas de separação e purificação, destacando-se como uma das principais técnicas a ser conhecida e aplicada. Deve-se buscar a simplicidade operacional e adequada seleção do adsorvente, levando-se em conta a sua reutilização por um método de regeneração apropriado para diminuir custos.

O fenômeno da adsorção ocorre quando as moléculas presentes em uma fase líquida (adsorbato) são atraídas pela superfície de um sólido (adsorvente) quando este é colocado em contato com a solução. Em geral, as forças de interação entre as duas espécies são governadas por fenômenos de interação molecular como forças de Van der Waals, pontes de hidrogênio, cargas eletrostáticas, entre outras. A Equação 2.1 representa, de maneira mais geral, o processo de adsorção:



No caso em questão, C é o adsorbato (o componente de interesse, livre em solução) e R é o adsorvente (uma resina, por exemplo). O adsorbato e o adsorvente interagem através de processos físicos ou químicos formando o complexo ativado q, significando que C ficou adsorvido (aderido) em R. Mas ocorre que, reversivelmente, o complexo q é desfeito resultando novamente em C e R. Quando a velocidade de adsorção (formação de q) se iguala a velocidade de dessorção (formação de C e R) atinge-se o equilíbrio, estágio no qual as concentrações de C e q são constantes. Matematicamente, é possível relacionar esses dois valores, no equilíbrio, através de uma isoterma de adsorção, cujo exemplo está representado pela Equação 2.2:

$$q_{eq} = q_m \frac{C_{eq}}{K_L + C_{eq}} \quad (2.2)$$

Em que q_m e K_L são a capacidade máxima de adsorção e a constante de afinidade do composto de interesse pela fase sólida, respectivamente. Essa equação de equilíbrio é conhecida como isoterma de Langmuir, mas existem outros modelos que podem ser considerados de acordo com o processo.

O conhecimento da isoterma permite estimar a quantidade de fase sólida e a concentração inicial de adsorbato a fim de que se adsorva uma quantidade pré-estabelecida do mesmo.

O processo de recuperação do adsorbato é denominado dessorção (ou eluição). Nesse caso, a resina é submetida a uma solução eluente, a qual retira o composto de interesse adsorvido no sólido. Compostos orgânicos (ou soluções destes) e sais dissolvidos em água são exemplos de eluentes.

2.2 Recuperação da cefamicina C por adsorção

Na literatura pode ser encontrada uma grande variedade de trabalhos envolvendo estudos dos processos de adsorção para a recuperação de produtos biotecnológicos. Porém, em relação à utilização dessa técnica para a purificação da CefC, a maior parte dos estudos estão sob a forma de patentes.

Saikia et al (2006) estudaram a afinidade de biomoléculas, inclusive antibióticos beta-lactâmicos, em diferentes resinas adsorventes (XAD-4 e XAD-7). O estudo feito ocorreu a nível molecular, valendo-se da teoria dos orbitais moleculares, possibilitando o cálculo de entalpias de adsorção com o auxílio da termodinâmica química.

García-Glez et al (1998) empregaram a adsorção por troca iônica na determinação de cefamicinas semi-sintéticas, como a cefoxitina, o cefemetazol e o cefeminox presentes no soro sanguíneo humano e na urina.

Para a purificação e concentração da CefC, Pines (1976) descreveu em sua patente a utilização da filtração do caldo em pH ácido, adsorção do filtrado em carvão ativado e retirada por eluição do antibiótico retido com mistura de água e solvente polar. O antibiótico foi separado através de cromatografia utilizando resina de troca aniônica. Nessa patente o autor relatou que resinas fracamente aniônicas são preferíveis para o processo tal como as resinas IRA-45, IRA-47, IRA-68 e IRA-93. Com isso, o mesmo recuperou 62% da quantidade original do antibiótico.

Em outra patente, Schubert (1980) descreveu a purificação e concentração da CefC através da seguinte seqüência: filtração em pH ácido, passagem em resina de troca catiônica, lavagem com água, recirculação da água utilizada ajustando o pH em 7 a 8 até que

o pH do efluente que sai da coluna seja entre 5 e 6,5. O autor relatou a obtenção de 90% da quantidade original de CefC após o processo.

Brown et al (1983) utilizaram resinas não iônicas XAD-2 e XAD-4 como alternativa ao uso do carvão ativado. Também ressaltaram a necessidade de utilização de resina aniônica para a purificação da cefamicina C, citando a resina QAE-Sephadex (comercializada pela Pharmacia UK Ltda, GE) ou Dowex-1 (vendida pela Bio-Rad Laboratories Limited) que contém amônio quaternário como trocador aniônico.

Essa breve revisão bibliográfica acerca de processos de purificação da CefC por adsorção mostrou que ainda é necessário o desenvolvimento de novas tecnologias, mais limpas (que reduzem, por exemplo, a retirada de muita matéria-prima do meio ambiente e a emissão de antibióticos residuais em todo o ecossistema) e mais baratas, que possam estar disponíveis comercialmente.

2.3 O processo contínuo de adsorção

A maior parte dos processos de adsorção operam de forma convencional, isto é, em batelada. O adsorbato é posto em contato com o adsorvente até que este se sature e haja a necessidade de eluição. Então, enquanto houver arraste pelo eluente do composto adsorvido, deve-se colocar em operação uma outra unidade de adsorção, o que aumenta o custo total de produção. Mas, de acordo com estudos recentes, há alternativas para contornar esse problema.

Em sua tese de Doutorado, Rodrigues (1992) estudou a modelagem e o controle de um processo contínuo de adsorção que teve por objetivo concentrar e purificar a lisosima empregando gel de Sepharose como adsorvente. Todo o trabalho foi baseado no processo CARE (*Continuous Adsorption Recycle Extraction*), desenvolvido por Pungor et al (1987). A principal vantagem do procedimento é que o sistema pode ser operado continuamente no estado estacionário.

O aparato consistia de dois reatores bem agitados, um de adsorção e um de dessorção, ambos ligados entre si para reciclo do adsorvente. Conforme o esquema apresentado na Figura 2.1, o reator de adsorção era alimentado a partir do fermentador contendo a enzima a ser purificada e seus contaminantes. O suporte sólido saturado pela enzima era conduzido, através da corrente de reciclo, ao estágio de dessorção onde uma

solução tampão retirava a enzima adsorvida para fora do sistema. Não há entrada nem saída de sólidos devido à presença de um filtro macroporoso.

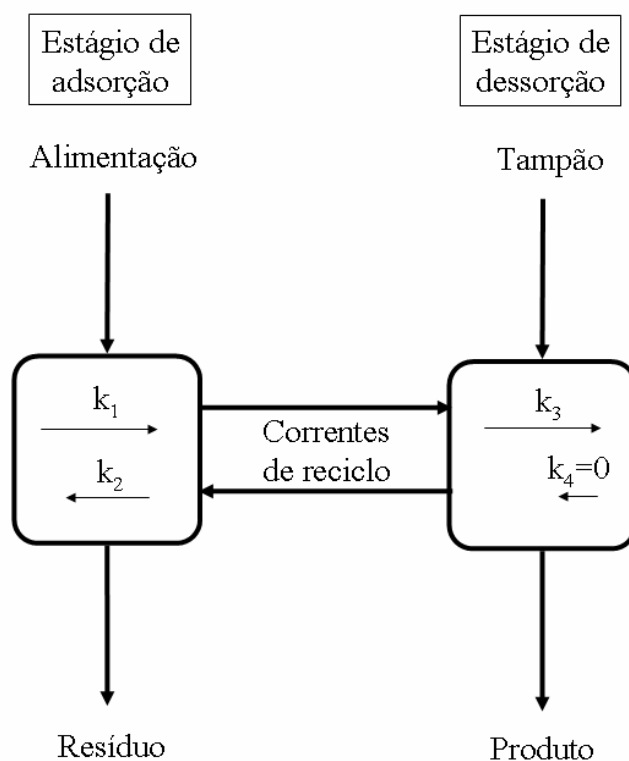


Figura 2.1 – Esquema do processo contínuo de purificação de enzima por afinidade cromatográfica com reciclo de gel (adaptado de RODRIGUES, 1992).

O processo de adsorção foi descrito como uma reação reversível de 2ª ordem e o estágio de dessorção como irreversível de 1ª ordem (CHASE, 1984). As constantes cinéticas k_1 , k_2 e k_3 representam não somente as constantes cinéticas de adsorção intrínseca, como também já incluem a contribuição à resistência externa e interna à transferência de massa. Mas, de acordo com Pungor et al (1987), limitações de transferência de massa interna podem ser negligenciadas no caso em que há proteínas de alto peso molecular, já que a maior parte delas é adsorvida na superfície do gel. No fim do seu trabalho, Rodrigues (1992) analisou quais variáveis de Engenharia (como vazões, volumes e porosidade) interferem mais em cada parâmetro pertinente ao estudo de adsorção (como fator de concentração, fator de purificação e rendimento). Além disso, foi efetuada uma otimização do processo com relação a cada um desses parâmetros, empregando estratégia de planejamento experimental.

Taboada (1999) estudou a purificação da enzima lipase do fungo *Geotrichum sp.* através da adsorção na resina hidrofóbica Butyl Sepharose. A partir de modelos matemáticos propostos, foram calculados parâmetros cinéticos e de equilíbrio a fim de,

posteriormente, modelar e simular o comportamento dinâmico de um processo contínuo baseado no CARE. Ao final do estudo, foi obtido um alto valor de fator de purificação, embora o fator de concentração resultante tenha sido baixo.

Barboza et al (2002a) realizaram um estudo do processo CARE aplicado à purificação da cefalosporina C, um antibiótico beta-lactâmico, empregando a resina não-iônica Amberlite XAD-2. Através da proposição de modelos matemáticos que incluem os transportes interno e externo de massa, os autores simularam a operação do sistema e validaram o modelo, tanto para amostras de cefalosporina C comercial quanto àquelas obtidas por fermentação. As equações previram o comportamento geral do sistema e podem ser usadas para otimização de parâmetros.

Almeida (2003) estudou o processo CARE aplicado ao ácido clavulânico, um antibiótico beta-lactâmico, empregando a resina de troca iônica Amberlite IRA 400-Cl. Foram propostos modelos matemáticos de adsorção e dessorção em batelada e, com isso, formulou-se o equacionamento para o processo contínuo. Ao final foi realizada a otimização do processo com relação ao fator de concentração, fator de purificação e rendimento, aplicando estratégia de planejamento experimental. Obteve-se baixo fator de concentração (inferior a 1), sendo que o fator de purificação esteve próximo à unidade e o rendimento atingiu o intervalo 90-100%.

Em geral, todos os autores que estudaram o processo CARE através de simulação numérica concluíram que os modelos matemáticos governantes são relativamente simples, podem ser aplicados a outros componentes e descrevem satisfatoriamente a operação real do sistema.

O processo CARE apresenta vantagens devido ao seu modo contínuo de operação. Isso facilita o acoplamento de outras operações unitárias antes e depois do sistema, reduzindo custos, facilitando o projeto e melhorando o desempenho global da planta.

A proposta geral do presente trabalho está fundamentada na metodologia do processo CARE, já que se trata de um processo contínuo de adsorção. Para que o método possa ser avaliado, deve-se recorrer aos processos em batelada a fim de que sejam calculados parâmetros intrínsecos de cinética e de equilíbrio de adsorção.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Caldo de cefamicina C

A produção da CefC foi realizada em biorreatores tipo tanque agitado de 4 litros de volume útil e operado tanto em batelada como em batelada alimentada. O microrganismo produtor utilizado foi o *Streptomyces clavuligerus* da linhagem DSM 41826, cultivado em meio contendo derivados de soja e lisina como fontes de nitrogênio e glicerol como fonte de carbono. A temperatura do processo foi controlada em 28°C, sendo que a vazão de ar utilizada foi de 0,5 vvm e a frequência de agitação controlada em 800 rpm. O pH do cultivo foi controlado em 6,8 através da adição de solução de ácido clorídrico 2 M ou hidróxido de sódio 1 M. Os cultivos foram realizados de modo a manter alta concentração de oxigênio dissolvido no caldo com o objetivo de maximizar a produção da cefamicina C e diminuir a concentração de compostos intermediários de sua rota de produção, tal como a penicilina N (ROLLINS et al, 1998).

3.1.2 Membrana de microfiltração

O processo de microfiltração foi realizado sob o regime de escoamento tangencial em cartucho de membranas tubulares de polisulfona com tamanho de poro de 0,2 µm e 3600 cm² de área, modelo CFP-2-E-8A, da Amersham Biosciences.

3.1.3 Membrana de ultrafiltração

A etapa de ultrafiltração foi realizada sob regime de escoamento tangencial em cartucho de membranas tubulares de polisulfona de peso molecular de corte de 3 kDa e 2800 cm² de área, modelo UFP-3-E-6A, da GE Healthcare.

3.1.4 Bomba peristáltica

Nos processos de separação por micro e ultrafiltração foi empregada a bomba peristáltica da marca Ismatec modelo BVP.

3.1.5 Resina para remoção de pigmentos

Após o processo de ultrafiltração, o permeado foi submetido ao tratamento com a resina polimérica não-iônica XAD-4 (da Rohm & Haas) a fim de clarificar o caldo através da remoção de pigmentos e contaminantes. Ela é formada por polímeros aromáticos reticulados, possui diâmetro médio de 600 μm e se apresenta na forma de grãos brancos e translúcidos. Deve ser conservada em uma solução mista de NaCl e Na_2CO_3 .

3.1.6 Resina de troca iônica

Os ensaios de cinética e de equilíbrio de adsorção foram conduzidos utilizando a resina aniônica StreamLine QX-L, após o tratamento com XAD-4, fornecida pela Amersham Biosciences. Ela é formada por uma matriz de agarose e cadeias de dextrana, com núcleo de quartzo cristalino para aumentar a densidade. Possui diâmetro médio de 200 μm e se apresenta na forma de pequenos grãos brancos. Deve ser conservada em solução de etanol a 20% v/v.

3.1.7 Sistema de tampões

Foi utilizado o sistema ácido cítrico/citrato (ambos da Synth) para os ensaios em pH 2,8 e ácido acético/acetato (da Qhemis/J. T. Baker) para ensaios em pH 4,7. No caso do pH 6,8 não foi necessário tampão, visto que os cultivos foram conduzidos em tal condição.

3.1.8 Reagentes e compostos diversos

Dentre os principais compostos usados no presente estudo estão: metanol, etanol, NaCl, HCl (37%), NaOH, ácido acético glacial. Todos são do tipo PA (Para Análise) e fornecidos pela Qhemis. Além desses, há reagentes que são de pureza HPLC, usados apenas no cromatógrafo: metanol, acetonitrila e ácido acético, todos da J. T. Baker.

3.2 Métodos

3.2.1 Limpeza das membranas de microfiltração e ultrafiltração

O protocolo de limpeza consiste de quatro estágios: 1) Limpeza da membrana com água destilada; 2) Recirculação de uma solução 0,2 molar de NaOH a 50°C por 60

minutos a $1,25 \text{ kgf/cm}^2$ de pressão transmembrana; 3) Injeção de solução de NaClO na proporção de 30 mL para 2 litros; 4) Neutralização da membrana com água destilada até obter um o pH neutro do permeado.

3.2.2 Limpeza e regeneração da resina XAD-4

O protocolo de limpeza e regeneração foi feito de acordo com normas do fabricante: 1) Tratamento com NaOH 4% m/m a fim de remover proteínas, peptídeos e compostos ácidos; 2) Tratamento com HCl 0,5% v/v para retirada de compostos fracamente básicos; 3) Tratamento com metanol e etanol no intuito de eluir compostos hidrofóbicos.

3.2.3 Limpeza e regeneração da resina StreamLine QX-L

O protocolo de limpeza e regeneração foi feito de acordo com normas do fabricante: 1) Tratamento com uma solução de NaOH 0,5M e NaCl 1,0M a fim de dessorver compostos; 2) Tratamento com água Milli-Q; 3) Tratamento com solução de ácido acético 25% v/v para regenerar a resina e prepará-la para a próxima troca iônica; 4) Tratamento com água Milli-Q.

3.2.4 Determinação da concentração da cefamicina C

A concentração da cefamicina C foi quantificada por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foi empregada a coluna Synergi Phenomenex (4μ MAX-RP, 80\AA , C-12, $250 \times 4,60$ mm) como fase estacionária e solução de ácido acético 0,01M como fase móvel a uma vazão de 2 mL/min. A temperatura da separação foi de 28°C , sendo que os picos foram detectados no comprimento de onda de 254 nm e tempo de retenção de 10 min. A curva de calibração foi obtida através da injeção de vários valores de concentração obtidos por bioensaio de cefalosporina C utilizando *Escherichia coli* ESS (BATISTA NETO et al, 2008).

3.2.5 Determinação de contaminantes

Os contaminantes foram quantificados no espectrofotômetro Ultrospec 2100 pro UV/Visible através da integração numérica do espectro de varredura de 320 a 550 nm, a uma taxa de 750 nm/min.

3.3 Procedimento experimental

3.3.1 Etapa de separação primária por membranas de microfiltração e ultrafiltração

Após o processo de produção, a CefC está presente em um caldo fermentado que contém células, macromoléculas e sólidos insolúveis. No intuito de extrair primariamente o antibiótico, realizam-se filtrações que têm por objetivo retirar a maioria das impurezas. Ambas as modalidades de filtração consideradas neste estudo (microfiltração e ultrafiltração) possuem um aparato experimental similar ao da Figura 3.1.

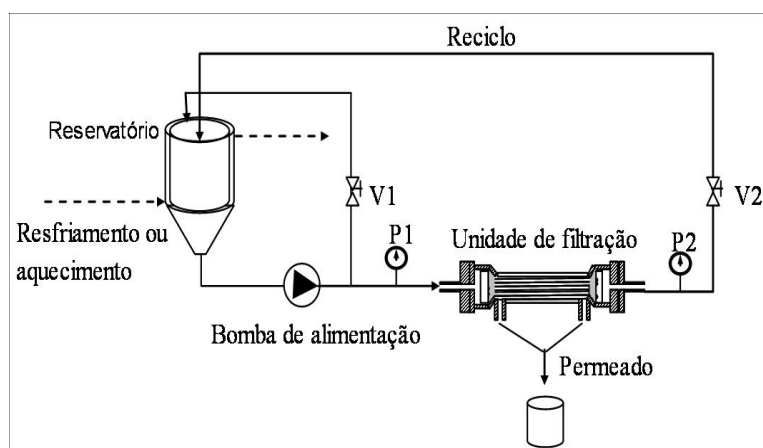


Figura 3.1 – Aparato experimental de microfiltração e ultrafiltração utilizado nos ensaios. V1 - válvula para regulação da vazão. V2 - válvula de segurança (ou alívio). P1 e P2 - manômetros do tipo Bourdon (SILVA et al, 2007)

Os sistemas de microfiltração e ultrafiltração tangencial são compostos por um tanque de alimentação cujo equilíbrio térmico é mantido constante com auxílio de um banho termostatizado. As soluções são bombeadas para o módulo de filtração com o auxílio de uma bomba peristáltica. A pressão transmembrana deve ser adequadamente ajustada por uma válvula de controle tipo agulha (válvulas V1 e V2). As pressões a montante e a jusante do módulo são monitoradas através de manômetros tipo Bourdon preenchidos com glicerina. O concentrado é reciclado para reservatório e o permeado coletado em um recipiente.

O caldo de CefC, inicialmente, é submetido ao processo de microfiltração no intuito de retirar células, macropartículas e sólidos insolúveis. Em seguida, a solução resultante desse processo é injetada no sistema de ultrafiltração, a fim de remover proteínas, enzimas e outras macromoléculas, clarificando o meio.

3.3.2 Tratamento com resina polimérica não-iônica XAD-4

O permeado coletado durante a etapa de ultrafiltração é submetido ao tratamento com a resina XAD-4 na proporção 3:1 (volume de caldo/volume de XAD-4) durante 30 minutos, no intuito de remover mais pigmentos e outros contaminantes, clarificando ainda mais o meio. A omissão dessa etapa provoca danos irreversíveis à resina StreamLine QX-L, escurecendo-a e diminuindo sua capacidade.

A Figura 3.2 mostra a variação na coloração do caldo conforme o mesmo sofre tratamentos consecutivos.



Figura 3.2 – Coloração do caldo de CefC de acordo com o tratamento realizado. Da esquerda para a direita: caldo microfiltrado, caldo ultrafiltrado e caldo tratado na resina XAD-4

Após o tratamento com XAD-4, o caldo está pronto para ser usado nos ensaios de cinética e equilíbrio com a resina StreamLine QX-L.

3.3.3 Ensaios de cinética de adsorção e dessorção

Todos os ensaios de cinética foram realizados em um recipiente encamisado no intuito de manter o equilíbrio térmico do sistema, sendo a agitação mecânica realizada mediante o uso de impelidor. No processo de adsorção, o volume da fase líquida foi de 100 mL, sendo 8 gramas de resina StreamLine QX-L. Tal proporção foi a mesma em todos os ensaios cinéticos, sendo que seu valor foi adotado baseando-se em estudos com ácido clavulânico e cefalosporina C, antibióticos beta-lactâmicos (BARBOZA et al, 2002a; BARBOZA et al, 2002b; ALMEIDA, 2003). Alíquotas da fase líquida foram retiradas em intervalos de tempo pré-estabelecidos para análise. A Figura 3.3 exhibe um esquema do aparato utilizado nos ensaios de cinética de adsorção da CefC.

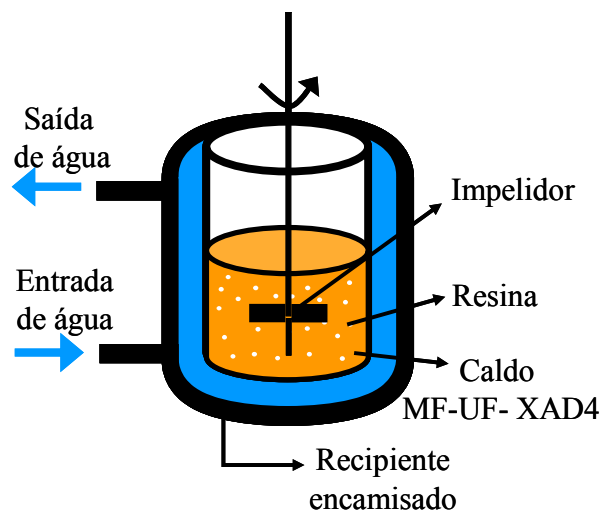


Figura 3.3 – Esquema do aparato empregado nos ensaios de cinética de adsorção da CefC

Encerrada a etapa de adsorção, a resina foi submetida ao ensaio de dessorção, que consiste no tratamento com eluente NaCl na proporção 1g/100mL. Tal proporção salina foi definida baseando-se em estudos de dessorção de ácido clavulânico (ALMEIDA, 2003). As demais condições operacionais foram mantidas em relação aos experimentos de adsorção. A Figura 3.4 mostra um esquema do aparato utilizado nos ensaios de cinética de dessorção da CefC.

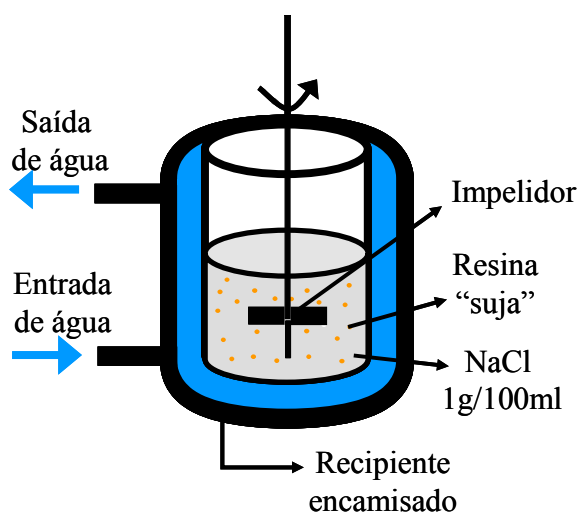


Figura 3.4 – Esquema do aparato empregado nos ensaios de cinética de dessorção da CefC

3.3.4 Ensaios de equilíbrio de adsorção

Frascos cilíndricos de 30 mL de capacidade total foram preenchidos com 0,4 g de resina e 5 mL de líquido. Tal proporção foi a mesma utilizada nos ensaios cinéticos. Para cada condição de temperatura e pH, várias amostras com diferentes concentrações iniciais

foram dispostas em mesa incubadora rotativa a 250 rpm durante 1 hora. Decorrido esse tempo, uma alíquota do seio da solução foi retirada para análise. A quantidade de CefC adsorvida por grama de resina utilizada é dada pela Equação 3.1:

$$q_{eq} = (C_o - C_{eq}) \frac{V_{liq}}{m_{res}} \quad (3.1)$$

Testes de degradação apontaram que o antibiótico é estável nas condições estudadas, sendo que a quantidade degradada, em média, foi inferior a 1%. Dessa maneira, desprezou-se tal quantia no balanço de massa que originou a Equação 3.1. A Figura 3.5 mostra um esquema do procedimento experimental usado nos ensaios de equilíbrio de adsorção da CefC.

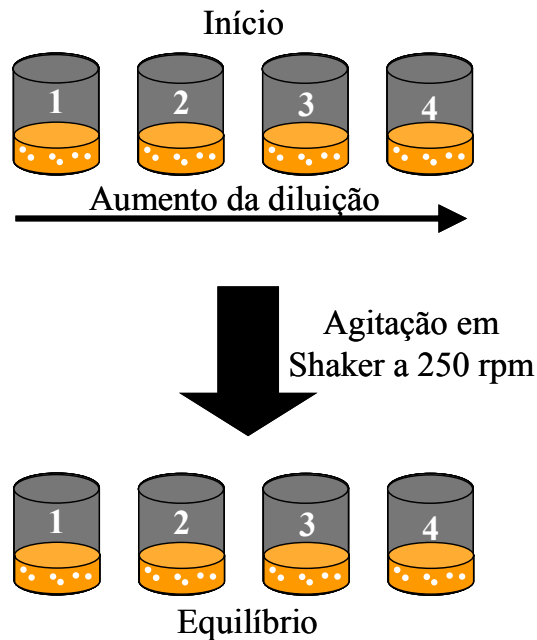


Figura 3.5 – Esquema do procedimento experimental empregado nos ensaios de equilíbrio de adsorção da CefC

4. EQUACIONAMENTO E MODELAGEM MATEMÁTICA

4.1 Processos em batelada

4.1.1 Cefamicina C

Ensaio de cinética

Nos ensaios de cinética de adsorção da CefC considerou-se um processo reversível elementar, tal como descrito pela Equação 2.1. A fim de formular o modelo matemático que descreve a cinética de adsorção, foi considerado o fato de a resina não ser porosa e a adsorção ocorrer imediatamente na sua superfície (transporte interno de massa desprezível). Além disso, a agitação promovida pelo impelidor é suficiente para que não haja formação de película estagnada e limitação pelo transporte externo de massa.

Com essas hipóteses, o balanço de massa para a CefC na fase líquida e sólida fornece as Equações 4.1 e 4.2, respectivamente. Ressalta-se que todas as equações desse tipo foram obtidas partindo-se da relação: Taxa de acúmulo = Taxa de geração – Taxa de consumo.

$$\frac{d\tilde{C}}{dt} = \frac{m_{res}}{V_{liq}} \left[\frac{k_{des}q}{C_o} - k_{ads} \tilde{C}(q_m - q) \right] \quad (4.1)$$

$$\frac{dq}{dt} = k_{ads} C_o \tilde{C}(q_m - q) - k_{des}q \quad (4.2)$$

Por questões de conveniência, optou-se por adotar a concentração adimensional (C/C_o) como variável resposta nos casos pertinentes à fase líquida. Assim, as concentrações C_1 e C_2 apresentam o “~” sobrescrito e são desprovidas de unidades dimensionais. Em suma, tais valores nada mais são do que os fatores de concentração para cada estágio do sistema.

As Equações 4.1 e 4.2 formam um sistema de equações diferenciais ordinárias de primeira ordem, sujeitas às condições iniciais dadas pelas Equações 4.3 e 4.4:

$$\tilde{C}(0) = 1 \quad (4.3)$$

$$q(0) = 0 \quad (4.4)$$

O método numérico adotado para a resolução das Equações 4.1 e 4.2 foi o *Runge-Kutta-Fehlberg* 4^a-5^a ordem, com o auxílio do *software* de computação algébrica e simbólica Maple[®].

No processo de eluição com NaCl na proporção 1g/100mL empregaram-se as Equações 4.5 e 4.6, que surgiram de cinéticas de primeira ordem com saturação quando $t \rightarrow \infty$.

$$\tilde{C} = \tilde{C}_{\infty} (1 - e^{-k_{DES}t}) \quad (4.5)$$

$$q = q_o - \tilde{C}_{\infty} C_o (1 - e^{-k_{DES}t}) \frac{V_{liq}}{m_{res}} \quad (4.6)$$

O cálculo dos parâmetros cinéticos k_{ads} , k_{des} e k_{DES} foi feito mediante a minimização da função objetivo definida pela Equação 4.7. Para tal tarefa, foi empregado o método simplex não-linear (ou método de Nelder-Mead), também desenvolvido no Maple[®].

$$\Omega = \sum_{i=1}^N (\tilde{C}_{exp_i} - \tilde{C}_{calc_i})^2 \quad (4.7)$$

Ensaio de equilíbrio

Nos experimentos de equilíbrio de adsorção da CefC foi proposto o modelo de Langmuir, descrito previamente pela Equação 2.2:

$$q_{eq} = q_m \frac{C_{eq}}{K_L + C_{eq}} \quad (2.2)$$

O parâmetro q_m indica a capacidade máxima que uma determinada resina possui em adsorver um composto específico. É o número de sítios ativos disponíveis para um dado adsorbato. A constante de afinidade K_L indica se a adsorção é favorável em determinada condição. Quanto maior o valor de K_L , menor é a afinidade da resina pelo composto livre em solução. O cálculo desses dois parâmetros também foi feito mediante minimização da função objetivo dada pela Equação 4.7 com o auxílio do Maple[®].

4.1.2 Contaminantes

Ensaio de cinética

Nos ensaios de cinética de adsorção de contaminantes foi considerado um modelo análogo ao da CefC, sendo que a variável de quantificação agora é a área resultante da integração numérica do espectro de varredura, mensurada em unidades de área (uA). Dessa maneira, tem-se o modelo cinético representado por um sistema de equações diferenciais ordinárias de primeira ordem, tal como descrevem as Equações 4.8 e 4.9. As notações das constantes cinéticas, de equilíbrio e da quantidade adsorvida são semelhantes às aquelas usadas para a CefC, sendo que os subscritos são antecidos pela notação “A”. Isso indica que tais dimensões são expressas em termos da área obtida pela integração numérica do espectro de varredura.

$$\frac{d\tilde{A}}{dt} = \frac{m_{res}}{V_{liq}} \left[\frac{k_{A des} q_A}{A_o} - k_{A ads} \tilde{A} (q_{Am} - q_A) \right] \quad (4.8)$$

$$\frac{dq_A}{dt} = k_{A ads} A_o \tilde{A} (q_{Am} - q_A) - k_{A des} q_A \quad (4.9)$$

As Equações 4.8 e 4.9 estão sujeitas às condições iniciais dadas pelas Equações 4.10 e 4.11:

$$\tilde{A}(0) = 1 \quad (4.10)$$

$$q_A(0) = 0 \quad (4.11)$$

Essas equações foram resolvidas da mesma forma descrita na seção referente à CefC.

No processo de eluição com NaCl na proporção 1g/100ml empregaram-se as Equações 4.12 e 4.13, que surgiram de cinéticas com saturação quando $t \rightarrow \infty$, análogas ao modelo descrito para a CefC:

$$\tilde{A} = \tilde{A}_\infty (1 - e^{-k_{ADES} t}) \quad (4.12)$$

$$q_A = q_{A0} - \tilde{A}_\infty A_o (1 - e^{-k_{ADES} t}) \frac{V_{liq}}{m_{res}} \quad (4.13)$$

O cálculo dos parâmetros cinéticos $k_{A ads}$, $k_{A des}$ e k_{ADES} foi feito mediante a minimização da função objetivo análoga à Equação 4.7, também valendo-se dos recursos do Maple[®].

Ensaio de equilíbrio

Nos ensaios de equilíbrio de adsorção de contaminantes também foi proposto o modelo de Langmuir, sendo que as quantidades envolvidas estão agora em função de unidades de área (uA), tal como descreve a Equação 4.14:

$$q_{Aeq} = q_{Am} \frac{A_{eq}}{K_{AL} + A_{eq}} \quad (4.14)$$

4.1.3 Parâmetros de desempenho referentes à adsorção em batelada

No estudo dos processos em batelada foram considerados os parâmetros de desempenho fator de concentração (FC) e fator de purificação (FP), a fim de avaliar a performance do processo de adsorção em batelada. Ambos estão definidos pelas Equações 4.15 e 4.16, respectivamente:

$$FC = \frac{C_{final}}{C_o} \quad (4.15)$$

$$FP = \frac{C_{final}}{C_o} \frac{A_o}{A_{final}} \quad (4.16)$$

Valores de FC superiores a unidade indicam que a CefC se concentrou no fim do processo, ao passo que valores menores que a unidade apontam diluição do antibiótico. A análise de FP é feita da seguinte maneira: valores de FP maiores do que 1 mostram que a CefC está presente em maior quantidade na fase líquida e os contaminantes estão adsorvidos em grande parte na resina. Ou seja, ocorreu uma purificação do meio em relação à CefC. No caso de FP ser menor do que a unidade, isto é um indicativo de que a CefC tende a ficar mais aderida na resina em relação aos contaminantes.

4.2 Processo contínuo

Conforme foi mencionado anteriormente, o processo contínuo aplicado a este estudo está fundamentado na metodologia do processo CARE. Sendo assim, a Figura 4.1 mostra o diagrama de blocos do processo juntamente com as variáveis importantes que serão consideradas nas simulações.

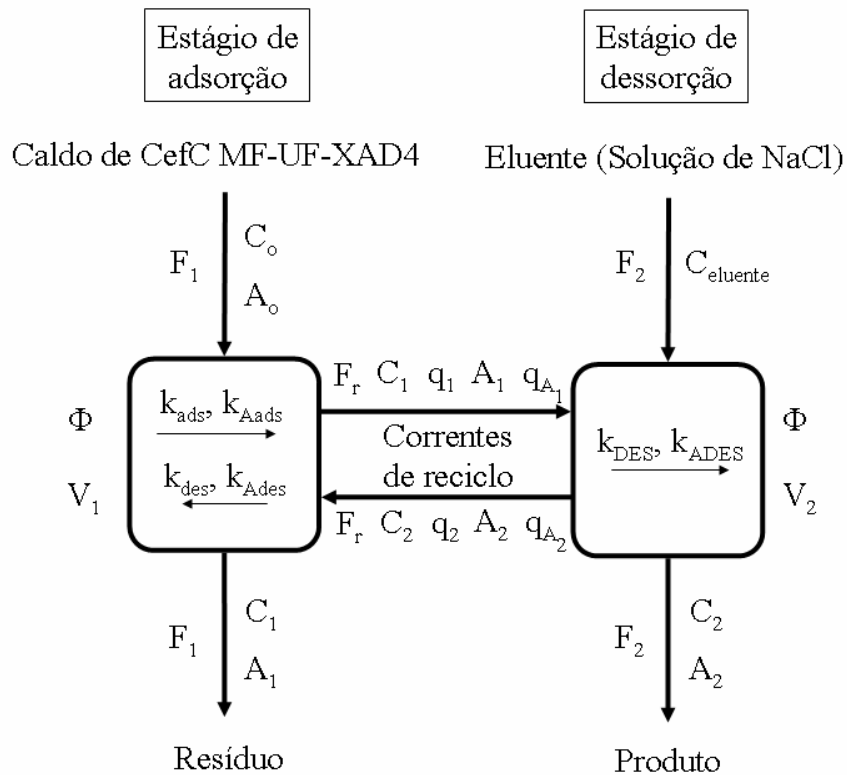


Figura 4.1 – Diagrama de blocos do processo CARE aplicado à adsorção da CefC com as devidas notações

O caldo contendo CefC, devidamente tratado, é alimentado continuamente no estágio de adsorção com o auxílio de um sistema de bombeamento. A resina adsorve o antibiótico e a primeira corrente de reciclo a transporta até o estágio de dessorção, onde ocorre a eluição da CefC proporcionada pela alimentação contínua de uma solução de NaCl. A resina regenerada retorna ao primeiro estágio, através da segunda corrente de reciclo, e o processo se repete. Não há reposição nem retirada de resina em função de um filtro de sólidos instalado na saída de cada estágio. A proporção massa de fase sólida/volume de fase líquida (Φ) é constante ao longo do tempo e do espaço e cada estágio possui agitação mecânica adequada para promover boa mistura entre as fases.

Nos próximos itens serão apresentadas as equações diferenciais que descrevem o comportamento transiente das quantidades de CefC e contaminantes presentes nas fases líquida e sólida para ambos os estágios. Todas as equações são provenientes de modelos determinísticos, onde cada parâmetro representa de fato uma variável do processo e possui um significado físico.

4.2.1 Cefamicina C

Estágio de adsorção

Efetuada balanços de massa nas fases líquida e sólida, chega-se às Equações 4.17 e 4.18, respectivamente, através da relação Taxa de acúmulo = Taxa de entrada – Taxa de saída + Taxa de geração – Taxa de consumo. Ressalta-se que os modelos cinéticos de adsorção nelas presentes foram desenvolvidos no estudo do processo em batelada, tal como as Equações 4.1 e 4.2.

$$\frac{d\tilde{C}_1}{dt} = \frac{F_1}{V_1} \left(1 - \tilde{C}_1 \right) + \frac{F_r}{V_1} \left(\tilde{C}_2 - \tilde{C}_1 \right) + \Phi \left[\frac{k_{des} q_1}{C_o} - k_{ads} \tilde{C}_1 (q_m - q_1) \right] \quad (4.17)$$

$$\frac{dq_1}{dt} = \frac{F_r}{V_1} (q_2 - q_1) - k_{des} q_1 + k_{ads} C_o \tilde{C}_1 (q_m - q_1) \quad (4.18)$$

Estágio de dessorção

Efetuada um balanço de massa na fase líquida e um na fase sólida chega-se às Equações 4.19 e 4.20:

$$\frac{d\tilde{C}_2}{dt} = \frac{F_r}{V_2} \left(\tilde{C}_1 - \tilde{C}_2 \right) - \frac{F_2}{V_2} \tilde{C}_2 + \Phi \frac{k_{DES}}{C_o} q_2 \quad (4.19)$$

$$\frac{dq_2}{dt} = \frac{F_r}{V_2} (q_1 - q_2) - k_{DES} q_2 \quad (4.20)$$

Tem-se, então, um sistema de 4 equações diferenciais ordinárias de primeira ordem nas variáveis \tilde{C}_1 , q_1 , \tilde{C}_2 e q_2 , sujeitas às condições iniciais indicadas pelas Equações 4.21 a 4.24. Todas as quantidades na partida do processo são nulas.

$$\tilde{C}_1(0) = 0 \quad (4.21)$$

$$q_1(0) = 0 \quad (4.22)$$

$$\tilde{C}_2(0) = 0 \quad (4.23)$$

$$q_2(0) = 0 \quad (4.24)$$

A resolução desse sistema de equações diferenciais ordinárias foi feita mediante a utilização do *software* de computação algébrica e simbólica Maple[®]. Para resolver o sistema foi conveniente empregar o método de *Rosenbrock*, visto que a solução apresenta rigidez numérica.

Na condição de regime permanente todos os termos diferenciais (derivadas) são igualados a zero, indicando que as quantidades nessa situação são constantes com o tempo. Logo, têm-se as Equações 4.25 a 4.28:

$$\frac{F_1}{V_1} \left(1 - \tilde{C}_{est1} \right) + \frac{F_r}{V_1} \left(\tilde{C}_{est2} - \tilde{C}_{est1} \right) + \Phi \left[\frac{k_{des} q_{est1}}{C_o} - k_{ads} \tilde{C}_{est1} (q_m - q_{est1}) \right] = 0 \quad (4.25)$$

$$\frac{F_r}{V_1} (q_{est2} - q_{est1}) - k_{des} q_{est1} + k_{ads} C_o \tilde{C}_{est1} (q_m - q_{est1}) = 0 \quad (4.26)$$

$$\frac{F_r}{V_2} \left(\tilde{C}_{est1} - \tilde{C}_{est2} \right) - \frac{F_2}{V_2} \tilde{C}_{est2} + \Phi \frac{k_{DES}}{C_o} q_{est2} = 0 \quad (4.27)$$

$$\frac{F_r}{V_2} (q_{est1} - q_{est2}) - k_{DES} q_{est2} = 0 \quad (4.28)$$

As 4 equações algébricas não-lineares acima foram resolvidas nas variáveis \tilde{C}_{est1} , q_{est1} , \tilde{C}_{est2} e q_{est2} através do método numérico de *Newton-Raphson*, também implementado no Maple[®].

4.2.2 Contaminantes

Estágio de adsorção

Efetuada balanços para a quantidade de contaminantes em fase líquida e sólida, obtêm-se as Equações 4.29 e 4.30:

$$\frac{d\tilde{A}_1}{dt} = \frac{F_1}{V_1} \left(1 - \tilde{A}_1 \right) + \frac{F_r}{V_1} \left(\tilde{A}_2 - \tilde{A}_1 \right) + \Phi \left[\frac{k_{Ades} q_{A1}}{A_o} - k_{Aads} \tilde{A}_1 (q_{Am} - q_{A1}) \right] \quad (4.29)$$

$$\frac{dq_{A1}}{dt} = \frac{F_r}{V_1} (q_{A2} - q_{A1}) - k_{Ades} q_{A1} + k_{Aads} A_o \tilde{A}_1 (q_{Am} - q_{A1}) \quad (4.30)$$

De maneira análoga ao explanado para a CefC, as quantidades em fase líquida são expressas de forma adimensional (A/A_0). Por isso, A_1 e A_2 apresentam o “~” sobrescrito.

Estágio de dessorção

O balanço para contaminantes em fase líquida e sólida resulta nas Equações 4.31 e 4.32:

$$\frac{d\tilde{A}_2}{dt} = \frac{F_r}{V_2} \left(\tilde{A}_1 - \tilde{A}_2 \right) - \frac{F_2}{V_2} \tilde{A}_2 + \Phi \frac{k_{ADES}}{A_0} q_{A_2} \quad (4.31)$$

$$\frac{dq_{A_2}}{dt} = \frac{F_r}{V_2} \left(q_{A_1} - q_{A_2} \right) - k_{ADES} q_{A_2} \quad (4.32)$$

Tem-se, então, mais um sistema de 4 equações diferenciais ordinárias de primeira ordem nas variáveis \tilde{A}_1 , q_{A_1} , \tilde{A}_2 e q_{A_2} , sujeitas às condições iniciais indicadas pelas Equações 4.33 a 4.36. Todas as quantidades na partida do processo também são nulas.

$$\tilde{A}_1(0) = 0 \quad (4.33)$$

$$q_{A_1}(0) = 0 \quad (4.34)$$

$$\tilde{A}_2(0) = 0 \quad (4.35)$$

$$q_{A_2}(0) = 0 \quad (4.36)$$

A resolução desse sistema de EDO's foi conduzida no Maple[®], valendo-se do método de *Rosenbrock*.

No estado estacionário, todas as derivadas são anuladas e o sistema de equações diferenciais ordinárias se transforma em um sistema de equações algébricas não-lineares, representado pelas Equações 4.37 a 4.40:

$$\frac{F_1}{V_1} \left(1 - \tilde{A}_{est_1} \right) + \frac{F_r}{V_1} \left(\tilde{A}_{est_2} - \tilde{A}_{est_1} \right) + \Phi \left[\frac{k_{Aades} q_{Aest_1}}{A_0} - k_{Aads} \tilde{A}_{est_1} \left(q_{Am} - q_{Aest_1} \right) \right] = 0 \quad (4.37)$$

$$\frac{F_r}{V_1} (q_{Aest_2} - q_{Aest_1}) - k_{Aades} q_{Aest_1} + k_{Aads} A_o \tilde{A}_{est_1} (q_{Am} - q_{Aest_1}) = 0 \quad (4.38)$$

$$\frac{F_r}{V_2} (\tilde{A}_{est_1} - \tilde{A}_{est_2}) - \frac{F_2}{V_2} \tilde{A}_{est_2} + \Phi \frac{k_{ADES}}{A_o} q_{Aest_2} = 0 \quad (4.39)$$

$$\frac{F_r}{V_2} (q_{Aest_1} - q_{Aest_2}) - k_{ADES} q_{Aest_2} = 0 \quad (4.40)$$

Essas equações foram resolvidas nas variáveis \tilde{A}_{est_1} , q_{Aest_1} , \tilde{A}_{est_2} e q_{Aest_2} através do método numérico *Newton-Raphson*, usando o Maple[®].

4.2.3 Parâmetros de desempenho referentes ao processo contínuo de adsorção

No estudo do processo contínuo de adsorção foram considerados os parâmetros de desempenho fator de concentração (FC), fator de purificação (FP), rendimento (η) e produtividade (σ) a fim de avaliar a performance do sistema. Todos estão definidos pelas Equações 4.41, 4.42, 4.43 e 4.44, respectivamente:

$$FC = \frac{C_{est_2}}{C_o} \quad (4.41)$$

$$FP = \frac{C_{est_2}}{C_o} \frac{A_o}{A_{est_2}} \quad (4.42)$$

$$\eta = 100 \frac{F_2 C_{est_2}}{F_1 C_o} \quad (4.43)$$

$$\sigma = \frac{F_2 C_{est_2}}{V_1 + V_2} \quad (4.44)$$

O sentido dos parâmetros FC e FP estão devidamente explanados na seção dos processos em batelada. O rendimento é uma medida da quantidade de massa de CefC que sai do 2º estágio, por unidade de tempo, em relação à alimentação. Um alto rendimento indica que o antibiótico é retirado majoritariamente no estágio de dessorção, ao passo que um baixo valor do mesmo aponta maior retirada no 1º estágio. A produtividade informa a capacidade volumétrica do sistema em dessorver a CefC por unidade de tempo. Supondo, por exemplo,

dois processos contínuos, M e N. Dado que $\sigma_M > \sigma_N$, observa-se então que o primeiro é capaz de dessorver mais CefC em relação ao segundo, para mesmos volumes de sistema.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaios em batelada e cálculo de parâmetros cinéticos e de equilíbrio

5.1.1 Cefamicina C

Ensaios de equilíbrio

A fim de verificar a reprodutibilidade do método analítico para determinação da CefC, um ensaio de equilíbrio foi feito em triplicata, conduzido a 20°C e pH 6,8; conforme exibe a Figura 5.1. Os pontos representam dados experimentais e a linha indica a tendência de acordo com o modelo de Langmuir. Os desvios observados decorrem essencialmente da propagação de erro experimental e de processos estocásticos que ocorrem naturalmente na experimentação. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,990, indicando que o modelo explica de maneira satisfatória as informações obtidas no equilíbrio da CefC.

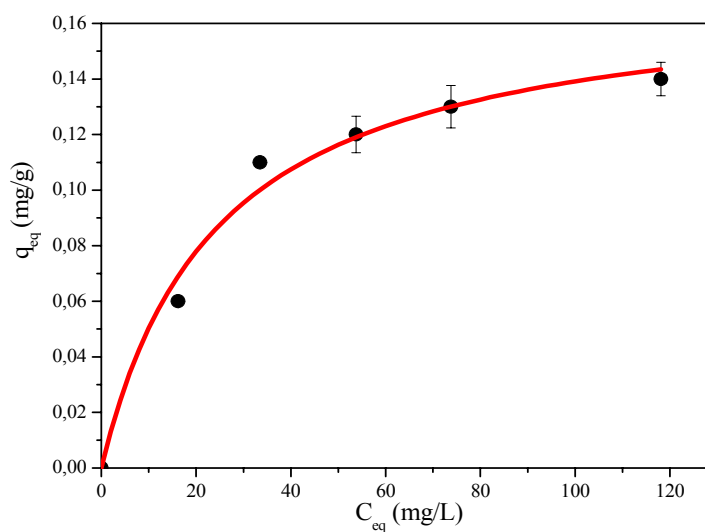
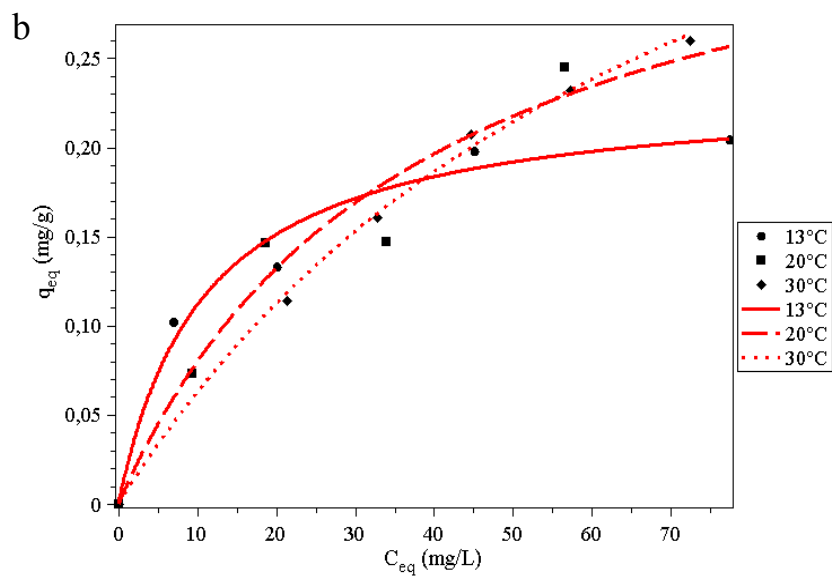
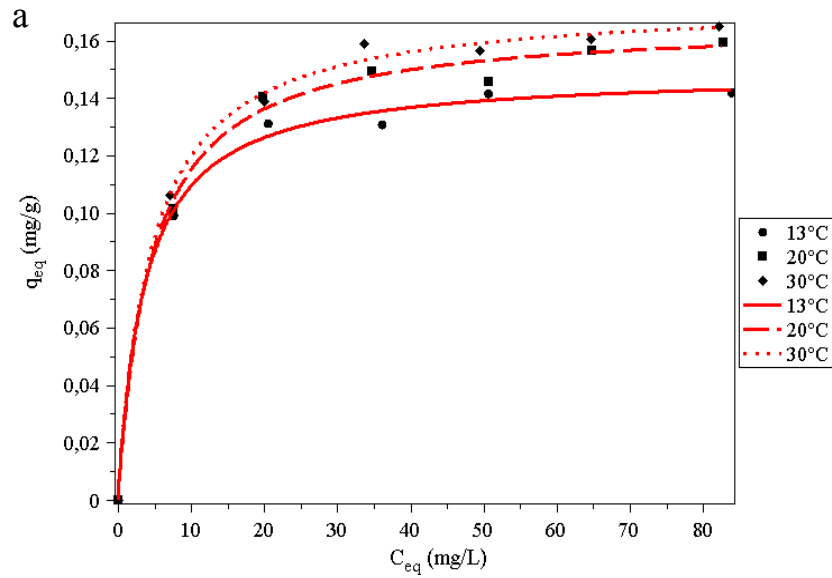


Figura 5.1 – Isoterma de equilíbrio da CefC obtida em triplicata a 20°C e pH 6,8. Os símbolos são dados experimentais e a linha corresponde ao modelo de Langmuir ajustado

As Figuras 5.2a, 5.2b e 5.2c apresentam, respectivamente, os ensaios realizados em pH 2,8, 4,7 e 6,8. Os parâmetros de equilíbrio estão sumarizados na Tabela 5.1, a qual permite observar que os valores de q_m e K_L aumentam com o acréscimo de temperatura em um dado pH. Esse resultado indica que o número de sítios ativos disponíveis para a CefC cresce, mas em contrapartida a afinidade entre o antibiótico e a resina é comprometida, pois K_L também aumenta. Nota-se também que os parâmetros q_m e K_L são mais sensíveis a temperatura no pH 4,7. Isso quer dizer que quando o sistema sofre um acréscimo de

temperatura nesse pH, o número de sítios livres para adsorção da CefC cresce muito mais em relação às outras condições de pH. No entanto, observa-se também que concentrações iniciais superiores também são requeridas a fim de obter uma boa adsorção, já que a afinidade entre adsorvente e adsorbato diminuiu.



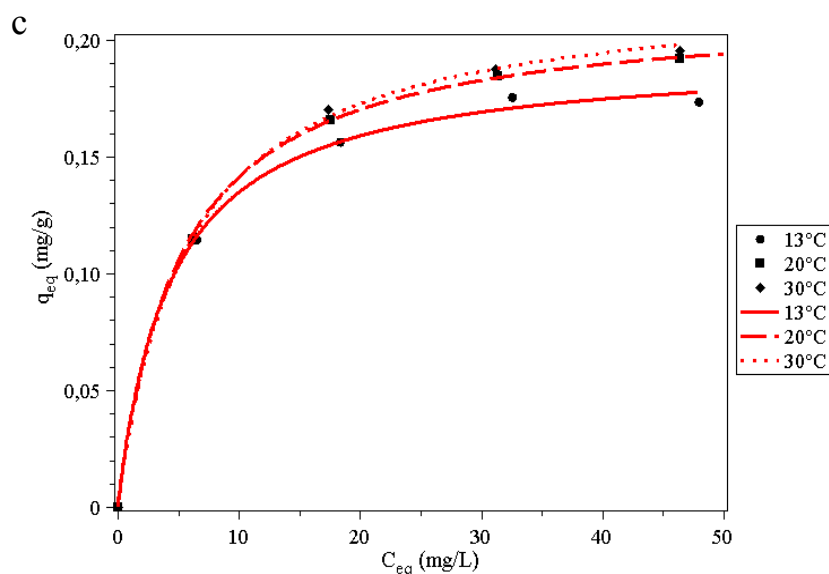


Figura 5.2 – Isotermas de equilíbrio da CefC em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). Símbolos são dados experimentais e linhas são tendências de acordo com o modelo de Langmuir

Tabela 5.1 – Parâmetros de equilíbrio da adsorção da CefC calculados a partir do modelo de Langmuir

pH	T (°C)	q_m (mg/g)	K_L (mg/L)	R^2
2,8	13	0,15	3,65	0,99
	20	0,16	4,50	0,99
	30	0,17	4,50	0,99
4,7	13	0,23	10,94	0,98
	20	0,38	37,88	0,96
	30	0,54	76,07	0,99
6,8	13	0,19	4,42	0,99
	20	0,21	5,17	0,99
	30	0,22	5,77	0,99

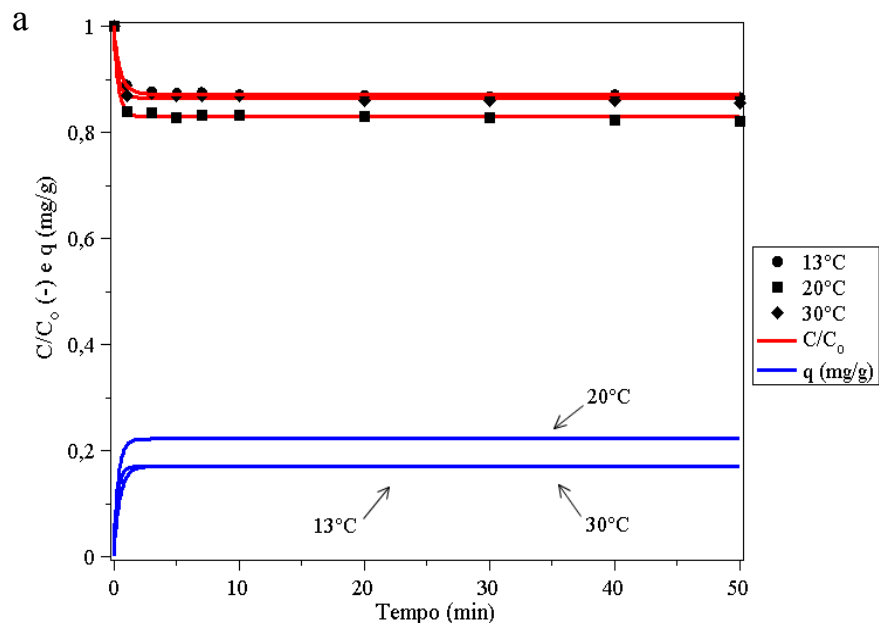
A comparação dos valores de q_m e K_L entre os pH permitiu constatar que nos valores de pH extremos (2,8 e 6,8) não houve significativa variação desses dois parâmetros. Mas, no pH intermediário (4,7), ambos sofreram acréscimo. Almeida (2003), que estudou a adsorção do ácido clavulânico na resina aniônica Amberlite IRA-400-Cl, conduziu ensaios de equilíbrio nos pH 4,0 e 6,2 em diferentes temperaturas. Para qualquer condição térmica, o abaixamento do pH 6,2 para 4,0 desfavoreceu a afinidade do adsorvente pelo adsorbato (aumento de K_L). Portanto, no caso em questão, a melhor condição obtida foi em pH 6,8 à 30°C, visto que um valor razoável de q_m é acompanhado de um K_L suficientemente mais baixo.

O modelo de Langmuir correspondeu bem aos dados experimentais. Logo, o mecanismo de adsorção da CefC na resina StreamLine QX-L ocorre em monocamada, sendo que há um número finito de sítios e não há interação entre as moléculas do adsorbato em questão.

É de se acrescentar que o pH no micro ambiente de um trocador de íons não é o mesmo no bulk devido ao efeito Donnan, que pode repelir ou atrair prótons na superfície da matriz. De maneira geral, o pH na matriz é usualmente em torno de uma unidade maior do que na solução para uma resina aniônica (SCOPES, 1982).

Ensaio de cinética

As Figuras 5.3a, 5.3b e 5.3c exibem o perfil da concentração adimensional (linhas vermelhas) em função do tempo para os ensaios de cinética em pH 2,8, 4,7 e 6,8, respectivamente. No intuito de averiguar a quantidade de CefC adsorvida por grama de resina (q), tais perfis foram incluídos nas figuras (linhas azuis). Uma análise visual dos gráficos permite constatar que o equilíbrio é atingido logo nos primeiros instantes dos ensaios, sendo que cada um deles foi conduzido durante 50 minutos.



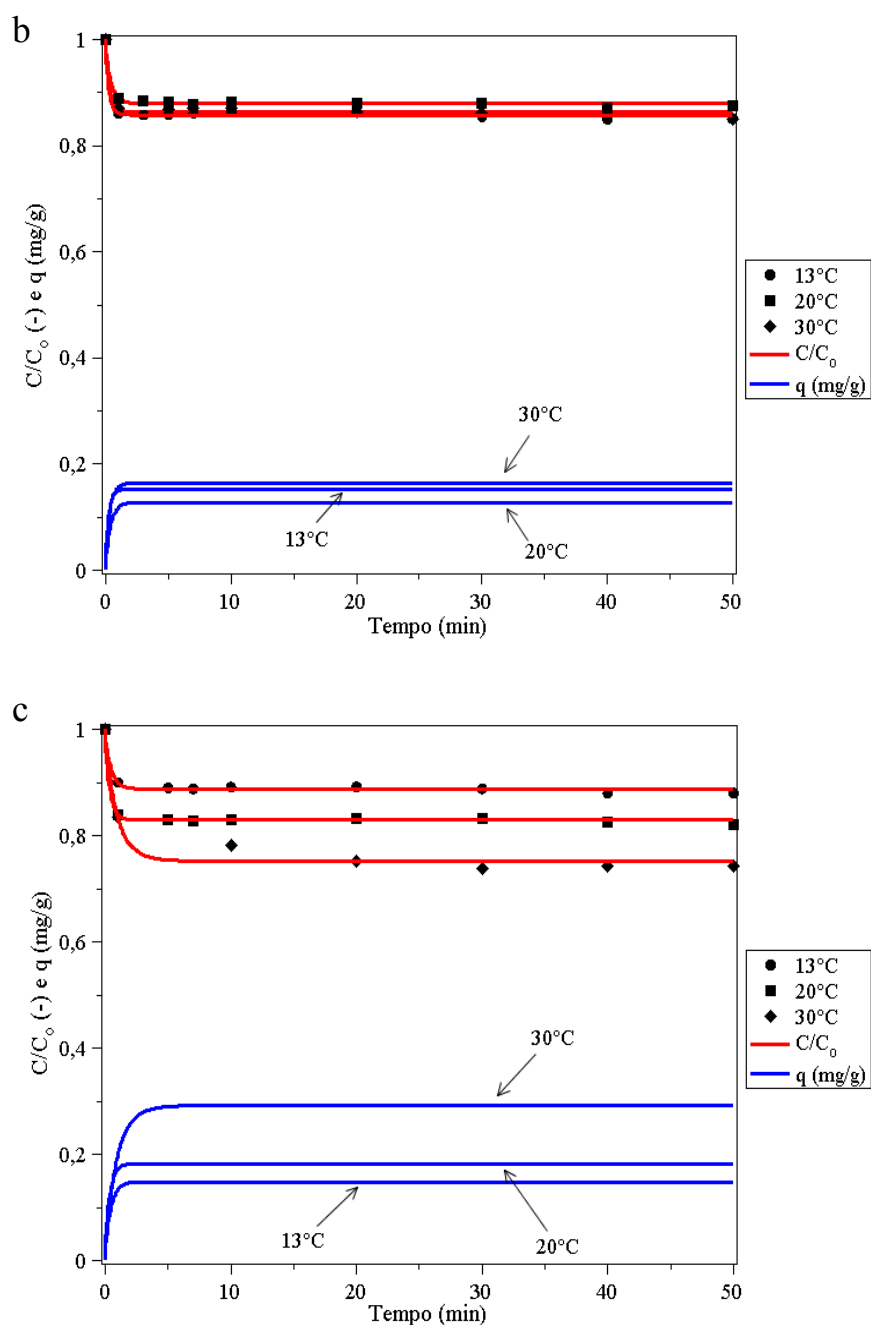


Figura 5.3 – Curvas cinéticas de adsorção da CefC em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de C/C_0 e as azuis aos valores de q . Ambas são tendências segundo o modelo reversível elementar

Embora a proporção massa de resina/volume de líquido não tenha oferecido adsorção total da CefC (pois as linhas vermelhas não chegaram ao valor nulo), isso não influenciou no cálculo dos parâmetros cinéticos, principal objetivo desta seção. Caso a necessidade estivesse em adsorver completamente o antibiótico, bastaria utilizar uma massa maior de resina. Cabe ressaltar também que os valores de q são funções fracas da massa de resina, sendo que estes já estão divididos por tal quantidade. A massa de antibiótico adsorvida

aumenta proporcionalmente à massa de adsorvente utilizada, resultando em valores de q bem próximos.

O fato da resina StreamLine QX-L não ser porosa e os experimentos serem realizados em recipiente bem agitado impõe que os transportes interno e externo de massa, respectivamente, sejam desprezíveis. Ou seja, a adsorção ocorre de maneira rápida apenas na superfície ativa do adsorvente. No trabalho de Barboza et al (2002a), onde foi estudada a cinética de adsorção de cefalosporina C em resina polimérica porosa Amberlite XAD-2, verificou-se que a adsorção ocorreu mais lentamente devido aos mecanismos internos e externos de transporte de massa.

Embora não se tenha com precisão o declínio inicial das curvas C/C_0 , o modelo cinético proposto representado pelas Equações 4.1 e 4.2 concorda com os dados experimentais, conforme exhibe a Tabela 5.2. Com exceção a alguns valores, nota-se que há uma tendência da constante cinética de adsorção aumentar com a temperatura, em determinado pH.

Tabela 5.2 – Parâmetros cinéticos de adsorção da CefC obtidos através do modelo reversível elementar

pH	T (°C)	k_{ads} (L/g.min)	k_{des} ($10^{-1}min^{-1}$)	R^2
2,8	13	17,82	1,93	0,99
	20	27,04	1,95	0,99
	30	29,59	4,61	0,98
4,7	13	33,53	9,33	0,99
	20	14,31	11,00	0,99
	30	17,49	11,90	0,98
6,8	13	16,08	5,30	0,99
	20	28,85	4,26	0,99
	30	12,08	0,54	0,98

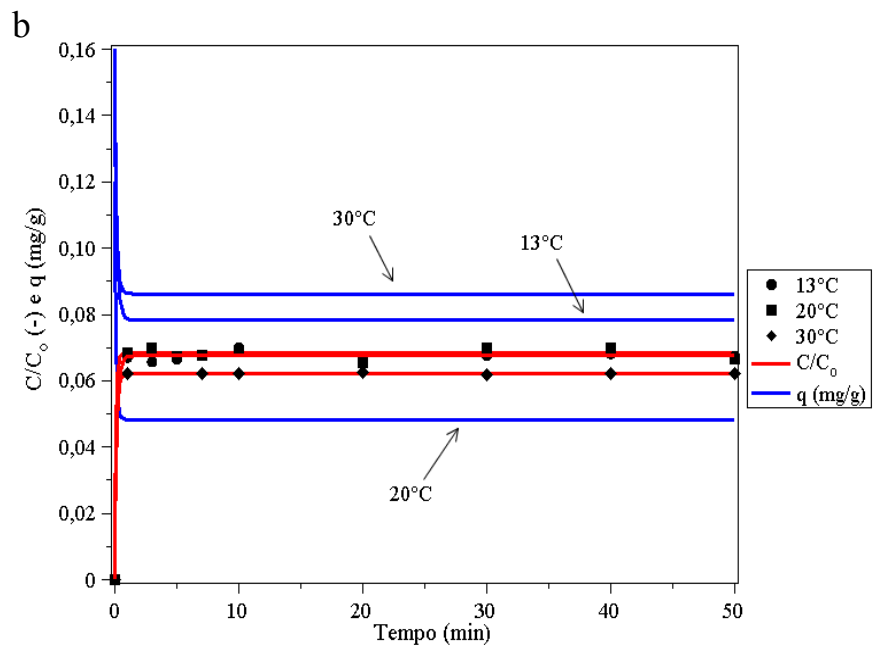
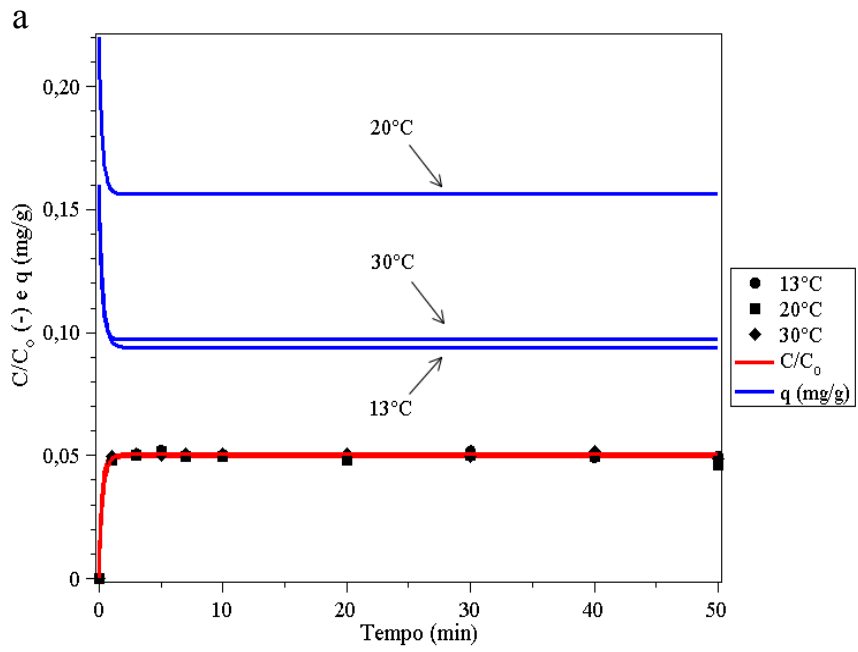
Um valor alto de k_{ads} e um valor baixo de k_{des} indicam que o adsorvente possui afinidade ao adsorbato, pois a adsorção é favorecida. A maior proximidade numérica entre esses dois parâmetros (devido ao aumento de k_{des}) nas temperaturas 20 e 30°C, referentes ao pH 4,7, aponta que a afinidade está comprometida nessas condições experimentais,

concordando com os resultados obtidos nos ensaios de equilíbrio. Na temperatura de 30°C e pH 6,8, observou-se melhor adsorção devido à redução de k_{des} , indicando que essa condição experimental apresentou melhor resultado dentre as demais.

Na tese de Almeida (2003) são encontrados parâmetros cinéticos intrínsecos (contribuições de transporte de massa desconsideradas) para a adsorção do ácido clavulânico, antibiótico beta-lactâmico, na resina aniônica porosa Amberlite IRA 400-Cl. Os valores obtidos estão na ordem de grandeza de 10^{-1} L/g.min, o que indica que o processo de adsorção é mais lento que o da CefC. Além disso, por se tratar de um adsorvente poroso, a resistência oferecida pelos transportes interno e externo de massa contribuem também para a retardação do processo, sendo que as curvas cinéticas possuem um decaimento mais ameno ao longo do tempo. No mesmo trabalho, as constantes de dessorção obtidas foram da mesma ordem de grandeza que 10^{-2} min⁻¹, portanto, inferiores aos da Tabela 5.2.

A partir dos resultados obtidos por Chase (1984) e Pungor et al (1987), Rodrigues (1992) extraiu os valores das constantes cinéticas de adsorção e dessorção da lisosima no gel de Sepharose, utilizando-os como referência nas simulações. A ordem de grandeza de k_{ads} no trabalho de Rodrigues (1992) foi 10^6 L/mol.h, enquanto para a CefC na resina Streamline QX-L é 10^5 L/mol.h (massa molecular da CefC=446,1 g/mol). Embora os adsorbatos e adsorventes sejam diferentes, a discrepância moderada (mas não pequena) entre tais valores se deve ao fato de a adsorção da enzima no gel ocorrer apenas na superfície, (PUNGOR et al, 1987) similarmente à CefC. Além disso, os modelos cinéticos empregados por Rodrigues (1992) foram semelhantes aos utilizados neste trabalho. A mesma análise se aplica a k_{des} .

Nos ensaios de dessorção, a eluição com NaCl 1g/100 mL não retirou toda a CefC da resina, conforme mostram as linhas azuis das Figuras 5.4a, 5.4b e 5.4c. Diante desse fato e levando em consideração que a dessorção é um processo muito pouco reversível, nota-se que a concentração salina adotada foi baixa, pois limita a eluição. Esse fato não interfere em análises posteriores, pois k_{DES} é parâmetro intrínseco e, no objetivo de realizar a eluição total, basta aumentar a concentração salina. Além disso, a quantidade relativa (C/C_0) de antibiótico eluído se mantém constante entre as temperaturas, para um determinado pH. Da mesma forma que na adsorção, é claramente notável que o processo atinge o regime estacionário rapidamente, dificultando a precisão da ascensão inicial das curvas C/C_0 . A CefC é dessorvida rapidamente da superfície da resina e incorporada instantaneamente ao seio da solução devido à pequena resistência aos transportes interno e externo de massa.



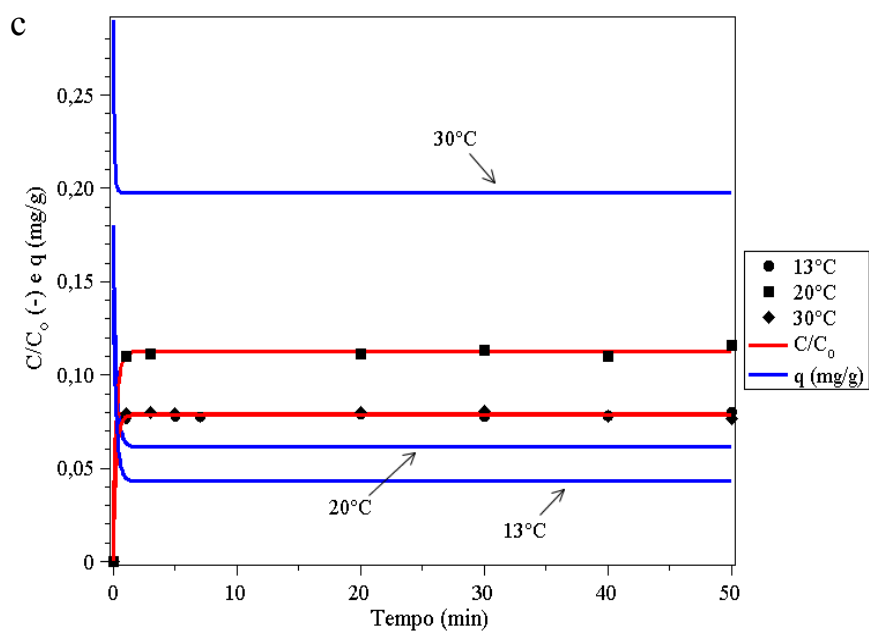


Figura 5.4 – Curvas cinéticas de dessorção da CefC em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de C/C_0 e as azuis aos valores de q . Ambas são tendências segundo o modelo de primeira ordem com saturação

A Tabela 5.3 resume os principais resultados obtidos na dessorção e permite observar que k_{DES} tende a aumentar com a temperatura, exceto em pH 4,7, em que há presença de extremo a 20°C.

Tabela 5.3 – Constante cinética de dessorção da CefC obtida através do modelo cinético de primeira ordem com saturação

pH	T (°C)	k_{DES} (min ⁻¹)	R ²
2,8	13	3,09	0,99
	20	3,59	0,99
	30	4,13	0,99
4,7	13	5,04	0,99
	20	8,28	0,99
	30	6,43	0,99
6,8	13	3,90	0,99
	20	3,87	0,99
	30	10,36	0,99

Isso é devido à melhor interação do NaCl com a superfície da resina, no intuito de eluir a CefC. Os resultados apontam que a cinética de eluição é mais rápida a 30°C e pH 6,8 e tal condição é considerada favorável ao processo. O modelo proposto, dado pelas Equações 4.5 e 4.6, representa satisfatoriamente a cinética de eluição da CefC.

Almeida (2003) obteve valores da constante cinética intrínseca de eluição na mesma ordem de grandeza daqueles listados na Tabela 5.3, isto é, 10^0 min^{-1} . Tal fato aponta uma similaridade matemática no processo intrínseco de eluição da CefC e ácido clavulânico, mesmo em resinas com características químico-estruturais diferentes.

Rodrigues (1992) utilizou em suas simulações um valor de k_{DES} de 1 ordem de grandeza acima (10^1 min^{-1}). Essa discrepância moderada, mas não pequena, indica uma analogia matemática em relação à eluição da CefC.

Abordagem termodinâmica da adsorção da CefC

Em processos físicos e químicos é muito importante conhecer os aspectos termodinâmicos dos mesmos a fim de tirar conclusões adicionais e verificar as energias envolvidas em tais fenômenos. Na adsorção não é diferente, sendo que muitos trabalhos utilizaram equações termodinâmicas como ferramenta matemática (BARBOZA et al, 2003; SHAREEF e AHMED, 2007).

Nos cálculos de equilíbrio de adsorção da CefC na resina de troca iônica StreamLine QX-L foram avaliadas a capacidade máxima de adsorção (q_m) e a constante de afinidade do adsorbato pela resina (K_L). Sabe-se também que, de acordo com as origens da isoterma de Langmuir, K_L é o inverso da constante de equilíbrio referente à equação química 2.1.

No intuito de averiguar as energias envolvidas na troca iônica, deve-se considerar primeiramente a definição da variação da energia livre de Gibbs padrão em função da constante de equilíbrio, expressa pela Equação 5.1:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln(K_{eq}) \quad (5.1)$$

Além disso, como consequência da segunda lei da termodinâmica, a variação da energia livre de Gibbs padrão está relacionada com as variações da entalpia e entropia padrão através da Equação 5.2, uma das mais importantes relações termodinâmicas:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (5.2)$$

Substituindo a Equação 5.1 na Equação 5.2 e efetuando uma pequena manipulação algébrica, tem-se a Equação 5.3:

$$\ln(K_{eq}) = -\frac{\Delta H^\circ}{R} \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (5.3)$$

Como K_{eq} é o inverso de K_L , a Equação 5.3 sofre uma mudança de sinal e resulta na Equação 5.4:

$$\ln(K_L) = \frac{\Delta H^\circ}{R} \frac{1}{T} - \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (5.4)$$

A Equação 5.4 é um modelo fenomenológico que relaciona a constante de afinidade com a temperatura para cada pH e permite estimar as variações de entalpia e entropia padrão de adsorção. Tomando-se o inverso da temperatura como variável independente e o logaritmo neperiano da constante de afinidade como variável dependente, a Equação 5.4 mostra que o ajuste linear entre essas variáveis tem como coeficiente angular a razão $\Delta H^\circ/R$ e como coeficiente linear a razão $-\Delta S^\circ/R$. Atenção especial é requerida ao usar a Equação 5.4, pois deve ser assumido que as variações de entalpia e entropia padrão, para cada pH, sejam constantes com a temperatura na faixa estudada (MAHAN e MYERS, 1995). Adicionalmente, os valores de K_L devem estar em mol/L, já que as constantes de equilíbrio são sempre calculadas em bases molares devido à própria definição.

A Figura 5.5 exibe $\ln(K_L)$ em função do inverso da temperatura para cada pH. Ressalta-se que os valores de K_L estão em mol/L.

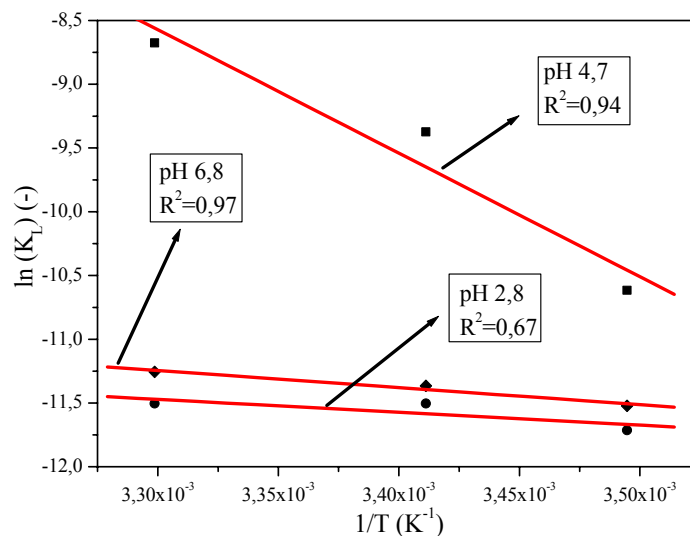


Figura 5.5 – Gráfico de $\ln(K_L)$ em função do inverso da temperatura para cada pH

O comportamento das curvas indicam que o aumento da temperatura desfavorece a afinidade da CefC pela resina em todos os pH, seja em maior ou menor grau. Uma análise visual da inclinação da reta de ajuste no pH 4,7 permite constatar que nessa condição tem-se maior calor de adsorção e, matematicamente, isto está relacionado com a maior sensibilidade do K_L à variações de temperatura.

A Tabela 5.4 sumariza os resultados termodinâmicos obtidos a partir da Figura 5.5. Valores negativos das variações de entalpia padrão ocorreram em todos os pH e indicam exotermia do processo de adsorção da CefC nos sítios ativos da resina. Ordens de grandeza iguais foram obtidas em outros estudos envolvendo adsorção (BARBOZA et al, 2003; SHAREEF e AHMED, 2007). A liberação de energia térmica explica o desfavorecimento da formação do complexo q nas temperaturas mais altas (princípio de Le Chatelier), o que confirma as observações feitas nos ensaios de equilíbrio a partir da Tabela 5.1.

Tabela 5.4 – Energias envolvidas na adsorção da CefC em função do pH

pH	ΔH° (kJ/mol)	ΔS° (kJ/mol.K)
2,8	-8,38	0,07
4,7	-80,54	-0,19
6,8	-11,13	0,06

Alguns trabalhos que abordaram a adsorção de antibióticos beta-lactâmicos forneceram resultados semelhantes. Barboza et al (2003) estudaram a adsorção do ácido clavulânico na resina aniônica Amberlite IRA 400-Cl em pH 7 e obtiveram um valor de ΔH° de -29,15 kJ/mol (quantidade próxima às da Tabela 5.4) concluindo, portanto, que se trata de um processo exotérmico. De acordo com Addo-Yobo (1988), a adsorção da cefalosporina C no adsorvente polimérico não-iônico Amberlite XAD-2 tem um valor de ΔH° de -25,10 kJ/mol, indicando exotermia do processo.

As variações de entropia padrão positivas, verificadas nos pH 2,8 e 6,8, são devidas a melhor distribuição de energia quando o complexo q é formado (KOTZ e TREICHEL, 2002; SHAREEF e AHMED, 2007) e apontam, em geral, maior estabilidade da união entre adsorbato e adsorvente. No pH 4,7 nota-se variação negativa de entropia,

decorrente de um processo menos estável e com uma distribuição de energia menos favorável à manutenção do complexo q. Barboza et al. (2003) obtiveram entropia positiva nos ensaios de adsorção do ácido clavulânico na resina Amberlite IRA 400-Cl, sendo que o valor encontrado para ΔS° foi 0,08 kJ/mol.K.

Em suma, os resultados mostram que é necessária a remoção de calor para que o processo de adsorção se mantenha na temperatura especificada, seja qual for o pH. Os números da Tabela 5.4 possibilitam observar que o pH 6,8 é o melhor para se conduzir a adsorção da CefC na resina StreamLine QX-L, pois exige menos refrigeração em comparação ao pH 4,7 e é capaz de formar um complexo mais estável devido à melhor distribuição de energia (variação de entropia padrão positiva). Embora os adsorventes utilizados em outros estudos tenham sido diferentes, as variações de entalpia e entropia padrão apontam uma similaridade termodinâmica na adsorção de antibióticos beta-lactâmicos.

Estimativa da quantidade de CefC ionizável

Quando se emprega um processo de troca iônica é importante ter em mente que se trata de um mecanismo entre espécies iônicas: o íon de regeneração presente em um sítio ativo da resina é deslocado pelo adsorbato presente em solução. Mas ocorre que apenas uma parte do adsorbato disponível sofre ionização, e é justamente essa porção que é capaz de ser adsorvida por uma resina de troca iônica. Semelhantemente, quando se trata de um processo de adsorção não específica empregando resinas poliméricas (por exemplo, XAD-2 e XAD-4), apenas a porção neutra (que não sofreu ionização) pode ser adsorvida nos sítios ativos da resina (MISHRA et al, 2007).

Conforme descrito por MISHRA et al (2007) a concentração de adsorbato que não se ioniza (C_n) é função do pH e está relacionada com a concentração total (C_o) através da equação de Henderson-Hasselbach, representada pela Equação 5.5:

$$C_n = \frac{C_o}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_a}} \quad (5.5)$$

Onde K_a é a constante de ionização do adsorbato. Para a CefC, tem-se que K_a vale 2,5. Empregando essa técnica para o processo de adsorção da CefC é possível definir qual pH favorece a formação de moléculas iônicas.

A Tabela 5.5 mostra os resultados obtidos através do uso da Equação 5.5, sendo que, pelos valores da coluna C_n , a quantidade de CefC que não se ioniza é decrescente com o aumento de pH. Nota-se que em pH 4,7 e 6,8 praticamente todo o antibiótico presente em solução sofre ionização e está disponível para ser adsorvido na resina, conforme é exibido na última coluna. Mas, diante de todas as discussões levantadas até aqui (constante de afinidade, calor de adsorção e estabilidade), de fato o pH 6,8 é mais vantajoso para conduzir o processo de adsorção da CefC.

Tabela 5.5 – Estimativa da quantidade de CefC ionizável através da equação de Henderson-Hasselbach

pH	C_o (mg/L)	C_n (mg/L)	$C_{ionizável}$ (mg/L)
2,8	110,82	37,00	73,82
4,7	108,92	0,68	108,24
6,8	110,53	$5,59 \times 10^{-3}$	110,52

5.1.2 Contaminantes

Ensaio de equilíbrio

A fim de verificar a reprodutibilidade do método para a quantificação de contaminantes pela integração numérica do espectro de varredura, realizou-se um experimento de equilíbrio em duplicata a 20°C e pH 6,8.

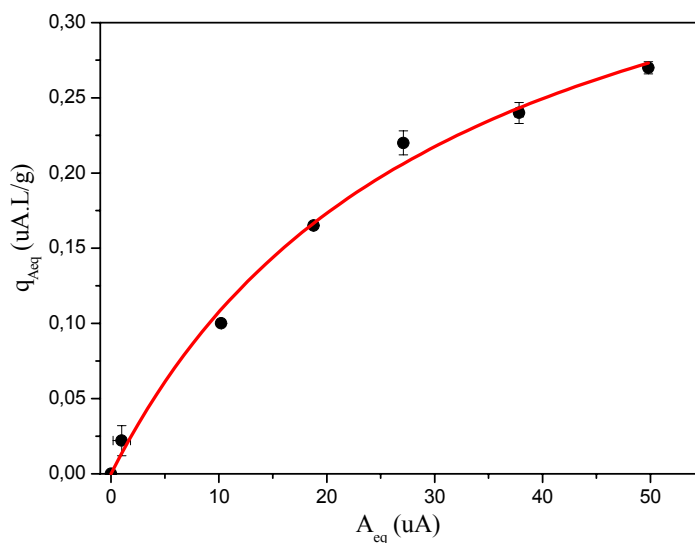
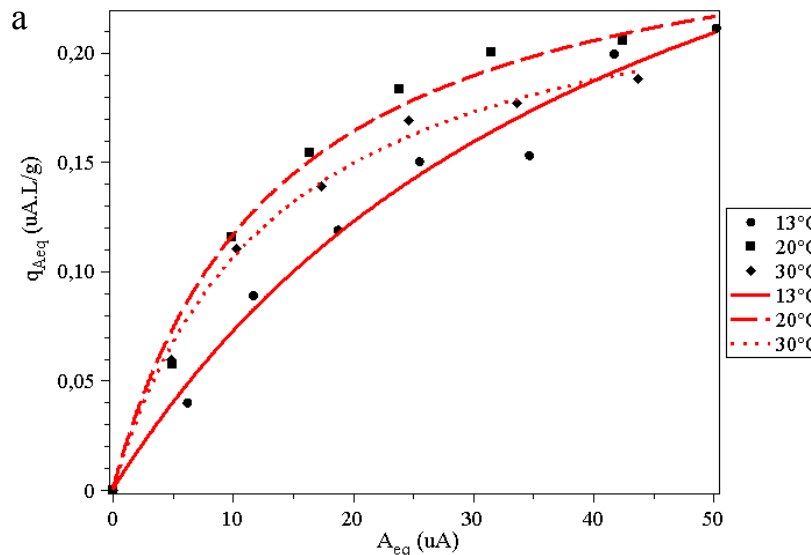


Figura 5.6 – Isoterma de equilíbrio de contaminantes obtida em duplicata a 20°C e pH 6,8. Os símbolos são dados experimentais e a linha corresponde ao modelo de Langmuir ajustado

O resultado obtido está mostrado na Figura 5.6, a qual permite constatar que o método adotado é aplicável aos contaminantes, sendo que há uma clara tendência de acordo com o modelo de Langmuir. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,990, mostrando que a equação ajustada concorda com os dados experimentais.

As Figuras 5.7a, 5.7b e 5.7c apresentam, respectivamente, os ensaios de equilíbrio de adsorção de contaminantes realizados em pH 2,8, 4,7 e 6,8. Visualmente é possível identificar que o comportamento das isotermas não varia de maneira significativa para os pH's 4,7 e 6,8. Em outras palavras, os parâmetros de equilíbrio q_{Am} e K_{AL} são funções fracas da temperatura nos pH's mencionados, conforme mostra a Tabela 5.6. Atenção especial é requerida para o pH 2,8, sendo que a 13°C houve maior capacidade de adsorção de contaminantes em relação a 20 e 30°C, mas com perda significativa de afinidade (pois K_{AL} é maior). Além disso, q_{Am} possui tendência de aumentar com o acréscimo do valor do pH. Outro resultado importante está no pH 6,8, pois a capacidade de adsorção é acrescida em relação às demais condições e a afinidade entre os contaminantes e a resina foi maior devido ao baixo valor de K_{AL} . Isso aponta que tal condição é a mais favorável para a remoção de contaminantes.



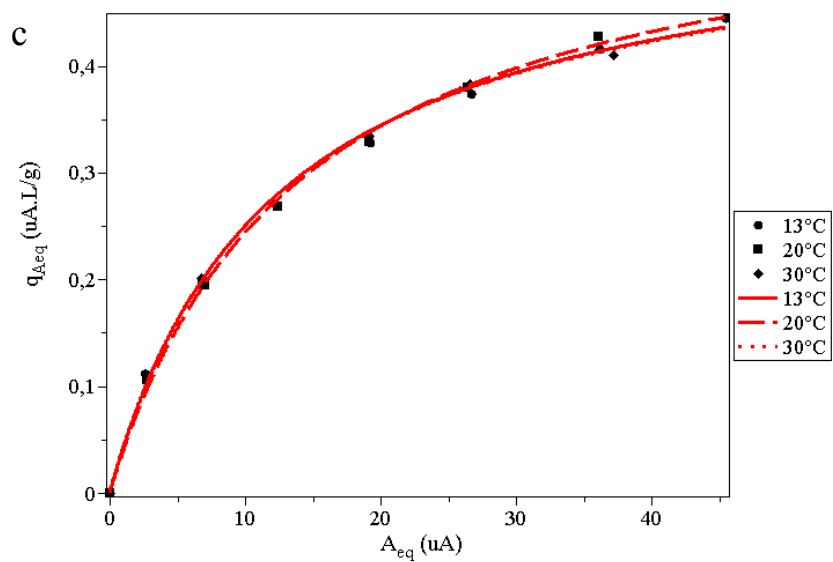
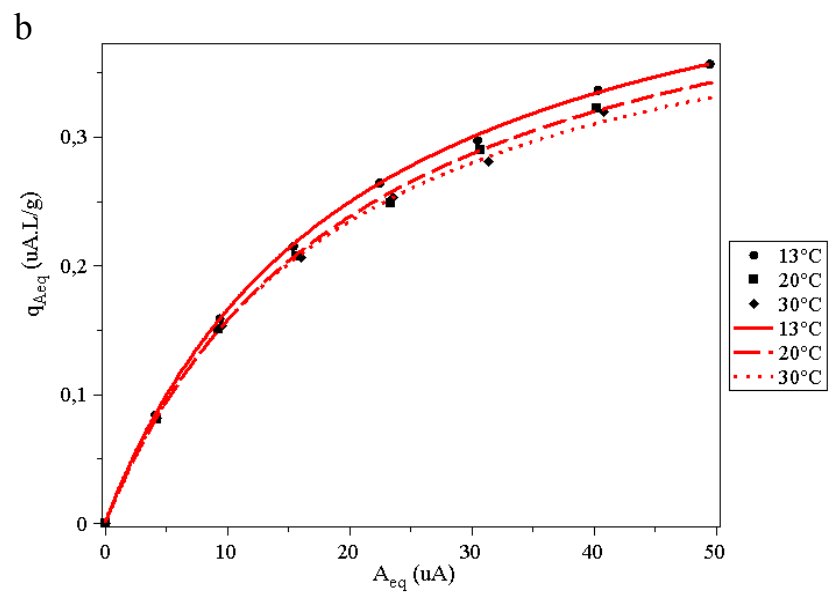


Figura 5.7 – Isotermas de equilíbrio de contaminantes em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). Símbolos são dados experimentais e linhas são tendências de acordo com o modelo de Langmuir

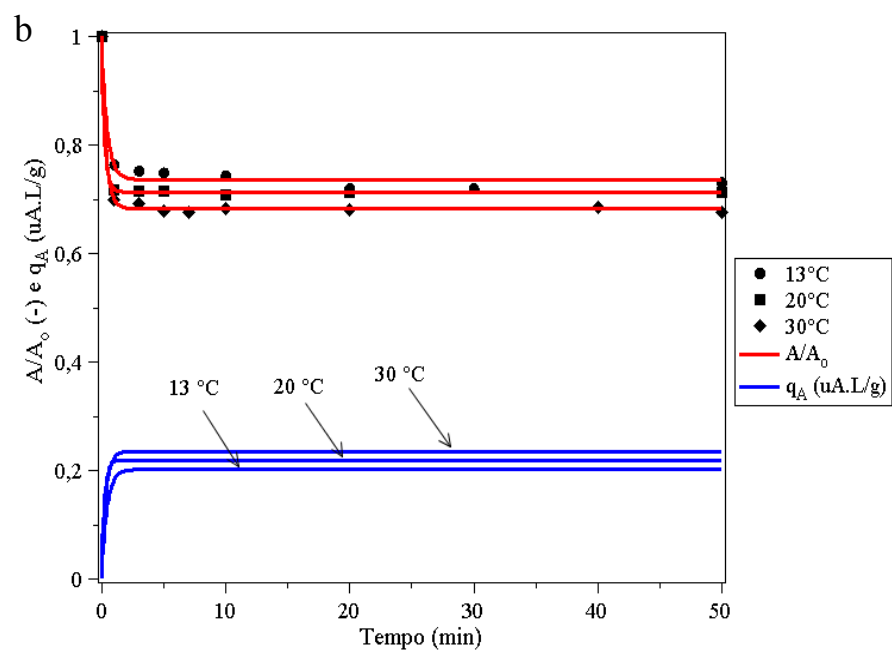
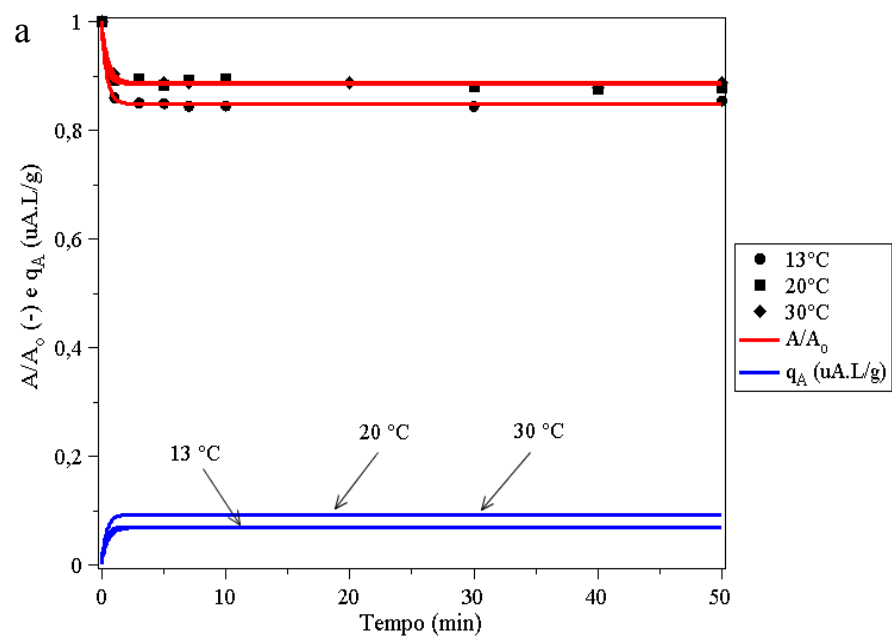
Tabela 5.6 – Parâmetros de equilíbrio de contaminantes calculados a partir do modelo de Langmuir

pH	T (°C)	q_{Am} (uA.L/g)	K_{AL} (uA)	R^2
2,8	13	0,39	44,57	0,99
	20	0,27	13,66	0,99
	30	0,25	13,79	0,99
4,7	13	0,50	20,48	0,99
	20	0,49	20,94	0,99
	30	0,46	19,20	0,99
6,8	13	0,55	12,10	0,99
	20	0,58	13,85	0,99
	30	0,55	11,96	0,99

É notável, pelos valores dos coeficientes de correlação da Tabela 5.6, a boa concordância do modelo de Langmuir com as informações obtidas experimentalmente. Em linhas gerais, pode-se descrever a adsorção de contaminantes na resina StreamLine QX-L como um processo que ocorre em monocamada e é caracterizado pela presença de um número finito de sítios ativos, como na CefC.

Ensaio de cinética

As Figuras 5.8a, 5.8b e 5.8c exibem o perfil da área adimensional (linhas vermelhas) e da quantidade de contaminantes adsorvida por grama de resina (linhas azuis) para os ensaios de cinética de adsorção em pH 2,8, 4,7 e 6,8, respectivamente. Nota-se que, de maneira análoga a CefC, a adsorção ocorre nos primeiros instantes dos experimentos, reforçando a hipótese das resistências desprezíveis aos transportes de massa interno e externo. Embora o declínio inicial das curvas A/A_0 não tenha sido determinado com precisão, o modelo cinético proposto concordou com os dados experimentais, conforme exibe a Tabela 5.7. As constantes cinéticas de adsorção de contaminantes (k_{Aads}) foram maiores em pH 6,8, favorecendo a remoção dos mesmos. Isto está de acordo com os resultados obtidos nos ensaios de equilíbrio. Destaca-se a condição 20°C e pH 6,8, pois nela ocorreu a remoção de mais da metade dos contaminantes presentes em solução. A importância disso está no fato de clarificar o meio e deixá-lo mais livre de pigmentos que podem interferir em processos subsequentes de purificação da CefC.



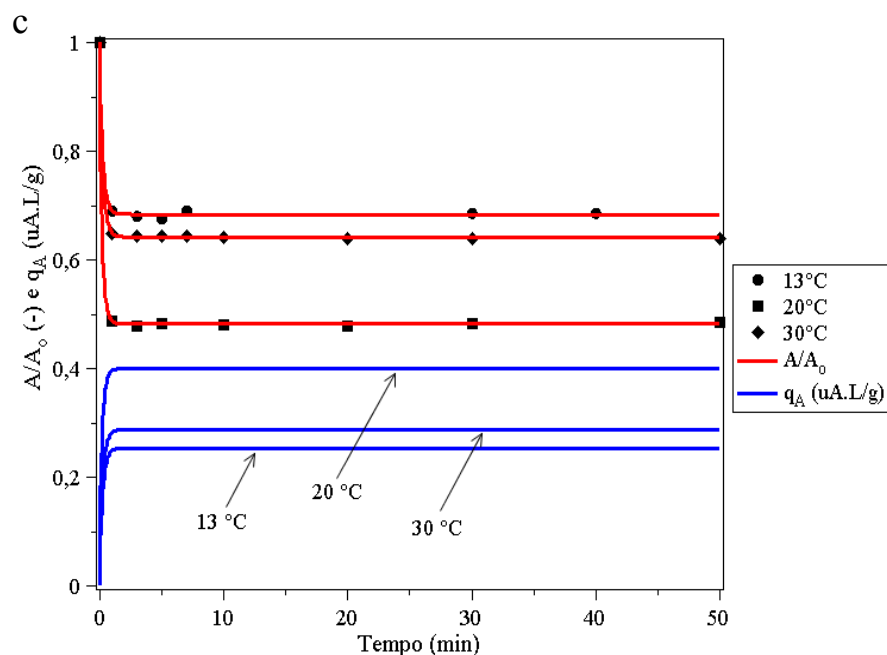


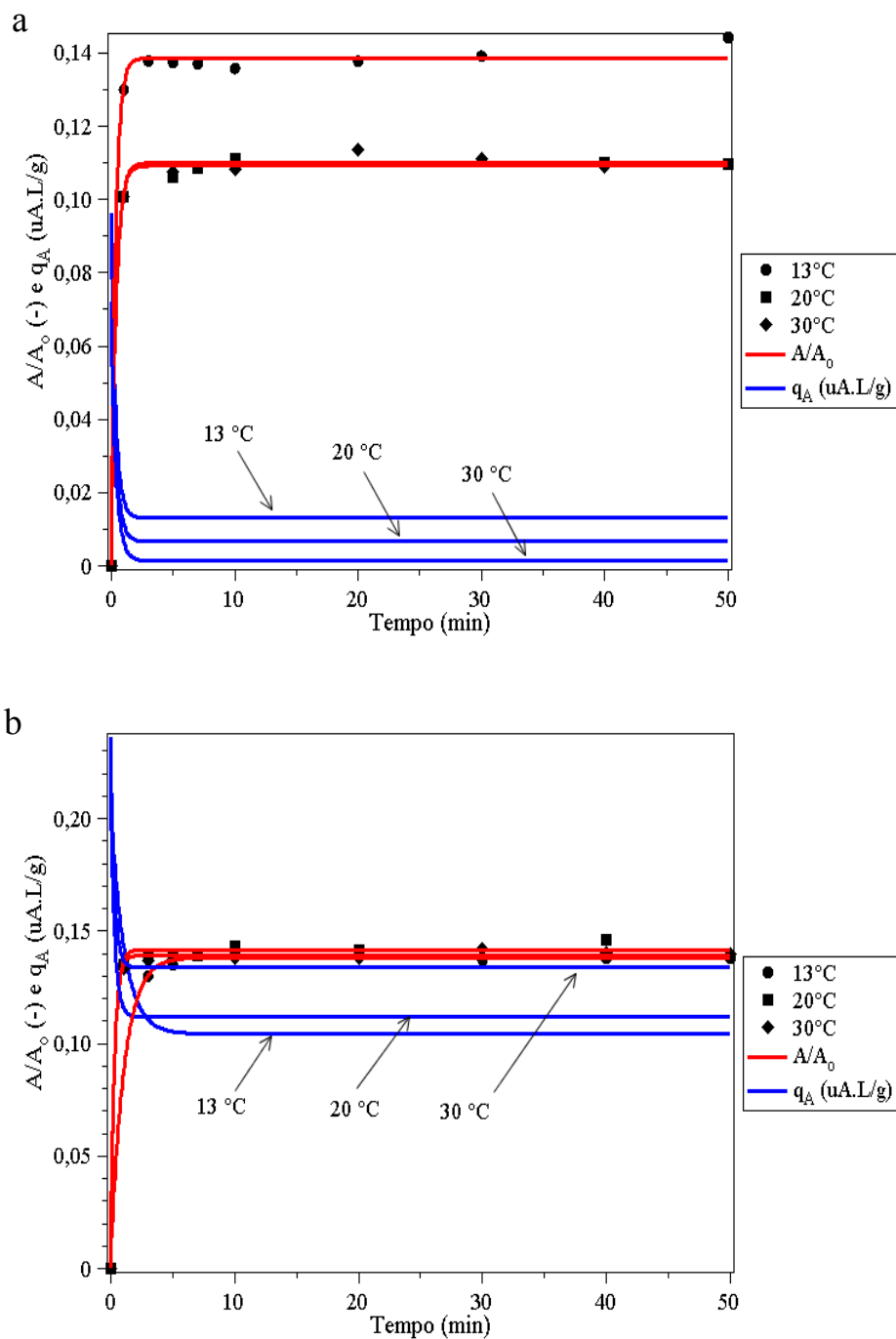
Figura 5.8 – Curvas cinéticas de adsorção de contaminantes em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de A/A_0 e as azuis aos valores de q_A . Ambas são tendências segundo o modelo cinético reversível

Tabela 5.7 – Parâmetros cinéticos de adsorção de contaminantes obtidos através do modelo cinético reversível

pH	T (°C)	k_{Aads} ($10^{-2} uA^{-1} min^{-1}$)	$k_{A des}$ (min^{-1})	R^2
2,8	13	1,25	1,66	0,99
	20	1,58	1,95	0,97
	30	1,11	1,25	0,99
4,7	13	1,57	1,04	0,98
	20	3,23	1,74	0,99
	30	2,77	1,07	0,99
6,8	13	3,12	1,60	0,99
	20	7,10	0,95	0,99
	30	3,66	1,38	0,99

As Figuras 5.9a, 5.9b e 5.9c exibem o comportamento transiente da área adimensional (linhas vermelhas) e da quantidade de contaminantes por grama de resina (linhas azuis) em pH 2,8, 4,7 e 6,8, respectivamente. Observa-se que o pH 2,8 favorece a eluição dos mesmos, fato que pode ser prejudicial quando se deseja purificar a solução. O

modelo cinético de eluição proposto explica satisfatoriamente os dados experimentais, como pode ser visto pela análise dos coeficientes de correlação da Tabela 5.8. A mesma permite observar que a constante de dessorção de contaminantes (k_{ADES}) do processo de eluição não se altera apreciavelmente em dado pH, exceto em pH 4,7, em que a 13°C tem-se uma dessorção mais lenta. Comparativamente com os ensaios de eluição feitos para a CefC, o eluente NaCl na proporção 1g/100mL tende a liberar mais contaminantes ao seio da solução, indicando que o antibiótico apresenta maior tendência de ficar adsorvido na resina. Logo, em geral, os fatores de purificação são próximos ou inferiores ao valor unitário.



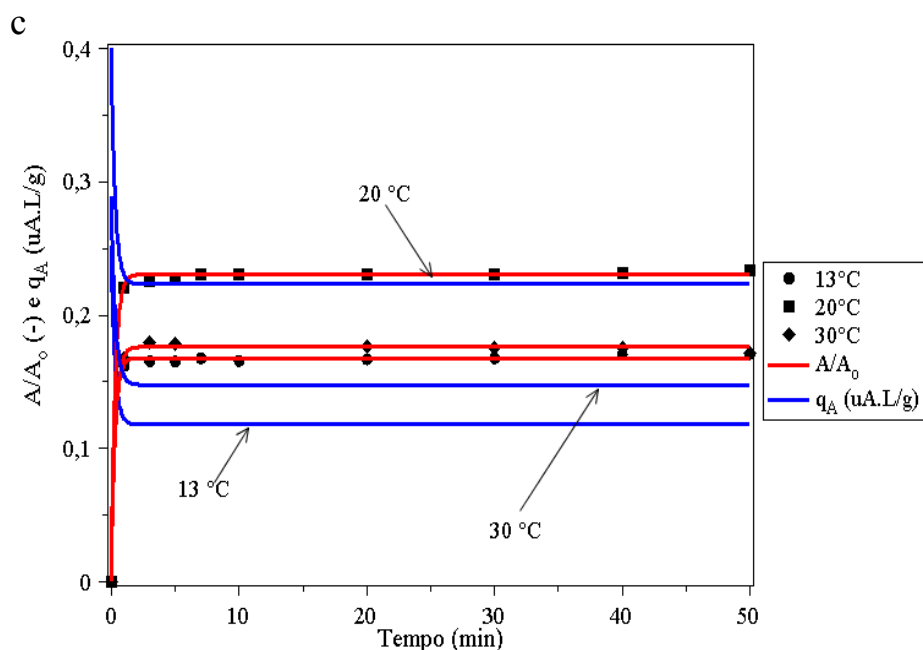


Figura 5.9 – Curvas cinéticas de dessorção de contaminantes em pH 2,8 (a), 4,7 (b) e 6,8 (c). As linhas vermelhas se referem aos valores de A/A_0 e as azuis aos valores de q_A . Ambas são tendências segundo o modelo cinético com saturação

Tabela 5.8 – Constante cinética de dessorção de contaminantes obtida através do modelo cinético com saturação

pH	T (°C)	k_{ADES} (min ⁻¹)	R ²
2,8	13	2,79	0,99
	20	2,55	0,99
	30	2,49	0,99
4,7	13	0,93	0,99
	20	3,09	0,99
	30	3,23	0,99
6,8	13	3,42	0,99
	20	3,22	0,99
	30	3,06	0,99

5.1.3 Fatores de purificação dos ensaios em batelada

Os resultados referentes ao fator de purificação dos estudos em batelada estão sumarizados na Tabela 5.9. Em todos os ensaios de cinética foi notável que os valores de FP estiveram abaixo da unidade, indicando que a CefC tende a ficar na resina após o tratamento

com eluente NaCl na proporção 1g/100mL. Além disso, observa-se que os valores finais de C/C_o e A/A_o não se alteraram de maneira significativa entre as condições experimentais estudadas.

Tabela 5.9 – Fatores de purificação obtidos nos ensaios cinéticos

pH	T (°C)	C_{final}/C_o (-)	A_{final}/A_o (-)	FP (-)
2,8	13	0,05	0,14	0,36
	20	0,05	0,11	0,45
	30	0,05	0,11	0,45
4,7	13	0,07	0,14	0,50
	20	0,07	0,15	0,47
	30	0,06	0,14	0,43
6,8	13	0,08	0,17	0,47
	20	0,11	0,23	0,48
	30	0,08	0,18	0,44

5.2 Simulação do processo contínuo em regime transiente

5.2.1 Cefamicina C

Simulação nas condições de referência

Conforme mostram os estudos realizados em batelada, as condições de temperatura e pH mais favoráveis à adsorção e eluição da CefC são 30°C e 6,8; respectivamente. Sendo assim, todas as simulações do processo contínuo, seja em regime transiente ou estado estacionário, serão conduzidas nesses valores de temperatura e pH.

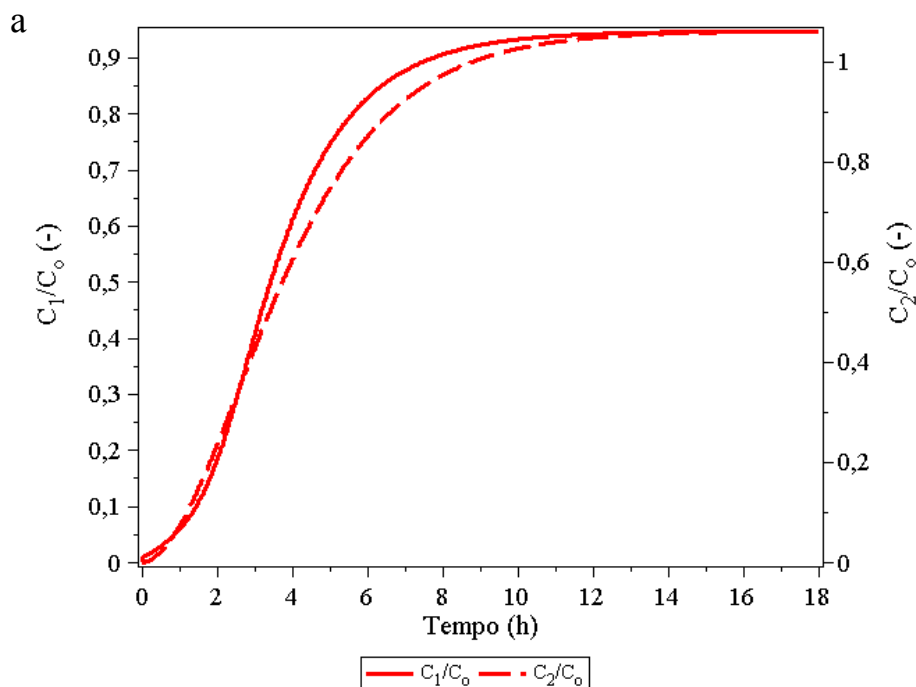
A Tabela 5.10 apresenta os valores de referência de cada variável que será usada nas simulações, bem como os valores dos parâmetros FC, FP, η e σ .

Tabela 5.10 – Condições de referência para o processo contínuo

C_o (mg/L)	70
q_m (mg/g)	0,22
k_{ads} (L/g.min)	12,08
k_{des} (min ⁻¹)	0,054
k_{DES} (min ⁻¹)	10,36
A_o (uA)	80
q_{Am} (uA.L/g)	0,55
k_{Aads} (uA ⁻¹ .min ⁻¹)	$3,66.10^{-2}$
$k_{A des}$ (min ⁻¹)	1,38
k_{ADES} (min ⁻¹)	3,06
Φ (g/mL)	0,4
F_1 (mL/min)	10
F_2 (mL/min)	0,5
F_r (mL/min)	0,5
V_1 (mL)	1000
V_2 (mL)	100
FC (-)	1,06
FP (-)	0,77
η (%)	5,31
σ (g/L.h)	$2,03.10^{-3}$

Os valores das vazões e da proporção massa de resina/volume de fase líquida estão baseados nos trabalhos de Rodrigues (1992), Barboza et al (2002a e 2002b) e Almeida (2003). Conforme observado por Almeida (2003), os parâmetros FC, η e σ são mais altos quando se trabalha com volume maior no 1º estágio, sendo tal informação confirmada em simulações preliminares durante a preparação deste trabalho.

Os perfis transientes das quantidades de CefC presentes nas fases líquida e sólida para os estágios de adsorção e dessorção, nas condições de referência (Tabela 5.10), são mostrados nas Figuras 5.10a e 5.10b. Analisando o comportamento das curvas cinéticas observa-se que a fase líquida atinge o estado estacionário depois que a fase sólida (15 horas e 8 horas, respectivamente). Esse fato indica que, para essa condição, os mecanismos de adsorção e dessorção são mais rápidos do que os mecanismos hidrodinâmicos. O tempo decorrido para atingir o estado estacionário depende muito da configuração do processo, tanto operacional (vazões, volumes e proporções) quanto paramétrica (constantes cinéticas e de equilíbrio). Almeida (2003) obteve 3 a 5 horas de regime transiente, ao passo que Barboza et al (2002a) obtiveram 2 a 10 horas. Além disso, tal como observado por Rodrigues (1992), os valores de q_1 e q_2 são proporcionais entre si, sendo que o segundo é cerca de 4 ordens de grandeza (10^4) menor que o primeiro. Isso mostra que a resina que retorna ao primeiro estágio está suficientemente limpa. Na condição de referência, nota-se que a CefC é concentrada na saída do segundo estágio em um fator de, aproximadamente, 1,06.



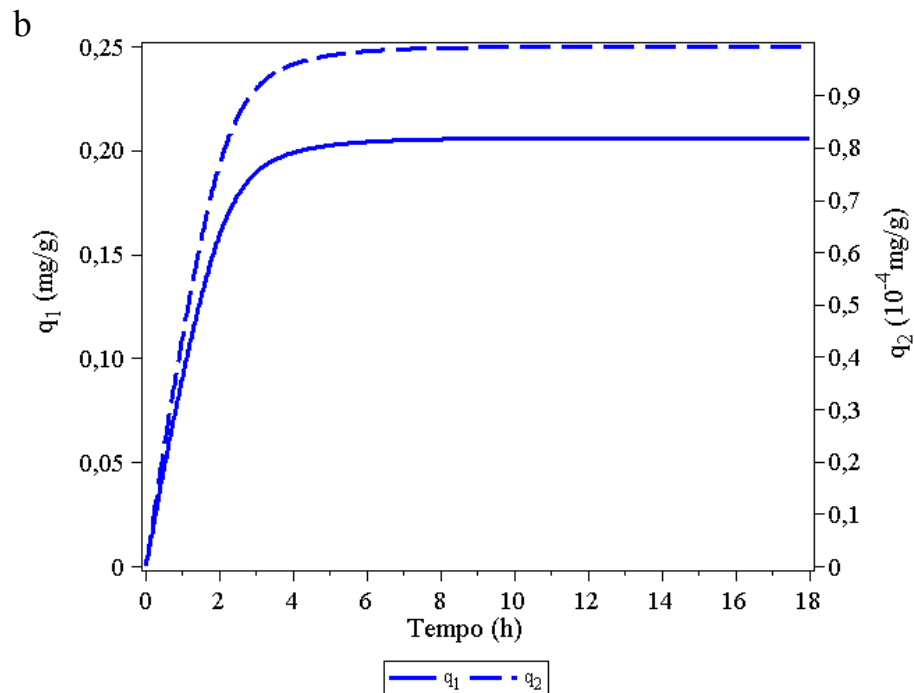


Figura 5.10 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) nas condições de referência. As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

Em se tratando da operação de um processo contínuo, é importante investigar a influência da perturbação de alguma variável operacional nas principais variáveis resposta do sistema, após este atingir o regime permanente. Por isso, as três vazões do processo CARE (F_1 , F_2 e F_r) sofrerão perturbações independentes do tipo degrau, 20% acima do valor de referência, após 25 horas de operação, a fim de verificar a estabilidade do processo. Para realizar essa mudança súbita, valeu-se da combinação de duas funções degrau unitário (ou funções de Heaviside), tal como mostra a Equação 5.6:

$$F = F_0 H(25 - t) + 1,2 F_0 H(t - 25) \quad (5.6)$$

Onde F_0 é qualquer uma das três vazões, na condição de referência, H é a função degrau unitário e t o tempo em horas.

Para cada uma das três vazões, o sistema de equações diferenciais representado pelas Equações 4.17 a 4.20, sujeito às condições iniciais dadas pelas Equações 4.21 a 4.24, será resolvido levando em conta a variação degrau da vazão em questão.

Simulação considerando perturbação degrau em F_1 20% acima do valor de referência

As Figuras 5.11a e 5.11b mostram o comportamento resposta das quantidades de CefC nas fases líquida e sólida, respectivamente, perante à perturbação em F_1 .

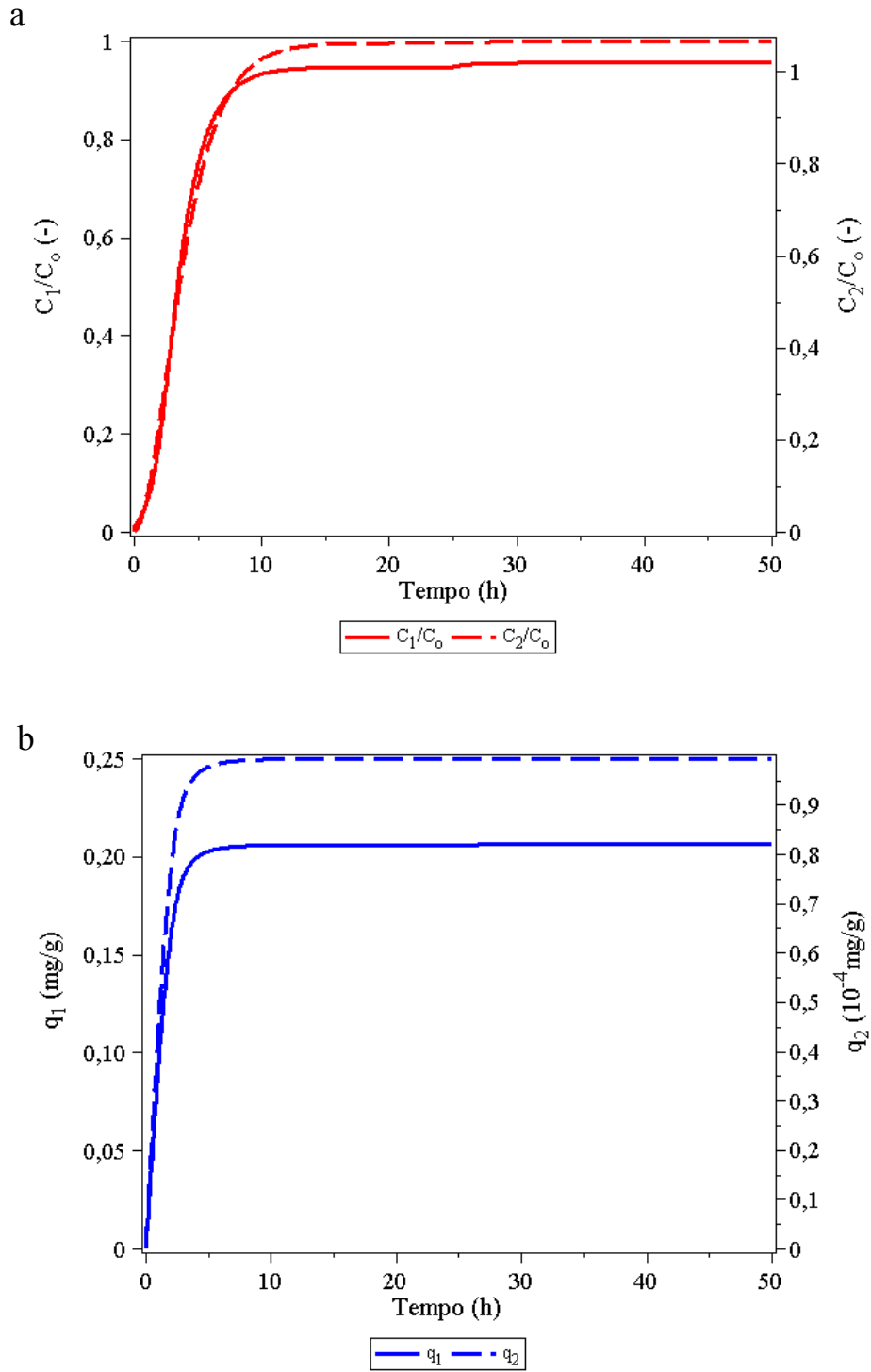


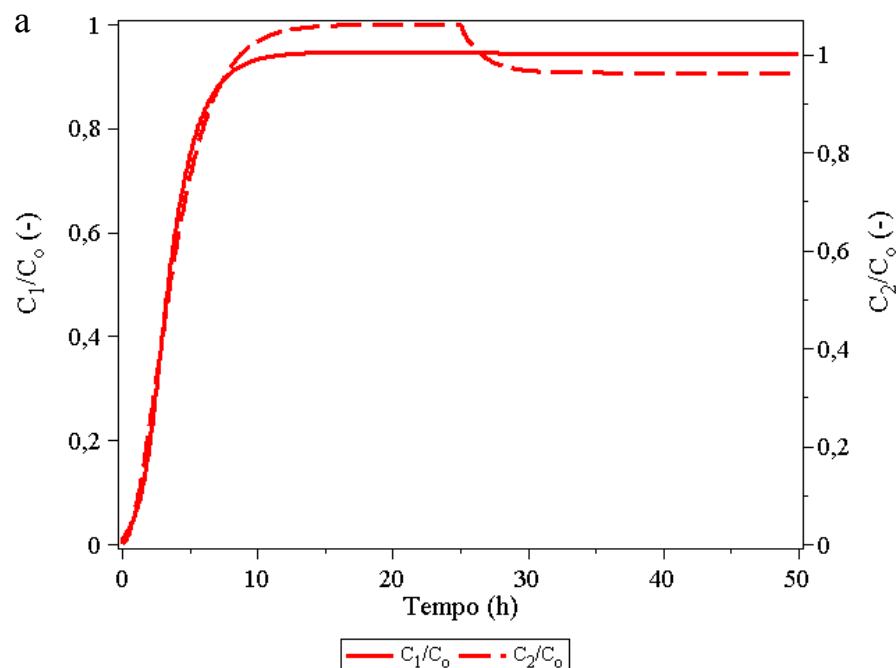
Figura 5.11 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_1 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

Observa-se que os perfis transientes das quantidades de CefC em fase líquida após a variação de grau não se alteraram significativamente, embora um pequeno aumento em ambas seja notado. Como F_1 aumentou, há mais CefC entrando no sistema com um menor tempo de residência. Isso gera um leve aumento na concentração em fase líquida. Após aproximadamente 8 horas da perturbação ter ocorrido, o sistema atinge um novo estado estacionário, sendo que não houve oscilação nas variáveis resposta. Rodrigues (1992) obteve tempos que vão de 60 a 90 horas para atingir o novo estado estacionário. Embora os modelos propostos sejam essencialmente os mesmos, os valores das constantes cinéticas e de equilíbrio foram bem diferentes (inclusive em ordens de grandeza), gerando essa diferença de tempos.

Com relação à fase sólida, nenhuma alteração apreciável foi constatada. Em geral, a variação em F_1 foi pouco significativa.

Simulação considerando perturbação degrau em F_2 20% acima do valor de referência

As Figuras 5.12a e 5.12b mostram o comportamento resposta das quantidades de CefC nas fases líquida e sólida, respectivamente, perante à perturbação em F_2 .



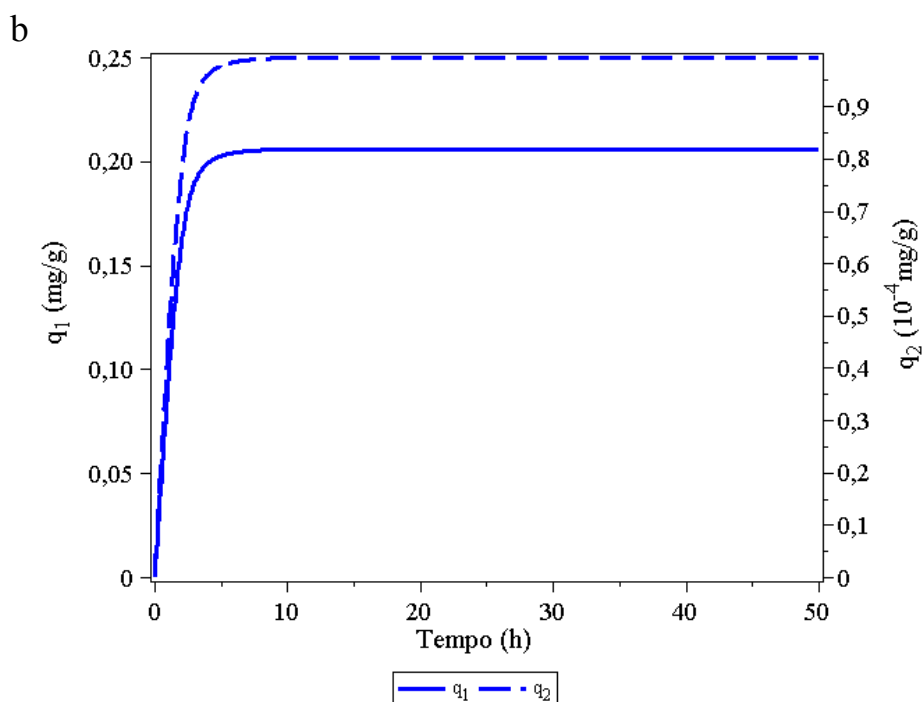


Figura 5.12 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_2 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

Tal variação provocou um decréscimo do fator de concentração na saída do segundo estágio. Esse fato é explicado partindo da observação de que o aumento em F_2 , além de gerar uma diminuição no tempo de residência no segundo estágio (menor tempo de contato com a solução salina eluente), aumenta a vazão mássica do antibiótico nesse mesmo estágio. Como resultado, tem-se mais CefC deixando o estágio de dessorção (o que aumenta a produtividade), mas a uma composição menor.

Com relação à fase sólida, nenhuma alteração apreciável foi constatada com o aumento da vazão de eluente, F_2 .

Simulação considerando perturbação degrau em F_r 20% acima do valor de referência

As Figuras 5.13a e 5.13b mostram o comportamento resposta das quantidades de CefC nas fases líquida e sólida, respectivamente, perante à perturbação em F_r . Tal variação teve menos influência no primeiro estágio, onde o volume é 10 vezes maior em relação ao segundo. O aumento do fator de concentração se deve a maior vazão de resina “suja” que chega ao segundo estágio. Quanto mais resina entrando por unidade de tempo, mais CefC é eluída de volta ao meio líquido, aumentando a composição do antibiótico. Mas, conforme

mostra a Figura 5.13b, a quantidade do antibiótico adsorvida por massa de resina no segundo estágio também aumenta, pois o eluente tem sua função prejudicada quando a quantidade de resina que circula o sistema, por unidade de tempo, se torna maior.

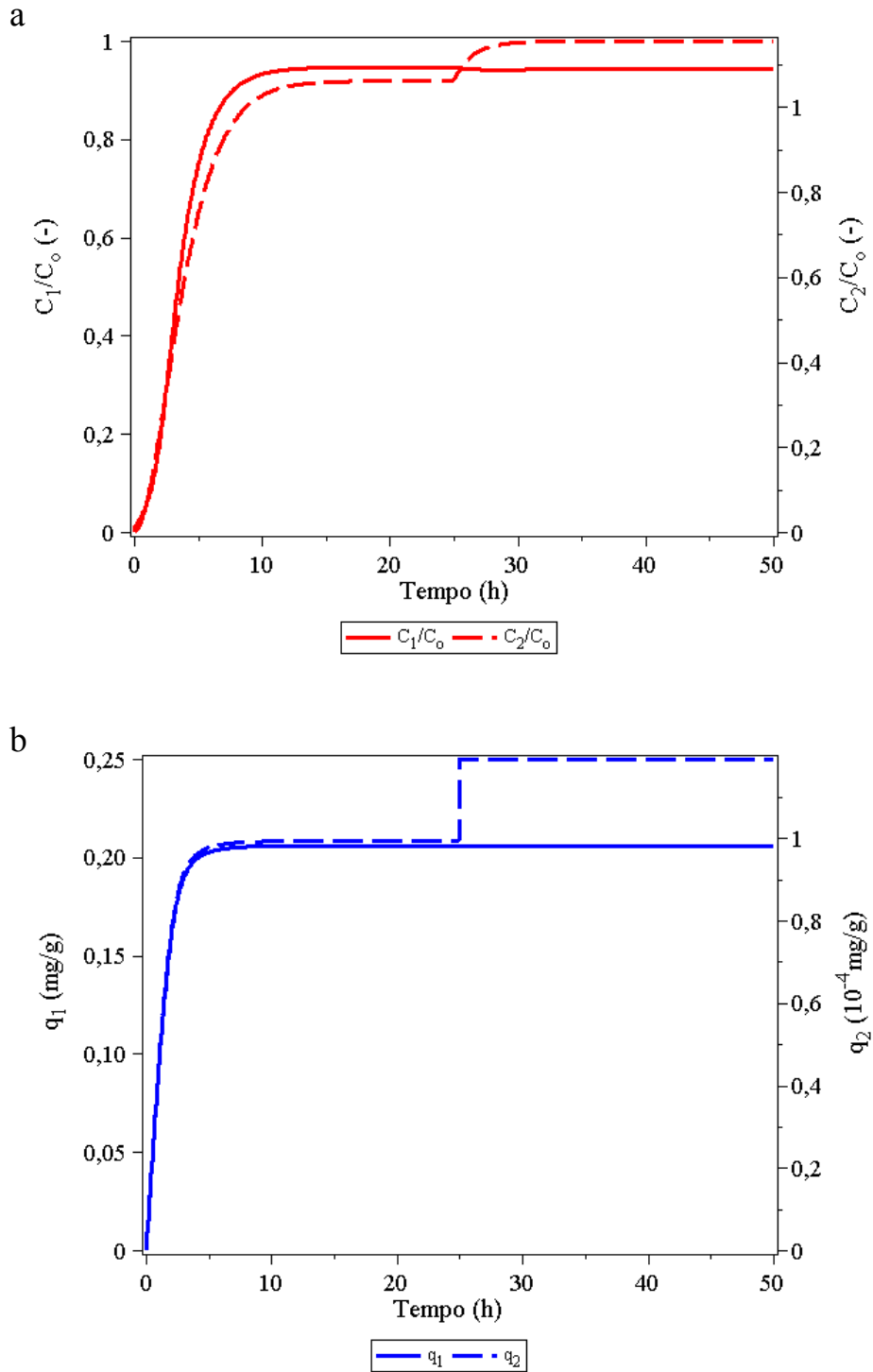


Figura 5.13 – Comportamento transiente das quantidades de CefC nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_r . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

Em resumo, há mais CefC sendo eluída, não pela qualidade da eluição, mas pela maior quantidade de resina “suja” disponível.

Diante dos resultados das três perturbações degrau ocorridas é possível verificar que não houve mecanismos oscilatórios nas variáveis resposta, o que facilita uma futura implementação de estratégia de controle. O tempo para se atingir um novo estado estacionário é, em média, de 10 horas.

Nota-se que as variações em F_2 e F_r provocam diferentes resultados: a primeira é capaz de aumentar a produtividade, pois gera mais CefC com menor concentração. A segunda aumenta o fator de concentração, visto que melhora a eluição do antibiótico a uma mesma vazão de retirada F_2 .

5.2.2 Contaminantes

Simulação nas condições de referência

Os perfis transientes das composições de contaminantes nas fases líquida e sólida de cada estágio do processo contínuo seguem, em geral, a mesma tendência daqueles exibidos para a CefC. Conforme descrito nos processos em batelada, os modelos de adsorção para ambas as espécies possuem fundamentação semelhante (cinética e equilíbrio).

As Figuras 5.14a e 5.14b mostram o comportamento transiente dos contaminantes em fase líquida e sólida, respectivamente, nas condições de referência da Tabela 5.10. Observa-se que o sistema entra em regime permanente após 20 horas para a fase líquida e 17 horas para a fase sólida. Além disso, nota-se que o fator de concentração de contaminantes é superior ao da CefC, cerca de 1,38, reforçando o fato de que o antibiótico tende a ficar adsorvido na resina, comparativamente aos contaminantes, no estágio de dessorção.

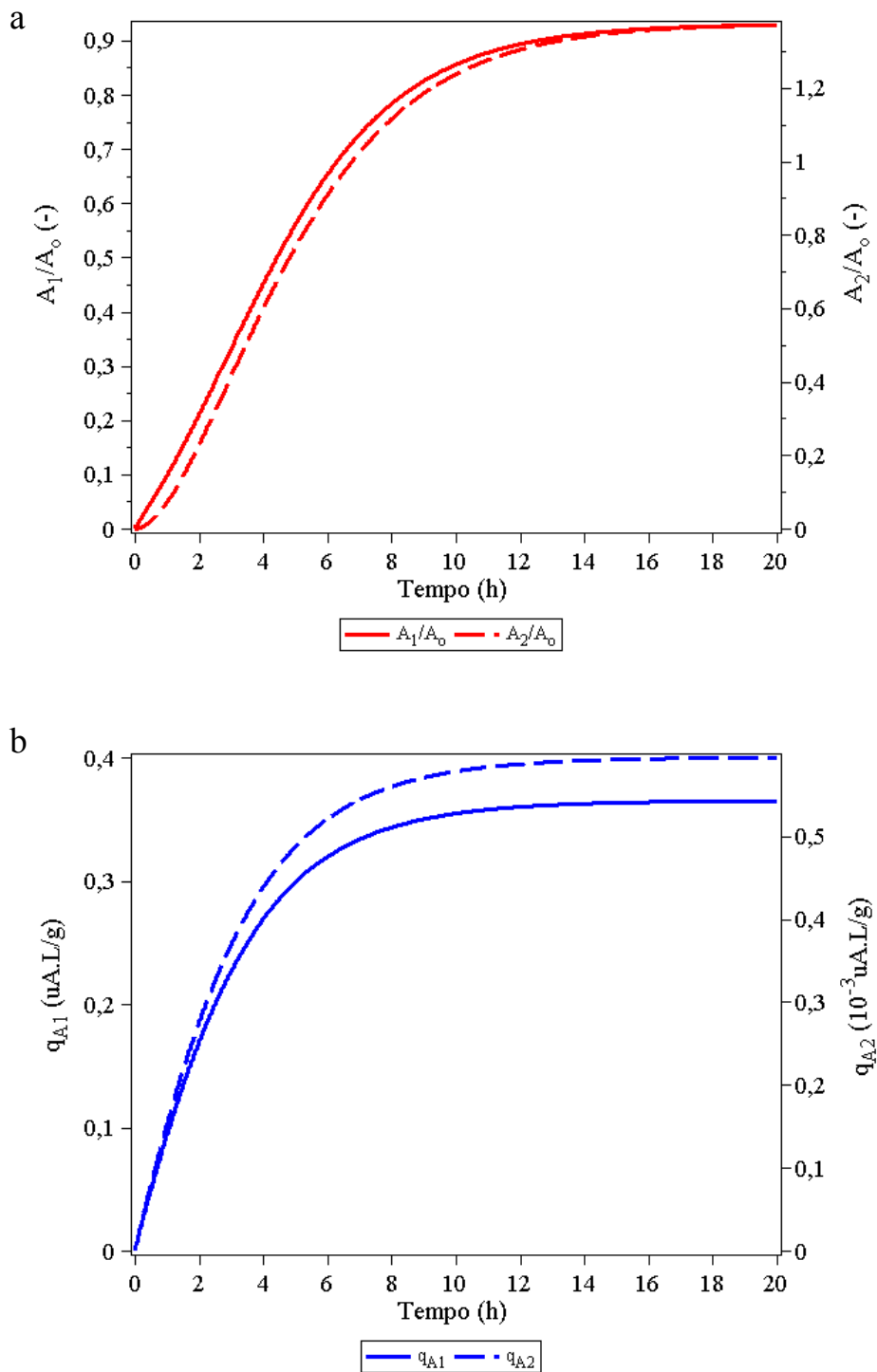


Figura 5.14 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) nas condições de referência. As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

Simulação considerando perturbação degrau em F_1 20% acima do valor de referência

As Figuras 5.15a e 5.15b mostram o comportamento resposta das quantidades de contaminantes nas fases líquida e sólida, respectivamente, perante a perturbação em F_1 .

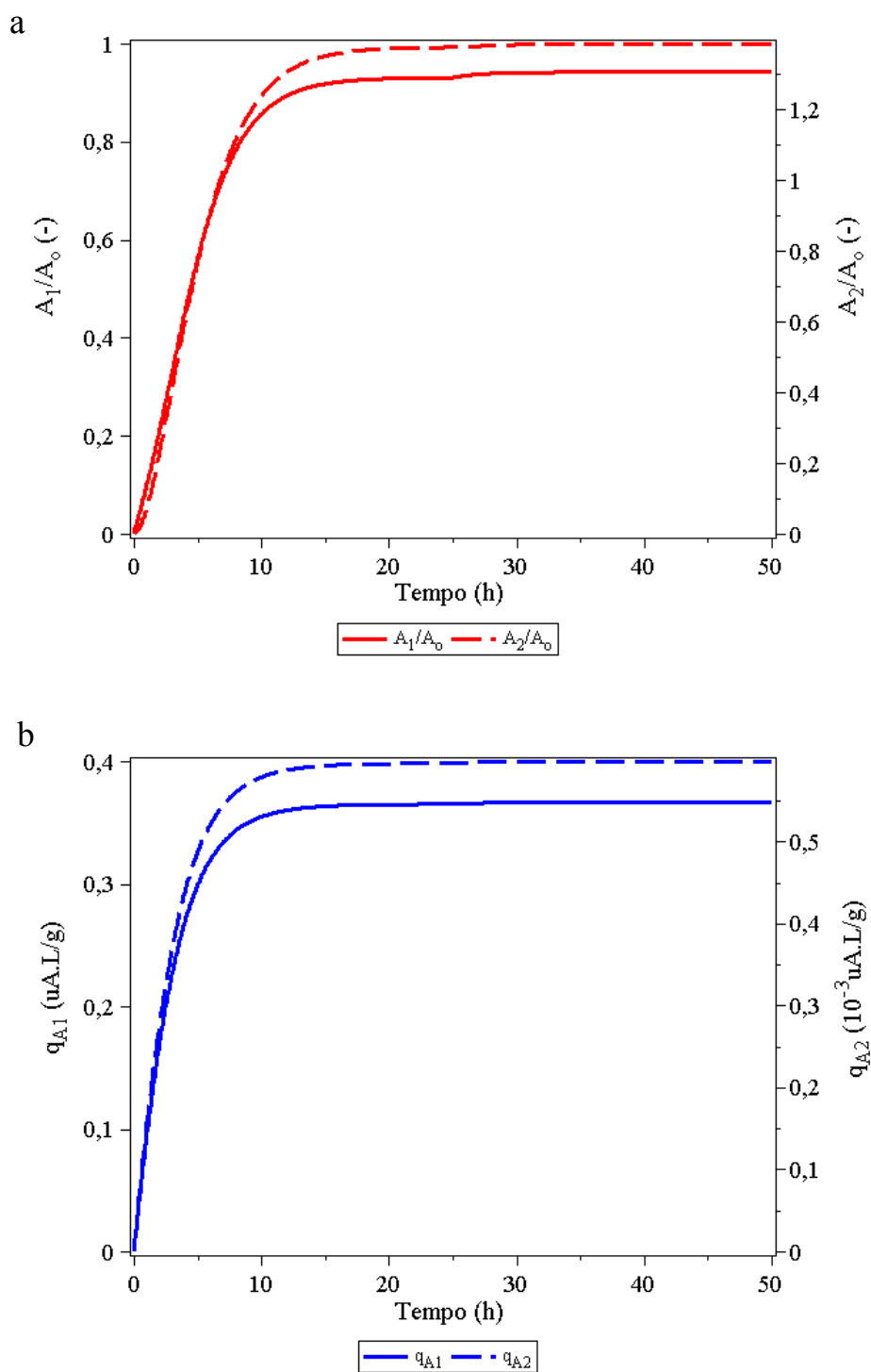


Figura 5.15 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_1 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

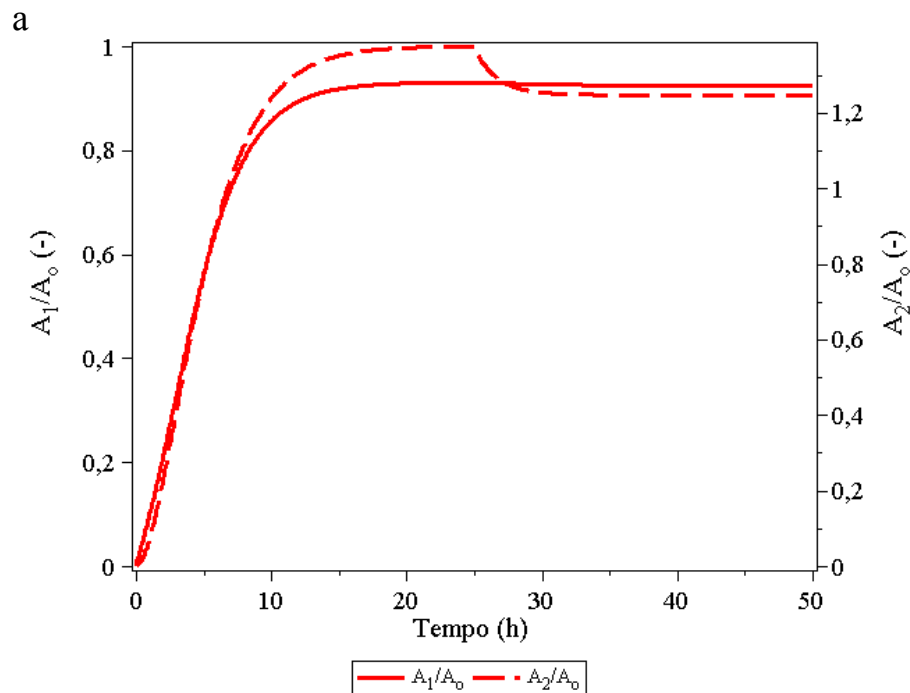
De maneira análoga à CefC, a variação degrau em F_1 não provocou alterações significativas nas variáveis resposta, sendo que o tempo necessário para alcançar o novo estado estacionário é de aproximadamente 10 horas. Com o aumento de F_1 , tem-se a

diminuição do tempo de residência no primeiro estágio, provocando um leve aumento na quantidade de contaminantes em fase líquida.

Nenhuma alteração significativa foi observada na fase sólida. Em geral, a variação em F_1 não gerou grandes alterações nas variáveis resposta.

Simulação considerando perturbação degrau em F_2 20% acima do valor de referência

As Figuras 5.16a e 5.16b mostram o comportamento resposta das quantidades de contaminantes nas fases líquida e sólida, respectivamente, perante à perturbação em F_2 . Da mesma forma que a CefC, o aumento na vazão de eluente contribuiu para a retirada de contaminantes no segundo estágio, acompanhada de queda no fator de concentração. Não houve alterações apreciáveis na fase sólida com a mudança no valor de F_2 .



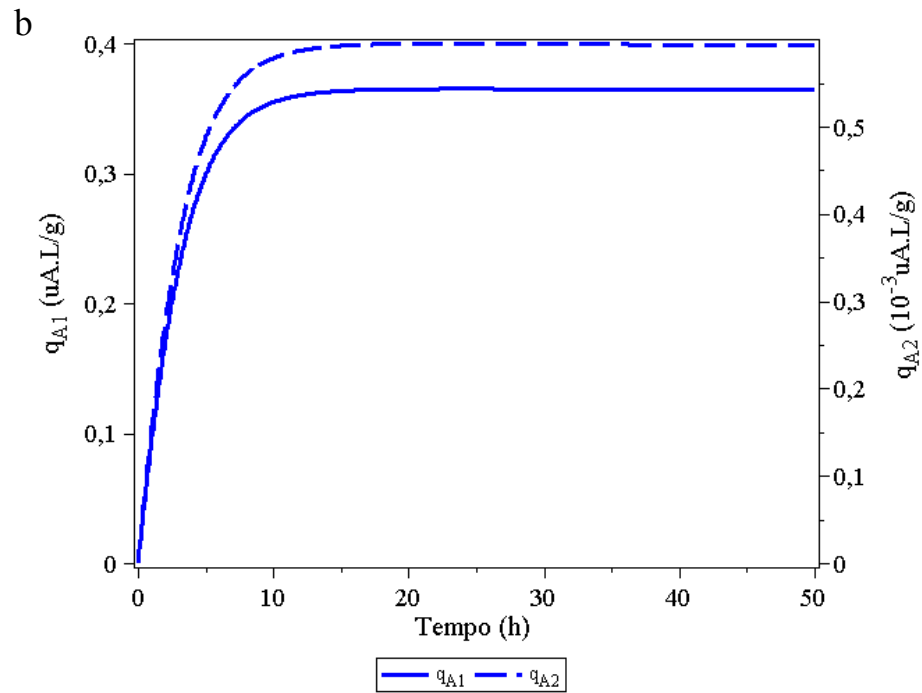
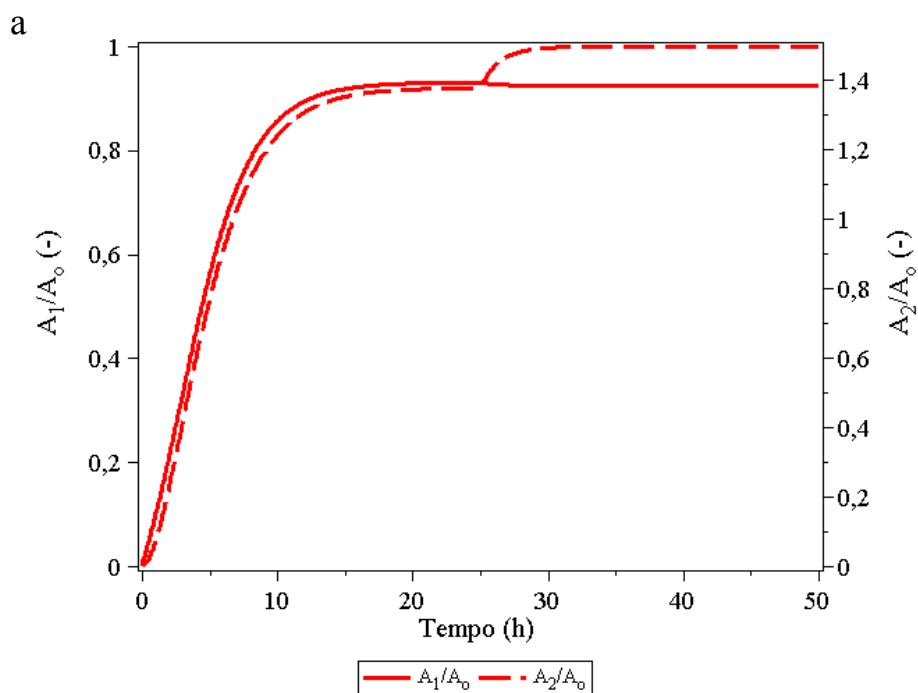


Figura 5.16 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_2 . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

Simulação considerando perturbação degrau em F_r 20% acima do valor de referência

As Figuras 5.17a e 5.17b mostram o comportamento resposta das quantidades de contaminantes nas fases líquida e sólida, respectivamente, perante à perturbação em F_r .



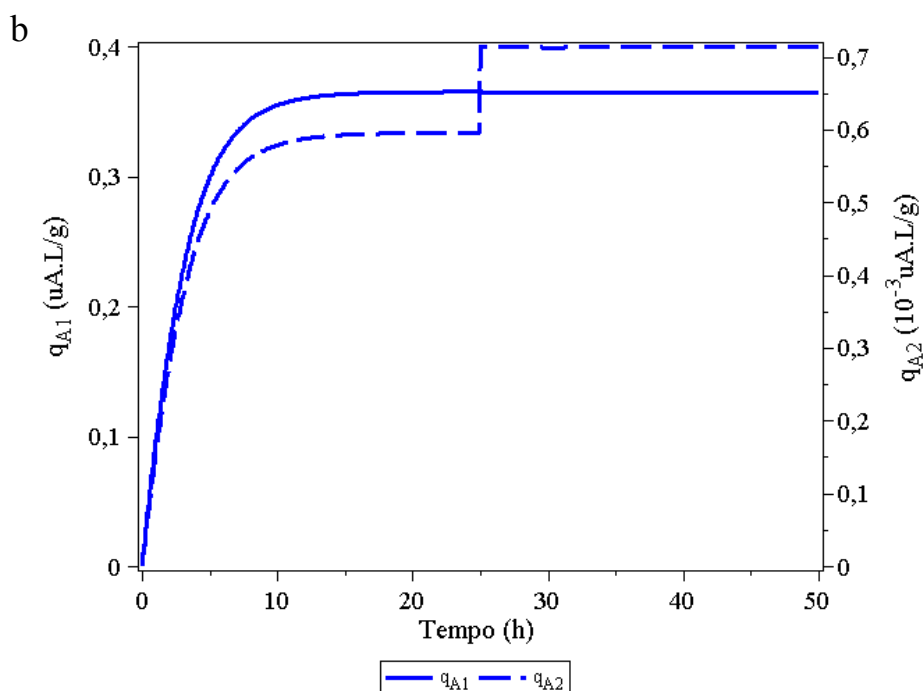


Figura 5.17 – Comportamento transiente das quantidades de contaminantes nas fases líquida (a) e sólida (b) perante à perturbação degrau em F_r . As linhas contínuas se referem ao primeiro estágio e as tracejadas ao segundo estágio

Com o aumento da vazão mássica de resina “suja” que entra no estágio de dessorção, há mais contaminantes sendo eluídos de volta ao meio líquido, gerando o acréscimo do fator de concentração. Mas, a solução eluente fica menos eficaz diante do aumento da vazão de resina, resultando em um leve aumento na quantidade de contaminantes adsorvida no segundo estágio.

Pela análise gráfica dos perfis de contaminantes frente às perturbações em cada vazão, é possível observar que o comportamento foi semelhante àquele verificado no caso da CefC. F_1 tem pouca influência nos perfis, F_2 é capaz de retirar contaminantes para fora do sistema a uma menor concentração e F_r promove aumento do fator de concentração.

5.3 Análise de sensibilidade paramétrica do processo contínuo em regime permanente

A verificação do comportamento dos perfis dinâmicos na operação do processo contínuo, perante a alteração em alguma variável, é útil para decidir estratégias de controle. Além disso, serve para avaliar se o sistema torna-se instável e oscilatório, bem como o tempo para se atingir um novo estado estacionário.

No momento de acoplar o processo CARE em uma planta de purificação de antibióticos, todos os cálculos efetuados serão conduzidos na condição de regime permanente, isto é, aquela condição estacionária onde nenhuma variável muda com o tempo.

Tão importante quanto analisar uma variação de grau em uma simulação dinâmica, é verificar a influência de parâmetros operacionais nas simulações em estado estacionário. Em outras palavras, deseja-se verificar o ganho, em regime permanente, de um conjunto de variáveis resposta importantes do sistema após uma variação estabelecida em determinadas variáveis de entrada. Com essa análise, é possível dizer qual parâmetro operacional afeta mais uma determinada variável de saída.

Conforme explanado na tese de Rodrigues (1992), o fator de sensibilidade da variável de saída β com relação à variável de entrada α é definido pela Equação 5.7:

$$S_{\beta,\alpha} = \frac{\frac{\beta_{\text{final}} - \beta_{\text{referência}}}{\beta_{\text{referência}}}}{\frac{\alpha_{\text{final}} - \alpha_{\text{referência}}}{\alpha_{\text{referência}}}} \quad (5.7)$$

Para exemplificar o uso da Equação 5.7 é feita a suposição de que $\alpha_{\text{referência}}=5$ e $\beta_{\text{referência}}=10$. Supondo que α seja variado 30% acima de seu valor de referência ($\alpha_{\text{final}}=6,5$), constatou-se que a variável de saída β atingiu o valor 17,5 ($\beta_{\text{final}}=17,5$). Logo:

$$S_{\beta,\alpha} = \frac{\frac{17,5 - 10}{10}}{\frac{6,5 - 5}{5}} = 2,5$$

Para o caso do processo contínuo em regime permanente, as variáveis de entrada e saída adotadas na análise de sensibilidade estão dispostas na Tabela 5.11:

Tabela 5.11 – Variáveis de entrada e de saída consideradas na análise de sensibilidade paramétrica

Variáveis de entrada	Variáveis de saída
C_o	FC
Φ	FP
F_1	η
F_2	σ
F_r	

Analisando a Tabela 5.11, verifica-se que as variáveis de saída nada mais são do que parâmetros de desempenho pertinentes ao processo de adsorção (fator de concentração, fator de purificação, rendimento e produtividade, respectivamente). O objetivo, então, é avaliar a sensibilidade desses parâmetros com relação a cada variável de entrada. Para tanto, cada variável da primeira coluna da Tabela 5.11 sofreu uma alteração 30% superior ao respectivo valor de referência indicado na Tabela 5.10. Como resultado, é gerada uma matriz de sensibilidade, representada pela Tabela 5.12, cuja construção foi realizada no Maple[®].

Tabela 5.12 – Resultados da análise de sensibilidade paramétrica no estado estacionário

	S_{FC}	S_{FP}	S_{η}	S_{σ}
C_o	-0,395	-0,395	-0,395	0,487
Φ	0,539	-0,078	0,539	0,539
F_1	0,020	-0,010	-0,754	0,020
F_2	-0,445	0,006	0,422	0,422
F_r	0,421	0,006	0,421	0,421

Os resultados da Tabela 5.12 mostram que a concentração de CefC na alimentação tem influência considerável no processo, sendo que seu aumento é prejudicial aos parâmetros FC, FP e η . O acréscimo em C_o faz com que todos os sítios disponíveis para o antibiótico sejam ocupados por ele e, conseqüentemente, há maior retirada do mesmo no primeiro estágio. Isso provoca uma perda do rendimento, não compensada pelo ganho na produtividade do segundo estágio.

A proporção massa de resina/volume de fase líquida influencia positivamente o processo, exceto sob o ponto de vista do fator de purificação. Quanto mais resina em cada estágio, mais sítios são disponíveis para a adsorção da CefC, ocasionando ganho no rendimento (menos perda no primeiro estágio). Além disso, há mais resinas “sujeitas” prontas para sofrerem regeneração, contribuindo para o incremento em FC e σ .

O aumento da vazão no primeiro estágio tem pouca influência positiva no fator de concentração e na produtividade, o que concorda com os resultados das simulações em regime transiente. Porém, a mesma vazão tem uma influência negativa mais considerável no rendimento, já que o acréscimo em F_1 provoca uma diminuição do tempo de residência no primeiro estágio, reduzindo o tempo de contato entre a CefC e a resina. Com isso, há mais antibiótico saindo logo no estágio de adsorção.

A vazão F_2 contribui positivamente para o rendimento e a produtividade, já que seu aumento implica em maior retirada de CefC no segundo estágio. Mas, concomitantemente, há perda considerável no fator de concentração, visto que há menor tempo de contato entre a solução eluente e a resina a ser regenerada. Essas observações concordam com àquelas realizadas em regime transiente.

A vazão de reciclo, F_r , tem influência positiva em todas as variáveis de saída. O aumento de F_r gera um acréscimo na vazão de resina que circula o sistema. Assim, há mais massa de resina, por unidade de tempo, disponível para receber a CefC no primeiro estágio e sofrer regeneração no segundo. Quando se tem baixas proporções massa de resina/volume de líquido, recomenda-se a compensação com valores de F_r mais altos (RODRIGUES, 1992) no intuito de atingir maiores FC, η e σ .

Os resultados da Tabela 5.12 apontam uma observação muito importante: o fator de purificação é o parâmetro mais rígido dentre os demais, isto é, sua sensibilidade é muito pequena comparativamente com FC, η e σ . Além disso, nota-se que as variações positivas foram insignificantes e as negativas foram mais consideráveis. Isso reforça o fato de que a CefC tende a ficar na resina ($FP < 1$), no segundo estágio, após o tratamento com a solução salina eluente.

5.4 Otimização do processo contínuo em regime permanente

Após a análise de sensibilidade paramétrica, que também exigiu a construção de funcionais do tipo $FC(F_1, F_2, F_r)$, $FP(F_1, F_2, F_r)$, $\eta(F_1, F_2, F_r)$ e $\sigma(F_1, F_2, F_r)$, é possível agora realizar a otimização multivariada do processo contínuo, conduzida nas condições de referência da Tabela 5.10. Acrescenta-se, no entanto, que as três vazões serão agora variáveis independentes, pois as mesmas serão variadas até que se encontre o ponto máximo de cada um dos parâmetros de desempenho.

Para executar a otimização, valeu-se do comando *NLPSolve*, desenvolvido no Maple[®]. No caso em questão, dentre os vários algoritmos disponíveis para otimização multivariada, adotou-se o método da Programação Seqüencial Quadrática (SQP, sigla em inglês). Muitos métodos de busca ora são irrestritos (não permitem restrições nas variáveis independentes), ora são ilimitados (não permitem limites inferiores e superiores nas variáveis independentes), ora são ambos. O SQP permite a inclusão de restrições, além de limites

inferiores e superiores. No entanto, é um método que necessita do gradiente da função objetivo e da matriz jacobiana das restrições.

Sendo assim, as Equações 5.8 a 5.11 representam os 4 problemas de otimização a serem resolvidos. As funções objetivo FC, FP, η e σ deverão ser maximizadas variando a tripla de vazões.

$$FC_{\max} = \max_{F_1, F_2, F_r} FC \quad (5.8)$$

$$FP_{\max} = \max_{F_1, F_2, F_r} FP \quad (5.9)$$

$$\eta_{\max} = \max_{F_1, F_2, F_r} \eta \quad (5.10)$$

$$\sigma_{\max} = \max_{F_1, F_2, F_r} \sigma \quad (5.11)$$

O problema de otimização será resolvido mediante a inclusão da restrição indicada pela Equação 5.12. Ela indica que a razão de reciclo não deve ser superior a 0,05 (5%).

$$\frac{F_r}{F_1 + F_2} \leq 0,05 \quad (5.12)$$

Operacionalmente, não é vantajoso que o valor de F_r seja grande. As correntes de reciclo, além de terem a função de transportar resina, levam impurezas ao segundo estágio (o que não é interessante) e carregam solução eluente ao estágio de adsorção (atrapalhando o processo) (RODRIGUES, 1992).

Em adição à restrição imposta, tem-se também o intervalo de busca nas variáveis independentes (Equações 5.13 a 5.15). Os limites inferiores e superiores foram definidos com base nos valores utilizados nos ensaios de Almeida (2003), Barboza et al (2002a) e Rodrigues (1992).

$$0,05 \leq F_1 \leq 20 \text{ (mL/min)} \quad (5.13)$$

$$0,05 \leq F_2 \leq 20 \text{ (mL/min)} \quad (5.14)$$

$$0,05 \leq F_r \leq 20 \text{ (mL/min)} \quad (5.15)$$

A solução do problema de otimização está sumarizada na Tabela 5.13. Ela mostra, nas três primeiras linhas, os valores de cada vazão que resultam no valor ótimo de cada parâmetro de desempenho (última linha).

Tabela 5.13 – Resultados da otimização multivariada do processo contínuo

	FC (-)	FP (-)	η (%)	σ (g/L.h)
F_1 (mL/min)	20	0,05	0,05	20
F_2 (mL/min)	0,05	20	20	20
F_r (mL/min)	1,00	0,06	1,00	2
Valor ótimo	2,07	1,06	99,73	$1,38 \cdot 10^{-2}$

As informações da Tabela 5.13 confirmam e acrescentam as observações realizadas nas seções que abordaram os regimes transiente e permanente.

O valor ótimo encontrado para o fator de concentração é 2,07; indicando que para as condições de vazões indicadas na primeira coluna da Tabela 5.13, tem-se um antibiótico 2 vezes mais concentrado na saída do segundo estágio, em relação à alimentação. Como era esperado, de acordo com as discussões anteriores, isso foi obtido a uma baixíssima vazão F_2 .

O fator de purificação, confirmadamente, é mais difícil de ser melhorado, já que depende muito da cinética e do equilíbrio de contaminantes. O fato de o valor ótimo de FP estar alguns centésimos acima da unidade não indica boa purificação.

O alto valor do rendimento é proporcionado pela alta vazão F_2 , que retira mais CefC, por unidade de tempo, do segundo estágio.

A produtividade, no entanto, é otimizada com F_1 , F_2 e F_r altos. A primeira vazão aumenta FC, fracamente, sendo que a segunda e a terceira retiram mais CefC do sistema pelo segundo estágio (maior η e σ). Esses fatos se somam e contribuem para a maior produtividade.

Para complementar os resultados da Tabela 5.13 é necessário analisar quais os valores dos demais parâmetros de desempenho quando um deles já está otimizado. Isso ajuda a verificar se o processo de otimização causa grandes detrimientos nas demais variáveis de saída. Tais resultados são exibidos na Tabela 5.14.

Tabela 5.14 – Resultados complementares acerca da otimização

	FC (-)	FP (-)	η (%)	σ (g/L.h)
FC_{\max}	2,07	0,76	0,52	$3,95 \cdot 10^{-4}$
FP_{\max}	$2,30 \cdot 10^{-3}$	1,06	91,16	$1,74 \cdot 10^{-4}$
η_{\max}	$2,49 \cdot 10^{-3}$	1,00	99,73	$1,90 \cdot 10^{-4}$
σ_{\max}	0,18	0,80	18,00	$1,38 \cdot 10^{-2}$

Nota-se que, em geral, a otimização de um dado parâmetro de desempenho não é acompanhada por um bom resultado nos demais. Além disso, observa-se que o fator de concentração é o mais prejudicado quando os outros são otimizados. Esses números revelam que o processo contínuo aplicado à CefC é capaz de fornecer um bom fator de concentração e um ótimo rendimento, mas não simultaneamente.

6. CONCLUSÃO

- Após a realização do presente estudo conclui-se que a resina StreamLine QX-L adsorve a cefamicina C na faixa de 0,2 a 0,3 mg/g. Valores mais altos podem ser alcançados aumentando a concentração inicial do antibiótico em pH 4,7. Tanto para o processo de adsorção quanto de eluição notou-se que os ensaios realizados a 30°C e pH 6,8, na faixa de concentração estudada, apresentaram os melhores resultados.
- A eluição realizada com NaCl 1g/100mL retirou parcialmente o antibiótico, pois a proporção desorvida esteve na faixa de 35 a 70%. Quanto aos ensaios pertinentes aos contaminantes notou-se que o pH 6,8 é favorável para a adsorção destes, mas os mesmos tem maior tendência em se desorver no tratamento com NaCl em relação a CefC.
- O fator de purificação foi pouco sensível à variação de temperatura e pH dentro das faixas estudadas e aponta que o antibiótico tende a ficar na resina na etapa de eluição. Os modelos cinéticos e de equilíbrio propostos concordaram de maneira satisfatória com as informações experimentalmente obtidas, pois não houve a necessidade de incluir termos de transportes de massa, diferentemente das resinas porosas Amberlite IRA-400 e Amberlite XAD-2.
- Com relação às simulações do processo contínuo aplicado à CefC, foi verificado que a vazão F_1 , em geral, teve menos influência nos parâmetros comparativamente com as demais vazões. No caso de F_2 , notou-se que seu aumento ocasionou maior retirada de CefC no segundo estágio, proporcionando aumento de η e σ , acompanhado da redução de FC. A análise acerca dos resultados da vazão de reciclo (F_r) permitiu concluir que tal teve forte influência positiva em todos os parâmetros.
- A metodologia “Programação Seqüencial Quadrática”, empregada para a otimização do processo contínuo, apresentou-se adequada visto que tem-se um problema restrito e limitado. O fator de purificação ótimo, próximo a unidade, revelou que a CefC e os contaminantes são liberados em igual proporção na saída do segundo estágio. Além disso, os cálculos mostraram que é possível concentrar o antibiótico em 2 vezes e gerá-lo com alto valor de rendimento, mas esses fatos ocorrem separadamente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDO-YOBO, F. Y. A. A.; SLATER, N. K. H.; KENNEY, C. N. Measurement of heats of adsorption of amino acids on Amberlite XAD-2 by HPLC technique. **Chemical Engineering Journal**, v. 39, p. B9-B16, 1988.
- ALMEIDA, R. M. R. G. Estudo da purificação do ácido clavulânico utilizando processo contínuo de adsorção. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de São Carlos, 2003.
- BAGGALEY, K. H.; BROWN, A. G.; SCHOFIELD, C. J. Chemistry and biosynthesis of clavulanic acid and another clavans. **Natural Product Report**, v. 14, nº 4, p. 309-333, 1997.
- BARBOZA, M.; HOKKA, C. O.; MAUGERI FILHO, F. Continuous cephalosporin C purification: dynamic modelling and parameter validation. **Bioprocess Biosyst Eng.** DOI: 10.1007/S00449-002-0294-9, 2002a.
- BARBOZA, M.; ALMEIDA, R. M. R. G.; HOKKA, C. O. Kinetic studies of clavulanic acid recovery by ion-exchange chromatography. **Bioseparation**, v. 10, p. 221-227, 2002b.
- BARBOZA, M.; ALMEIDA, R. M. R. G.; HOKKA, C. O. Influence of temperature on the kinetics of adsorption and desorption of clavulanic acid by ionic exchange. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, p. 19-26, 2003.
- BATISTA NETO, A.; OLIVEIRA, J. H. H. L.; BADINO, A. C.; BARBOZA, M.; BELÃO, C.; HOKKA, C. O.; OLIVEIRA, L. M. Determination of cephamycin C by high performance liquid chromatography. In: **Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas COLACRO XII-2008**, 2008.
- BROWN, H. D., GILES, M. A., CRAMER, B. H., NOBLE, B. H., NISBET, B. E., WEARE, T. G. **U.S. Pat.** 4.378.920, 1983.
- CHARCOSSET, C.; Membrane process in biotechnology: An overview. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 482-492, 2006.
- CHASE, H. A., Affinity separations utilizing immobilized monoclonal antibodies – a new tool for the biochemical engineer. **Chem. Eng. Science**, v. 39, p. 1099-1125, 1984.
- DUTTA, M.; BARUAH, R.; DUTTA, N. N.; GHOSH, A. C.; The adsorption of certain semi-synthetic cephalosporins on activated carbon. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 127, p. 25-37, 1997.
- ELANDER, R. P. Industrial production of beta-lactam antibiotics. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 61, p. 385-392, 2003.
- GARCÍA-GLEZ, J. C.; MÉNDEZ, R.; MARTÍN-VILLACORTA, J. Quantitative determination of semisynthetic cephamycins in human serum and urine by ion-exchange, reversed-phase and ion-pair chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 812, p. 197-204, 1998.
- HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de separação por membranas**. E-papers, Rio de Janeiro, 2006.

KAMOGASHIRA, T.; NISHIDA, T.; SUGAWARA, M.; NIHNO, T.; TAKEGATA, S.; Process for the production of antibiotic Cephameycin C, **USpto** 4.332.891, 1982.

KOTZ, J. C.; TREICHEL JR, P. **Química e reações químicas**. LTC, 4ª ed, Rio de Janeiro, 2002.

LIRAS, P. Biosynthesis and molecular genetics of cephamycin. **Antonie van Leeuwenhoek**, 75, p. 109-124, 1999.

MAHAN, B. M.; MYERS, R. J. **Química: um curso universitário**. Edgard Blücher, 4ª ed, São Paulo, 1995.

MISHRA, P.; SRIVASTAVA, P.; MISHRA, P. K.; KUNDU, S. Recovery of cephalosporin C from aqueous solution using polymeric adsorbent. **Indian Journal of Chemical Technology**, v. 14, p. 592-596, 2007.

PINES, M. H. **U.S. Pat.** 3.983.108, 1976.

PUNGOR, E.; AFEYAN, N. B.; GORDON, N. F.; COONEY, C. L. Continuous affinity recycle extraction: a novel protein separation technique. **Bio Technology**, v. 5, p. 604-608, 1987.

RODRIGUES, M. I. Modelagem, simulação e controle de um processo contínuo de purificação de enzimas. **Tese de doutorado**, Universidade Estadual de Campinas, 1992.

ROLLINS, M. J.; JESEN, S. E.; WOLFE, S.; WESTALKE, D. W. Effect of aeration on antibiotic production by *Streptomyces clavuligerus*. **Journal Industrial Microbiology**, v. 3, p. 357-364, 1998.

SAIKIA, M. D.; DUTTA, N. N. Adsorption affinity of certain biomolecules onto polymeric resins: Interpretation from molecular orbital theory. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, 280, p. 163-168, 2006.

SCHUBERT, P. F. Antibiotic purification process. **U.S. Pat.** 4196285, 1980.

SCOPES, R. K. **Protein purification: principles and practice**. Second Edition, Springer Verlag, 1982.

SHAREEF, K. M.; AHMED, H. O. Thermodynamics of equilibrium adsorption of antibiotics on solid-liquid interface. **Proceedings of the 2nd International Conference on Maritime and Naval Science and Engineering**, p. 129-139, Italy, 2007.

SILVA, C. S.; RODRIGUEZ, G. Y.; HOKKA, C. O.; BARBOZA, M. Study of fouling index in tangential filtration applied for separation of clavulanic acid from fermentation broths. **Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology - Proceedings of II International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld 2007)**, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, p. 765-777, Seville - Spain, 2007.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introdução à termodinâmica da engenharia química**. LTC, 5ª ed, Rio de Janeiro, 2000.

STAPLEY, E. O.; JACKSON, M.; HERNANDEZ, S.; ZIMMERMAN, S. B.; CURRIE, S. A.; MOCHALES, S.; MATA, J. M.; WOODRUFF, H. B.; HENDLIN, D. Cephamycins, a new family of beta-lactam antibiotics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, p. 122-131, 1972.

TABOADA, O. W. M. Purificação de lipase de *Geotrichum sp.* por resina cromatográfica de interação hidrofóbica. Modelagem, simulação e validação de parâmetros. **Tese de doutorado**, Universidade Estadual de Campinas, 1999.