

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE PURIFICAÇÃO DE  
CEFALOSPORINA C EM COLUNA DE LEITO FIXO**

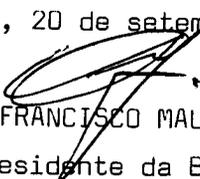
**ROGER RUIZ PAREDES  
Engenheiro de Alimentos**

**Prof. Dr. FRANCISCO MAUGERI FILHO  
Orientador**

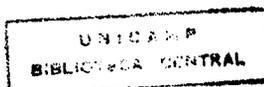
**Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da  
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em  
Engenharia de Alimentos**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por ROGER RUIZ PAREDES e aprovada pela Comissão Julgadora em 20.09.96 Campinas, 20 de setembro de 1996

  
Prof. Dr. FRANCISCO MAUGERI FILHO  
Presidente da Banca

**Campinas  
11/09/96**



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	Hunicamp
	R859m
V. Ex.	
TOMBO BC/	28899
PROC.	667/96
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	30/10/96
N.º CPD	

CM-00094527-5

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

R859m

Ruiz Paredes, Roger

Modelagem e simulação de purificação de cefalosporina C em  
coluna de leito fixo / Roger Ruiz Paredes, SP: [s.n.], 1996.

Orientador: Francisco Maugeri Filho  
Dissertação (mestrado)-Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Cefalosporina C. 2.Purificação. 3.\*Modelagem. 4.\*Troca  
iônica. I.Maugeri Filho, Francisco. II.Universidade Estadual de  
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

## Banca Examinadora



---

Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho  
ORIENTADOR  
(FEA-DEA-UNICAMP)



---

Prof. Dra. Sônia Maria Alves Bueno  
MEMBRO  
(FEQ-UNICAMP)



---

Prof. Dr. Silvio Roberto Andrietta  
MEMBRO  
(CPQBA)

---

Prof. Dr. Enrique Ortega Rodriguez  
MEMBRO  
(FEA-DEA-UNICAMP)

Campinas, 20 de setembro de 1996

*Dedico este trabalho ao meu pequeno Benito Jr.  
Que sempre me deu incentivo para chegar até aqui.  
Duvido muito se teria conseguido manter a minha  
saúde mental sem a sua ajuda*

## AGRADECIMENTOS

*Ao prof. Dr. Francisco Maugeri Filho pela orientação, apoio e incentivo durante a realização deste trabalho e pela sua amizade com gratidão.*

*Aos membros da Banca Examinadora, pela atenção, correção e contribuição na realização deste trabalho.*

*À Faculdade de Engenharia de Alimentos-UNICAMP, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.*

*De uma maneira muito especial à profa Dra. Maria Isabel pela valiosa amizade e apoio.*

*Aos meus pais Juan Manuel e Leonor, que nunca mediram esforços para minha formação profissional e aos meus irmãos Anny, Norma, Mario, Juan, Otto, Carmen, Edwin e Marcio pelo apoio e amizade.*

*À todos os amigos do laboratório de Bioengenharia Fífa, Eliana, Vanessa, Bruno, Marco, Lia, Marise, Miriam, Ezequias, José Guilherme, Ana, Belzinha, Maria e Thomaz pelo companheirismo e amizade durante todo o andamento do trabalho.*

*Aos amigos Antonio, Blanca, Oscar, Mari, Aroldo, Jean e Alfredo.*

*Ao meu amigo Marlei Barboza pela valiosa amizade e gentileza que me incentivou desde o início deste trabalho e também, em alguns casos, com opiniões técnicas.*

*Ao Arnaldo e Nivaldo pelo paciência dispersada durante todo o tempo passado no microcentro.*

*À CNP2 pelo auxílio financeiro.*

**ÍNDICE GERAL**

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b>	<b>viii</b>
<b>NOMENCLATURA</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMO</b>	<b>x</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>xi</b>
<b>I - INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>3</b>
<b>2.1 - Antibióticos</b>	<b>3</b>
<b>2.1.1 - Antibióticos <math>\beta</math>-Lactâmicos</b>	<b>3</b>
<b>2.1.1.1 - Penicilinas</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1.2 - Cefalosporinas</b>	<b>5</b>
<b>Biosíntese da cefalosporina C</b>	<b>8</b>
<b>2.2 - Recuperação, Separação e Purificação de Compostos Biológicos</b>	<b>9</b>
<b>2.2.1 - Princípios e classificação</b>	<b>9</b>
<b>2.2.2 - Separação de Produtos Provenientes de Processos Biotecnológicos</b>	<b>11</b>
<b>2.2.3 - Cromatografia como método para a purificação de compostos biológicos</b>	<b>13</b>
<b>2.2.4 - Classificação dos métodos cromatográficos líquidos.</b>	<b>14</b>
<b>2.2.4.1 - Cromatografia de troca iônica</b>	<b>15</b>
<b>2.2.4.2 - Cromatografia por troca iônica clássica</b>	<b>17</b>
<b>2.3 - Extração e Purificação da cefalosporina C</b>	<b>17</b>

2.3.1 - Métodos de extração e purificação de cefalosporina C.	18
2.3.2 - Adsorventes utilizados para a purificação de cefalosporina C	20
2.3.2.1 - Fatores que controlam a performance da resina	24
2.3.2.2 - Propriedades físicas das resinas	25
Tamanho e forma das partículas	25
Entumescimento e porosidade	25
2.3.2.1 - Propriedades químicas das resinas	26
Capacidade de troca	26
Seletividade	26
Matriz	27
Grupos trocadores	27
2.4 - Isotermas de Adsorção	28
2.4.1 - Isoterma de Langmuir	28
2.4.2 - Isoterma de Freundlich	29
2.5 - Análise de adsorção em leito fixo	29
<b>III - MODELAGEM MATEMÁTICA</b>	<b>32</b>
3.1 - Modelo Cinético	33
3.2 - Descrição do problema	35
3.3 - Mecanismo de transferência de massa externa	39
3.5 - Resistência à transferência de massa interna	44
<b>IV - RESULTADOS</b>	<b>49</b>
4.1 - Estudo do fator de sensibilidade	84
4.1.1 - Cálculo da eficiência da coluna	84

<b>4.1.2 - Fator de sensibilidade dos parâmetros</b>	<b>84</b>
<b>V - CONCLUSÕES</b>	<b>90</b>
<b>VI - RECOMENDAÇÕES</b>	<b>92</b>
<b>VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>93</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1 - Ácido 6-amino penicilânico. A: grupo amino livre (com radical R); B: anel <math>\beta</math>-lactâmico C: anel tiazoldina.</b>	<b>4</b>
<b>Figura 2.2 - Fórmula estrutural da penicilina N e cefalosporina C.</b>	<b>5</b>
<b>Figura 2.3 - Esquema da estrutura das cefalosporinas.</b>	<b>6</b>
<b>Figura 2.4 - Esquema do processo de troca iônica em um trocador catiônico.</b>	<b>15</b>
<b>Figura 2.5 - Esquema de um trocador catiônico, o sinal (-) representa o grupo trocador, o sinal (+) os cátions que são adsorvidos.</b>	<b>16</b>
<b>Figura 2.6 - Esquema de um trocador aniônico, o sinal (+) representa o grupo trocador ligado à matriz e o sinal (-) os ânions que são adsorvidos.</b>	<b>16</b>
<b>Figura 2.7 - Curvas de efluência na adsorção. (a) no caso de adsorção ser instantânea, (b) no caso de adsorção ocorrer com uma velocidade finita de transferência de massa</b>	<b>31</b>
<b>Figura 3.1 - Esquema de uma coluna de cromatografia</b>	<b>35</b>
<b>Figura 4.1 - Curva de equilíbrio com dados experimentais (●) e ajuste do modelo cinético proposto (-) com coeficiente de correlação: <math>r^2=0,95</math>, para adsorção de cefalosporina C em resina amberlite XAD-2. (BARBOSA, <i>et al.</i> 1996).</b>	<b>50</b>
<b>Figura 4.2 - Curva típica de rompimento para o caso de adsorção em coluna de leito fixo.</b>	<b>51</b>
<b>Figura 4.3 - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação: (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.</b>	<b>53</b>
<b>Figura 4.4 - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, usando os parâmetros da Tabela 4.1: A:(L=0,1), B:(L=0,4), C:(L=0,7), D:(L=1).</b>	<b>55</b>

- Figura 4.5** - Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação no comprimento da coluna (L): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 58
- Figura 4.6** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna com variação de 25% no comprimento da coluna (L): A:(L=0,1), B:(L=0,4), C:(L=0,7), D:(L=1). 59
- Figura 4.7** - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação no diâmetro da coluna ( $\theta$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 60
- Figura 4.8** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% no diâmetro da coluna ( $\theta$ ): A:(L=0,1), B:(L=0,4), C:(L=0,7), D:(L=1). 61
- Figura 4.9** - Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na porosidade do leito ( $\epsilon$ ): (A) - Curva de rompimento do leito (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 62
- Figura 4.10** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna com variação de 25% na porosidade do leito ( $\epsilon$ ): A:(L=0,1), B:(L=0,4), C:(L=0,7), D:(L=1). 63
- Figura 4.11** - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na porosidade da partícula ( $\epsilon_p$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 64
- Figura 4.12** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na porosidade da partícula ( $\epsilon_p$ ): A:(L=0,10), B:(L=0,4), C:(L=0,7), D:(L=1). 65
- Figura 4.13** - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação no diâmetro da partícula ( $d_p$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 66

- Figura 4.14** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% no diâmetro da partícula ( $dp$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 67
- Figura 4.15** - Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na concentração de entrada ( $C_0$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 68
- Figura 4.16** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na concentração de entrada ( $C_0$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 69
- Figura 4.17** - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na constante cinética ( $Q_m$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 70
- Figura 4.18** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na constante cinética ( $Q_m$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 71
- Figura 4.19** - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na constante cinética ( $K_1$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 72
- Figura 4.20** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na constante cinética ( $K_1$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 73
- Figura 4.21** - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na constante cinética ( $K_2$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 74
- Figura 4.22** - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na constante cinética ( $K_2$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 75

- Figura 4.23 - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na velocidade superficial (v): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 76**
- Figura 4.24 - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na velocidade superficial (v): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 77**
- Figura 4.25 - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na dispersão axial (E): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 78**
- Figura 4.26 - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na dispersão axial (E): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 79**
- Figura 4.27 - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação no coeficiente global de transferência de massa (Ks): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 80**
- Figura 4.28 - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% no coeficiente global de transferência de massa (Ks): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 81**
- Figura 4.29 - Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na difusividade efetiva ( $D_{ef}$ ): (A) - Curva de rompimento da coluna (B) - Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo. 82**
- Figura 4.30 - Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na difusividade efetiva ( $D_{ef}$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1). 83**

**ÍNDICE DE TABELAS**

<b>Tabela 2.1 - Estrutura de alguns importantes antibióticos cefalosporânicos</b>	<b>7</b>
<b>Tabela 2.2 - Alguns métodos em cascata comuns para a purificação</b>	<b>9</b>
<b>Tabela 2.3 - Técnicas de separação comumente usadas para recuperação e/ou purificação</b>	<b>10</b>
<b>Tabela 2.4 - Processamento de produtos farmacêuticos típicos.</b>	<b>12</b>
<b>Tabela 2.5 - Alguns trocadores de cátions e ânions</b>	<b>28</b>
<b>Tabela 4.1 - Valores dos parâmetros utilizados na simulação do modelo proposto</b>	<b>52</b>
<b>Tabela 4.2 - Valores dos parâmetros que foram alterados 25% acima dos valores dos parâmetros de referência.</b>	<b>57</b>
<b>Tabela 4.3 - Valores da eficiência (<math>\phi</math>) e sensibilidade (S) para os parâmetros alterados, comparados com o modelo padrão (<math>\phi=61</math> e <math>t=2,5</math> h)</b>	<b>85</b>
<b>Tabela 4.4 - Efeito da porosidade da partícula, resina XAD-16</b>	<b>86</b>
<b>Tabela 4.5 - Efeito do tamanho da coluna na eficiência</b>	<b>87</b>
<b>Tabela 4.6 - Efeito do tamanho das partículas com fase-reversa tipo XAD-16</b>	<b>88</b>
<b>Tabela 4.7 - Efeito da velocidade superficial numa coluna Amberchrom CG-161</b>	<b>88</b>

## NOMENCLATURA

C	=	Concentração de cefalosporina C em solução, (mol/m <sup>3</sup> )
C <sub>0</sub>	=	Concentração inicial de cefalosporina C em solução, (mol/m <sup>3</sup> )
C <sub>s</sub>	=	Concentração na superfície, (mol/m <sup>3</sup> )
C <sub>m</sub>	=	Concentração no meio, (mol/m <sup>3</sup> )
D <sub>m</sub>	=	Difusividade molecular da cefalosporina C em solução, (m <sup>2</sup> /h)
D <sub>ef</sub>	=	Difusividade efetiva da cefalosporina C no interior da resina, (m <sup>2</sup> /h)
dp	=	Diâmetro da partícula, (m)
E	=	Coefficiente de dispersão axial, (m <sup>2</sup> /h)
j	=	Fluxo de massa por unidade de área de partícula, (mol/m <sup>2</sup> ·h)
K <sub>s</sub>	=	Coefficiente global de transferência de massa, (m <sup>2</sup> /h)
k <sub>1</sub>	=	Constante cinética de adsorção, (m <sup>3</sup> /mol.h)
k <sub>2</sub>	=	Constante cinética de adsorção, (1/h)
L	=	Comprimento da coluna, (m)
N <sub>Re</sub>	=	Número de Reynolds, (-)
N <sub>Sc</sub>	=	Número de Schmidt, (-)
N <sub>Sh</sub>	=	Número de Sherwood, (-)
Q	=	Concentração de cefalosporina C adsorvida na resina, (mol/m <sup>3</sup> )
Q <sub>m</sub>	=	Quantidade máxima de cefalosporina C que pode ser adsorvida na resina, (mol/m <sup>3</sup> )
R <sub>c</sub>	=	Taxa de adsorção de cefalosporina na resina, (mol/m <sup>3</sup> )
S	=	Fator de sensibilidade,
t	=	Tempo, (h)
v	=	Velocidade superficial, (m/h)
V <sub>z</sub>	=	Vazão volumétrica, (m <sup>3</sup> /h)
Z	=	Distância, (m)
L	=	Comprimento adimensional,
r	=	Raio adimensional,
1/n	=	Coefficiente estequiométrico

### Termos gregos:

ε	=	Porosidade do leito,
ε <sub>p</sub>	=	Porosidade da resina,
φ	=	Eficiência da coluna
θ	=	Diâmetro da coluna, (m)

## RESUMO

No processo total de obtenção de cefalosporin C, a purificação ocupa a segunda etapa, sendo a primeira fase a produção em meio de cultura pelo fungo *Cephalosporium acremonium*. O processo de purificação é efetuado em colunas de troca iônica. Neste trabalho foi proposto um modelo matemático para descrever o comportamento do processo de adsorção, obtido a partir de balanços de massa e equações cinéticas de adsorção por troca iônica, determinadas previamente em resina XAD-2, levando em consideração a resistência à transferência de massa externa e interna assim como a dispersão axial.

As equações analíticas descritivas do processo foram transformadas em algoritmos numéricos aplicando os métodos numéricos de Crank-Nicholson para as equações diferenciais parciais e Runge-Kutta de 4ª ordem para as equações diferenciais ordinárias.

O programa foi desenvolvido em linguagem Turbo-Pascal, para calcular a distribuição de concentração de cefalosporin na coluna, fase líquida e fase sólida, com o tempo, usando as equações numéricas.

Verificou-se as influências dos parâmetros cinéticos e operacionais na eficiência da coluna, através de um estudo paramétrico, onde observou-se que a porosidade do leito, concentração da cefalosporin e diâmetro da coluna são os parâmetros de maior sensibilidade. Por outro lado, parâmetros como  $Q_m$  (capacidade máxima de adsorção),  $K_1$  e  $K_2$  (constantes cinéticas de adsorção) devem ser otimizados previamente, através da escolha do adsorvente e condições de adsorção adequadas.

Verificou-se que o comprimento da coluna e a velocidade superficial, quando incrementados, melhoram a eficiência da coluna. Foi verificado que a dispersão axial, é desprezível e que o aumento tanto da difusividade efetiva como do coeficiente de transferência de massa, melhoram a eficiência do processo. Demonstrou-se igualmente que a coluna de adsorção de leito fixo apresenta considerável estabilidade, tendo em conta que nenhum parâmetro afeta significativamente a operação da coluna. Em outros termos, pode-se dizer que a eficiência do processo é relativamente pouco afetada dentro da amplitude de alteração efetuada dos parâmetros.

Com relação aos problemas de limitações do processo de adsorção dentro da coluna, observou-se que este é limitado pela transferência de massa interna, ou seja a difusão é a etapa limitante do processo.

Finalmente a resina XAD-2 utilizada neste estudo apresenta uma baixa eficiência, sendo uma desvantagem de sua utilização na adsorção da cefalosporin C.

## SUMMARY

In the “cephalosporin C” production process, the purification is the second step, after the antibiotic been produced by *Cephalosporium acremonium* in submerged cultures. The purification is carried on in ionic exchange columns. In this work a mathematical model to describe the adsorption process is suggested. The model was obtained from a mass balance and kinetic equations for ionic exchange adsorption, previously determined in XAD-2 resin. Resistance to the internal and external mass transfer and axial dispersion were also considered in the model.

The analytic equations to describe the process were transformed to numeric algorithms using Crank-Nicholson method for the partial differential equations and the 4<sup>th</sup> order Runge - Kutta method for ordinary differential equations. The computer program was developed using Turbo Pascal language to calculate the distribution of cephalosporin in the column as a time function, both in the liquid phase and in the solid phase.

The influence of kinetics and operation parameters in the column efficiency was verified by means of a parametric study. It was observed that the main parameters were the bed porosity, the cephalosporin concentration, and the column diameter. On the other hand, some parameters as  $Q_m$  (maximum capacity of adsorption),  $K_1$  and  $K_2$  (kinetics constants of adsorption) must be previously optimized in terms of adsorbent selection and appropriated adsorption conditions.

It was also verified that the increase in the column length and the superficial velocity intrances the column efficiency. It was demonstrated that the fixed bed adsorption column is stable considering that there is no critical parameter for the column operation. It was verified that the axial dispersion is not significant, and the increase both in the effective diffusivity and in the mass transfer coefficient gives a better process efficiency.

It was observed that the adsorption process limitation in the column is caused by internal mass transfer, that is the diffusion is the process critical step.

Finally, the XAD-2 resin used in this work show low efficiency. Which is a disadvantage in the cephalosporin C adsorption process.

## I - INTRODUÇÃO

Uma série de antibióticos obtidos por fermentação de *Cephalosporium acremonium* e organismos afins tem apresentado interesse considerável pelos pesquisadores. Estes antibióticos são quimicamente relacionados com a penicilina, porém seu espectro antibacteriano é distinto e, além disso são resistentes à penicilinase. Quando formulados com sais de amônio quaternário, adquirem uma vantagem adicional que é a ação contra *Salmonella typhosa*. Nos últimos anos, tem sido demonstrado que a estrutura básica pode ser isolada, do mesmo modo que o 6 APA, na qual podem ser substituídos grupos funcionais para produzir novas famílias de cefalosporinas modificadas que possam se converter em produtos importantes.

A importância desse antibiótico está associada a alguns fatores tais como: forma de ação, visto que é designado para atuar em bactérias gram positivas e gram negativas, resistência a baixos valores de pH e não é degradado pela enzima penicilinase, produzidas por bactérias. Esses fatores o diferenciam de um outro importante antibiótico  $\beta$  lactâmico de uso clínico, a penicilina, e caracterizam sua importância no mercado de antibióticos.

A extração da cefalosporina C produzida por mutantes do fungo *Cephalosporium acremonium* pode ser feita por cromatografia ou processos químicos. Para a purificação de cefalosporina C, uma das técnicas mais utilizadas é a de adsorção cromatográfica.

Uma das grandes limitações de técnicas normalmente propostas está associada às limitações para aplicação em escala industrial, tais como operacionalidade do sistema e sua ampliação de escala. Normalmente os volumes envolvidos na produção são imensos e a capacidade de adsorção é relativamente baixa. Assim, a escolha de um sistema de separação no projeto de um processo viável e o adsorvente a ser utilizado são determinantes para a eficiência e implantação de um processo.

As técnicas de adsorção são utilizadas industrialmente com objetivo de concentrar componentes específicos que se encontram em solução. Nesta técnica o produto de interesse fica retido em um adsorvente sólido específico. A cromatografia, amplamente utilizada em processos industriais, tem como princípio básico reações de adsorção-desorção cromatográfica.

Segundo SPALDING (1991) os equipamentos para os processos de separação e purificação movimentam mundialmente um mercado anual de 1 bilhão de dólares aproximadamente, sendo que estas etapas (Separação e Purificação) podem representar até 90% do custo final de um produto obtido na fermentação. As vendas desses equipamentos aumentaram em 20% na última década e devem continuar a crescer 20 a 25% por ano. Para 1995 estima-se que o mercado deve atingir 2,5 bilhões de dólares. Por outro lado, espera-se que o mercado de bioprodutos no ano 2000 estará em torno de 40-100 bilhões de dólares, HARRIRY(1989).

Os benefícios da Engenharia Genética, os progressos na tecnologia dos processos, a automação e controle e desenvolvimento de sistemas especialistas são ferramentas que permitem a otimização e estabilidade do rendimento e da produtividade de um processo, com vistas à viabilização de um produto no mercado. Atualmente, a preocupação com a escolha do método mais conveniente (economicamente e tecnologicamente) para a separação e purificação dos bioprodutos despertaram nos pesquisadores o interesse na etapa pós-fermentação. Entretanto, o estudo do controle das etapas de separação e purificação com potencial em escala industrial ainda é uma área a ser explorada com poucos trabalhos publicados.

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um aplicativo computacional que possa prever o funcionamento de uma coluna de leito fixo para a purificação de cefalosporina C, usando a resina XAD-2. Para tanto a coluna será modelizada levando em consideração a resistência externa e interna à transferência de massa, assim como a dispersão axial. Além disso, um estudo paramétrico será efetuado tomando como base o efeito de variação de parâmetros cinéticos e operacionais na eficiência da coluna.

## II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 - Antibióticos

CRUEGER & CRUEGER (1984) descrevem os antibióticos como sendo produtos provenientes do metabolismo secundário de certos microrganismos que têm como característica inibir o crescimento de outros microrganismos. A utilização destes compostos quimioterápicos está associada a sua ação antibacteriana em infecções em seres humanos e animais, como pesticidas e fungicidas em setores agropecuários. Sua classificação é feita segundo seu espectro de ação antimicrobiana, cepa produtora, principais mecanismos de atividade, rota biossintética e estrutura molecular (CRUEGER & CRUEGER, 1984). Os antibióticos têm sua forma de ação em microrganismos em nível molecular como inibidor da síntese protéica ou interferindo no metabolismo dos ácidos nucleicos e em nível de parede celular lesando a membrana citoplasmática.

Fungos e bactérias são os microrganismos sintetizadores dos antibióticos conhecidos. De 10 antibióticos de importância comercial produzidos por fungos, somente as penicilinas, a cefalosporina C, a griseofulvina e o ácido fusídico são clinicamente importantes.

Ainda segundo CRUEGER & CRUEGER (1984), a produção mundial de antibióticos ultrapassa 100.000 toneladas por ano sendo que em 1980 as vendas atingiram 4,2 bilhões de dólares. Somente nos Estados Unidos foram comercializados cerca de 1 bilhão de dólares com as cefalosporinas, penicilinas e tetraciclina, que predominaram no mercado.

#### 2.1.1 - Antibióticos $\beta$ -Lactâmicos

Penicilinas, cefalosporinas e cefamicinas são antibióticos peptídicos com estrutura única sendo muito utilizados no combate de doenças (CRUEGER & CRUEGER, 1984). A seguir são apresentadas algumas características desta classe de antibióticos clínicos, que fornecem indicações para a escolha do processo de produção e principalmente de purificação.

### 2.1.1.1 - Penicilinas

A penicilina é o antibiótico mais amplamente utilizado sendo produzida por um mutante do fungo *Penicillium chrysogenum*. O termo penicilina é genérico para todo grupo de penicilinas naturais e semi-sintéticas. A estrutura básica consiste em um anel de tiazoldina, ligado a um anel  $\beta$ -lactâmico que possui um grupo livre (Figura 2.1), ao qual denominou-se ácido 6 - amino penicilânico (6-APA).

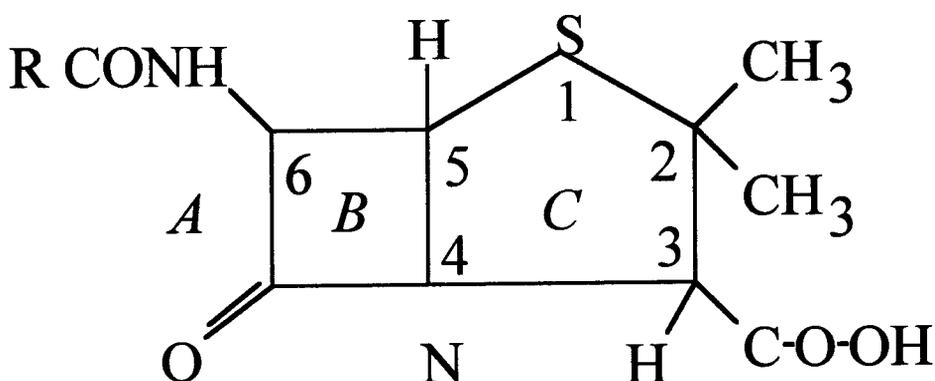


Figura 2.1 - Ácido 6-amino penicilânico. A: grupo amino livre (com radical R); B:anel  $\beta$ -lactâmico; C: anel tiazoldina.

Das penicilinas naturais, a benzil-penicilina ou penicilina G é a clinicamente mais útil, apresentando baixa toxicidade e ação contra bactérias gram-positivas e alguns cocos gram negativos (*Neisseria meningitidis* e *Neisseria gonorrhoeae*). Devido a sua baixa estabilidade em meio ácido, a benzil penicilina é destruída pelo suco gástrico, podendo ser utilizada em pacientes somente por via intramuscular. Outros problemas associados ao uso da penicilina G é o fato de ter seu anel  $\beta$ -lactâmico rompido pela penicilinase produzida por alguns tipos de bactérias e em alguns casos provoca reações de hipersensibilidade que varia de erupções cutâneas a anafilaxia imediata.

Todavia sua importância está no fato de ser matéria prima para produção de antibióticos semi-sintéticos através da mudança no radical que está ligado ao grupo amino do 6-APA conforme mostrado pela Figura 2.1 (PELCZAR *et al.*(1980),TOMAS ,1979).

### 2.1.1.2-Cefalosporinas

A cefalosporina C foi descoberta em 1955 durante estudos de purificação de um antibiótico hidrofílico, chamado cefalosporina N que é produzida em pequenas proporções por um fungo de espécie *Cephalosporium*. A cefalosporina N, por apresentar uma estrutura bastante parecida com a penicilina foi renomeada como penicilina N. A Figura 2.2 apresenta a estrutura das duas espécies que podem ser encontradas no meio de cultura.

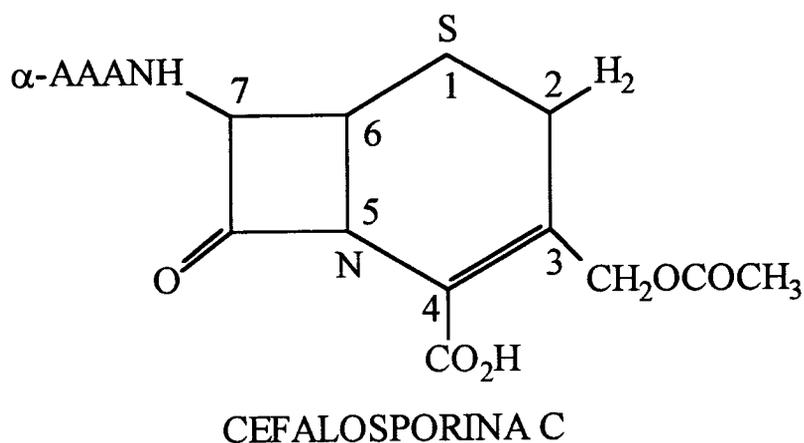
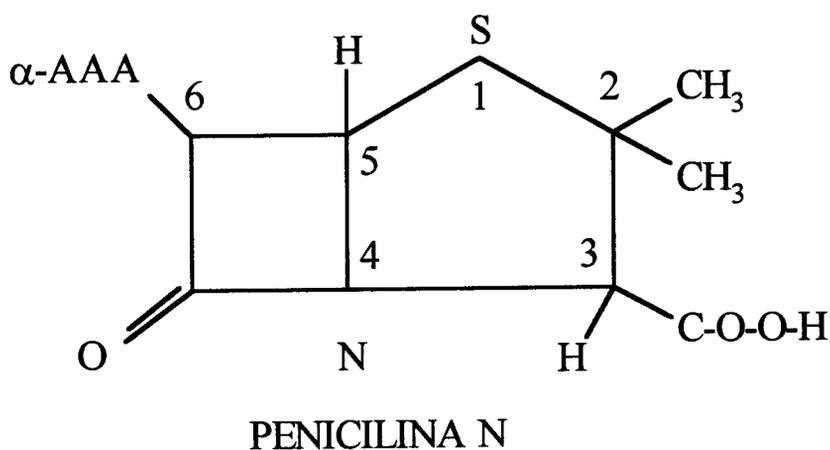


Figura 2.2 - Fórmula estrutural da penicilina N e cefalosporina C.

A Figura 2.3 apresenta a fórmula estrutural das cefalosporinas com um anel  $\beta$ -lactâmico ligado a um anel de dihidrotiozina de seis carbonos no lugar do anel de tiazoldina de cinco carbonos característicos das penicilinas.

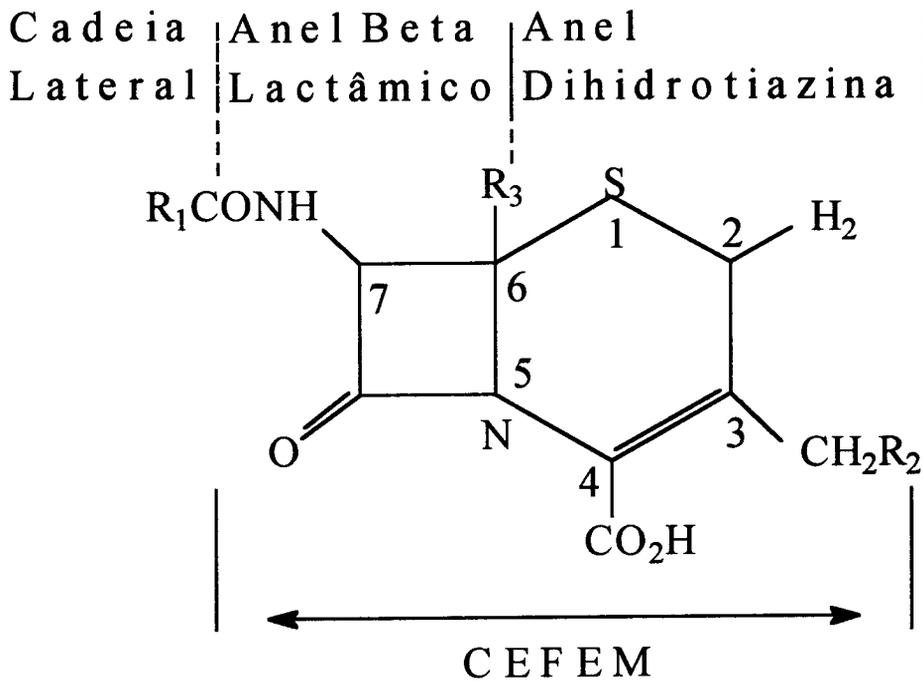
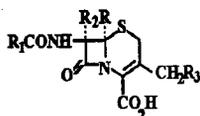


Figura 2.3 - Esquema da estrutura das cefalosporinas.

As cefalosporinas são antibióticos amplamente utilizados. São ativos contra muitos microrganismos suscetíveis às penicilinas. As cefalosporinas de primeira geração são bactericidas eficientes contra muitos cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos que apresentam certa importância clínica. As cefalosporinas mais resistentes são as de segunda e terceira geração, não sendo atacadas pelas cefalosporinases produzidas por alguns microrganismos gram-negativos.

Uma das principais características das cefalosporinas é o fato de serem bem menos tóxicas que as penicilinas, visto que 95% dos pacientes alérgicos a penicilina não apresentam sintomas com relação à cefalosporina. A Tabela 2.1 apresenta uma série de estruturas de importantes antibióticos cefalosporânicos (SMITH, 1985).

Tabela 2.1-Estrutura de alguns importantes antibióticos cefalosporânicos



Name	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Name	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
Cephalothin		H	OCOCH <sub>3</sub>	Cefotiam		H	
Cephaloridine		H		Ceftazidime		H	
Cefazolin		H		Moxalactam		OCH <sub>3</sub>	
Cefoxitin		OCH <sub>3</sub>	CONH <sub>2</sub>	(Oxygen in cephemring)			
Cefamandole		H		Cephalexin		H	H
Cefuroxime		H	CONH <sub>2</sub>	Cefaclor		H	Cl
Cefotaxime		H	OCOCH <sub>3</sub>	Cephadrine		H	H
Ceftizoxime		H	H	Cefrozadine		H	O-CH <sub>3</sub>

The last four listed compounds are oral cephalosporins whilst the others are parenteral

Fonte : SMITH, A. "Cephalosporins", Comprehensive Biotechnology, 1985.

Outra característica das cefalosporinas é o fato de resistirem a baixos valores de pH, o que permite sua utilização por via oral. Em 1980 estimava-se que no mercado mundial de antibióticos as cefalosporinas representavam cerca de 29% do total comercializado que equivaleria a aproximadamente 1750 milhões de dólares, (SMITH,1985).

Conforme pode-se observar, os antibióticos produzidos por fungos cuja aplicação clínica tem grande importância, dos quais destacam-se as penicilinas e cefalosporinas, apresentam-se muitas vezes como matérias-primas que são utilizadas na elaboração de seus derivados. Assim sendo, o conhecimento do processo de produção de penicilina G e da cefalosporina C é de suma importância como estratégia de domínio e independência no mercado mundial de antibióticos. De acordo com o apresentado, a cefalosporina C tende a ocupar um lugar de destaque no que se refere ao processo global de obtenção deste composto, visto que é matéria prima primordial utilizada na elaboração de antibióticos de amplo espectro antimicrobiano.

## Biosíntese da cefalosporina C

ARNSTEIN *et al.* (1950) demonstraram que os núcleos da penicilina são formados pelos aminoácidos cisteína e valina. Estes pesquisadores também isolaram enxofre contido nos peptídeos do micélio de *Penicillium chrysogenum*, em particular um tripeptídeo linear contendo ácido  $\alpha$ -aminoadípico, cisteína e valina. Diversas evidências atribuem ao tripeptídeo, como sendo precursor na biosíntese da penicilina. O efeito da inibição da lisina pode ser entendido por uma regulação da retroalimentação da sua própria síntese. A verificação de que a penicilina N de *Cephalosporium acremonium*, contém uma cadeia lateral de  $\alpha$ -aminoadipyl e finalmente o isolamento por FLYN *et al.* (1962) da isopenicilina N do *Penicillium chrysogenum*, fornecem evidências que o tripeptídeo é um intermediário importante. Com o esclarecimento da estrutura da cefalosporina C por ABRAHAM *et al.* (1961), ficou definido que a penicilina e a cefalosporina têm muito em comum.

KOHSAKE *et al.* (1976) demonstraram a síntese de uma cefalosporina C a partir da penicilina N por um anel da expansão da enzima usando um extrato de células livres de *Cephalosporium acremonium*. É uma oxigenação que requer íons de ferro (II) e ascorbato para sua atividade. O produto da reação é desacetoxicefalosporina C, a qual em consequência, fica sendo como a primeira cefalosporina verdadeiramente sintetizada. Estudos complementares falam que a desacetoxicefalosporina C foi um precursor nas fermentações onde o produto principal é a cefalosporina C. HIGGINS *et al.* (1974) identificaram desacetoxicefalosporina C (DAOC) como um produto tanto de fungos como estreptomicetes. QUEENER *et al.* (1974) mostraram que um mutante, bloqueado na biosíntese da cefalosporina C, produz (DAOC).

FUJISAWA *et al.* (1975) obtiveram de um mutante cefalosporina C negativo, o qual acumulou desacetilcefalosporina C (DAC), que quando foi introduzido uma segunda mutação o resultado foi a acumulação de (DAOC). Isto é a primeira evidência que sugere que a biosíntese da cefalosporina envolve a conversão de (DAOC) primeiro a (DAC) e finalmente a cefalosporina C. A presença de (DAC) em culturas de *Cephalosporium acremonium* pode ser o resultado de um bloqueio parcial na última etapa na biosíntese da cefalosporina C.

A produção de cefalosporina C representa o ponto final da biosíntese em *Cephalosporium acremonium* na produção de  $\beta$ -lactamas em streptomicetos.

## 2.2 - Recuperação, Separação e Purificação de Compostos Biológicos

### 2.2.1 - Princípios e classificação

Segundo SMITH *et al.* (1970), os métodos mais eficazes que foram desenvolvidos para a purificação de compostos biológicos podem ser considerados como operações em cascata, cuja característica fundamental consiste na passagem de uma mistura de substância através de um arranjo sequencial de etapas de purificação. A medida que a mistura passa por uma etapa, obtém-se um certo grau de separação dos componentes da mistura, e com a passagem contínua da mistura através de centenas ou milhares de etapas, seus componentes são separados, conseguindo-se um alto grau de purificação.

A Tabela 2.2 fornece uma lista de alguns métodos em cascata comuns para a purificação.

Tabela 2.2-Alguns métodos em cascata comuns para a purificação.

Métodos	Força Impulsora F1	Força Retardante F2	A Separação Depende De
Cromatografia: adsorção	Hidrodinâmica	Adsorção de energia de superfície	Solubilidade dos solutos em fases não miscíveis
Partição (líq-líq)	Hidrodinâmica	Partição	Solubilidade dos solutos em fases não - miscíveis
Partição (gás-líq)	Mecânica	Partição	Solubilidade de substancias gasosas em fase líquida
Troca iônica	Hidrodinâmica	Eletrostática	Natureza iônica do trocador e dos solutos
Filtração em gel	Hidrodinâmica	Partição	Partição determinada pelo tamanho e pela forma das moléculas de soluto
Afinidade	Hidrodinâmica	Interações covalentes	Interação específica do soluto com adsorvente
Eletroforeses: em solução livre	Eletrostática	Fricção molecular	Propriedades iônicas
em meios aquosos	Eletrostática	Fricção molecular	Propriedades iônicas
em detergentes aquosos	Eletrostática	Fricção molecular	Peso molecular

Fonte :C.J.O.R.Morris e P.Morris, Separation Methods in Biochemistry, 1976.

BAILEY & OLLIS (1986) afirmaram que o desafio dos próximos anos seria não só saber selecionar as melhores combinações de substrato, enzima ou microrganismo e processo de fermentação, mas também o melhor processo de recuperação de um dado produto.

Na área de biotecnologia os processos de separação, recuperação e purificação de produto ("downstream processing") são muitas vezes referidos como sendo a "outra metade" do processo, sendo que a primeira metade logicamente é a etapa de fermentação. Esta divisão do processo em duas metades pode provocar enganos, isto porque, a área de separação de uma planta de biotecnologia pode ser muito cara, dependendo do produto e sua finalidade, BJURSTROM (1995).

### Processos de purificação

As técnicas de separação dependem das características iniciais do caldo de fermentação tais como viscosidade, concentração do produto, impurezas. Todo produto obtido por fermentação requer uma etapa de recuperação. Alguns produtos biológicos exigem pouca purificação enquanto outros demandam quantidades maiores (BAILEY & OLLIS, 1986). A Tabela 2.3 apresenta técnicas usadas para recuperação, purificação ou ambas, BJURSTROM (1985).

**Tabela 2.3-Técnicas de separação comumente usadas para recuperação e/ou purificação**

Técnicas de separação	Recuperação	Purificação
Ruptura Celular	x	
Centrifugação	x	
Filtração rotativa a vácuo	x	
Ultrafiltração	x	x
Precipitação	x	x
Cromatografia		x

### 2.2.2 - Separação de Produtos Provenientes de Processos Biotecnológicos

BJURSTROM (1985) descreve "downstream processing" como um conjunto de operações unitárias que visam separar produtos provenientes de processos biotecnológicos.

Esta área da biotecnologia apresenta plantas bastante grandes onde, muitas vezes, se faz necessário a ocupação de grandes espaços físicos para a instalação dos equipamentos que por sua vez apresentam altos custos.

Na etapa fermentativa, normalmente, o crescimento do microrganismo, é controlado no intuito de garantir o máximo rendimento do produto desejado, que pode estar presente no caldo de fermentação, excretado pelo microrganismo ou ainda estar no interior de suas células. Assim sendo a localização do produto pode ser caracterizada como extracelular ou intracelular.

Produtos intracelulares: São geralmente macromoléculas retidas no interior do organismo. A transferência de nutrientes para o interior das células é feita por transporte ativo ou passivo. O transporte passivo normalmente é efetuado por difusão simples ou osmose da substância pela membrana citoplasmática semipermeável da célula. Caso a membrana celular não seja permeável a uma certa substância, esta associa-se a outra substância permeável que a conduz para o interior da célula.

Produtos extracelulares: São normalmente proteínas ou outras macromoléculas orgânicas dissolvidas no caldo de fermentação. Esses produtos normalmente estão presentes no meio em porcentagens bastante pequenas. Neste caso uma concentração inicial é necessária para que as futuras etapas de purificação possam ser utilizadas. Um outro problema normalmente associado aos produtos extracelulares é o fato de serem relativamente instáveis. Deste modo o tempo de extração e purificação pode vir a influenciar o rendimento global do processo, exigindo que esta etapa seja bastante sofisticada. BAILEY & OLLIS (1986) apresentam ainda uma sequência de passos que normalmente são efetuados a fim de se obter o produto purificado originado de um bioreator.

**Tabela 2.4 - Processamento de produtos farmacêuticos típicos.**

Etapas	Produto		
	Processo Típico	Concentração (g/l)	Pureza (%)
Produção	Fermentação	0,1-5	0,1-1,0
Remoção dos insolúveis	Filtração	1,0-5	0,2-2,0
Separação Primária	Extração	5-50	1-10
Purificação	Cromatografia	50-200	50-80
Preparação Final	Cristalização	50-200	90-100

Fonte: Belter, P. A. *Bioseparations Downstream Processing for Biotechnology* 1989

A Tabela 2.4 é um exemplo típico para obtenção de produtos farmacêuticos mostrando a concentração e pureza relativa do produto, desde a etapa de fermentação até as etapas de recuperação do produto: remoção de sólidos, separação primária, purificação e cristalização (BELTER *et al.* 1988).

A seqüência típica de operações para se obter um produto altamente purificado é a seguinte:

-Remoção de partículas (insolúveis): filtração, centrifugação e/ou sedimentação.

-Separação primária: extração por solvente, adsorção, precipitação e ultrafiltração são os processos mais conhecidos. Neste caso a concentração do produto aumenta consideravelmente e substâncias com polaridades diferentes podem ser separadas.

-Purificação: técnicas altamente seletivas como precipitação fracionada, cromatografia, eletroforese e adsorção são utilizadas para a remoção de impurezas.

-Separação final do produto: a escolha do processo utilizado nesta etapa, depende muito da forma como o produto será comercializado. Normalmente emprega-se a cristalização, centrifugação e secagem.

Como pode-se observar, o produto final normalmente apresenta um alto valor comercial visto não somente os custos gerais de produção e separação, mas também uma série de conhecimentos envolvidos na sua produção e separação, bem como sua importância de aplicação. Evidentemente essas 4 etapas vão ser usadas de acordo com o tipo de produto, concentração e pureza desejada.

### 2.2.3 - Cromatografia como método para a purificação de compostos biológicos

Cromatografia é o nome dado a uma família particular de técnicas de separação com grande eficácia. O método original foi descrito por TSWEET (1872-1919), que usou-o na separação de substâncias coloridas em plantas, e o nome cromatografia vem das palavras gregas Chroma(cor) e Graphein (escrever).

A cromatografia é uma técnica de separação, quantificação e identificação dos componentes de uma amostra. Neste capítulo será considerada apenas a cromatografia líquida em coluna, já que este tipo de cromatografia será empregada neste trabalho.

Recentemente a União Internacional de Química Pura e Aplicada definiu cromatografia como: "Um método usado principalmente para a separação de componentes de uma amostra, na qual seus componentes estão distribuídos entre duas fases uma estacionária e a outra móvel".

Na cromatografia líquida em coluna, a fase estacionária está contida em um tubo de vidro ou de aço inoxidável, a fase móvel é um líquido que percola através da coluna arrastando os componentes da amostra, depositada no topo da coluna, com velocidades diferentes, ocorrendo assim a separação.

Vários materiais têm sido usados como fase estacionária, de acordo com o tipo de amostra que se deseja separar e assim, pode-se classificar a cromatografia líquida em cinco categorias, e de acordo com a natureza da fase estacionária.

Na cromatografia por troca iônica (CTI), a fase estacionária é, normalmente, uma resina de poliestireno entrecruzada com divinilbenzeno, a qual são ligados grupos iônicos, como por exemplo, o grupo  $-\text{SO}_3^-$  no caso do trocador de cátions, e o grupo  $-\text{NR}_3^+$ , no caso do trocador de ânions.

Atualmente, utiliza-se o termo cromatografia para descrever qualquer método de separação que envolva a percolação de uma mistura de substâncias dissolvidas através de um meio de suporte sólido e poroso, independente das forças que levam à separação da mistura .

#### 2.2.4 - Classificação dos métodos cromatográficos líquidos.

Os métodos cromatográficos podem ser classificados de acordo com a natureza da fase móvel e de acordo com a natureza da fase estacionária. O sistema é chamado cromatografia de adsorção se a fase estacionária é um sólido e cromatografia de partição se é um líquido. Considera-se que a classificação mais importante em cromatografia baseia-se no mecanismo de separação, que pode ser por processos físicos, químicos ou mecânicos.

Na cromatografia por adsorção a fase estacionária é um sólido de alta área superficial (maior que 200 m<sup>2</sup>/g), como por exemplo, Amberlite XAD. Este sólido retém a amostra seletivamente devido à competição entre as moléculas da amostra e as da fase móvel pelos sítios ativos da fase estacionária. Este tipo de cromatografia é empregado para a separação de compostos não iônicos de peso molecular intermediário (200 a 2000) solúveis em solventes orgânicos, como por exemplo, antioxidantes, vitaminas, esteróides, alcalóides, lipídios, etc.

Na cromatografia por partição tem-se uma fase estacionária líquida insolúvel na fase móvel, recobrando partículas de um suporte, geralmente, sílica; o componente mais solúvel na fase móvel será eluído mais rapidamente, enquanto que o mais solúvel na fase estacionária será retido por um tempo maior. A fase estacionária pode ser polar, e neste caso, tem-se a cromatografia com fase normal, utilizada para a separação de pesticidas, esteróides, alcalóides, fenóis, complexos metálicos, etc; quando a fase estacionária é apolar tem-se a cromatografia com fase reversa, empregada para a separação de antibióticos, vitaminas, esteróides, alcalóide, etc.

A cromatografia por exclusão é uma técnica predominantemente usada para a separação de compostos de alto peso molecular (maior que 2000), incluindo polímeros orgânicos (poliolefinas, poliestireno, poliamidas), silicones e biopolímeros (proteínas, ácidos nucleicos, oligossacarídeos e polissacarídeos, etc.) A fase estacionária é constituída de partículas contendo poros de diâmetro definido; compostos que conseguem entrar nestes poros, devido ao tamanho da molécula, ficam retidos por um tempo maior.

A cromatografia por troca iônica será empregada neste trabalho para a separação da espécie hidrofílica do antibiótico cefalosporina C.

### 2.2.4.1 - Cromatografia de troca iônica.

A cromatografia por troca iônica é utilizada na análise de compostos iônicos ou ionizáveis, especialmente em aplicações bioquímicas. Alguns componentes bioquímicos, como aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos que são termicamente instáveis ou não voláteis, não podem ser separados por cromatografia gasosa. No entanto, estes compostos podem ser separados através de cromatografia por troca iônica, escolhendo-se um pH adequado para a fase móvel, onde estes compostos encontram-se na forma ionizada. Outros compostos que podem ser separados por este tipo de cromatografia, incluem ácidos carboxílicos, açúcares, cátions e ânions inorgânicos, etc.

Na cromatografia por troca iônica a fase estacionária possui grupos carregados positivamente ou negativamente, que retêm espécies de carga contrária. Um trocador catiônico possui grupos com carga negativa que retêm seletivamente espécies catiônicas. Um trocador aniônico possui grupos carregados positivamente que retêm espécies com carga negativa. A Figura 2.4 mostra o que ocorre no processo de troca iônica. Neste caso, a fase estacionária tem carga negativa e possui um contra-íon de carga positiva, para preservar a neutralidade elétrica. Ocorre uma competição entre as moléculas da amostra e o contra-íon, também presente na fase móvel, pelos sítios carregados da fase estacionária.

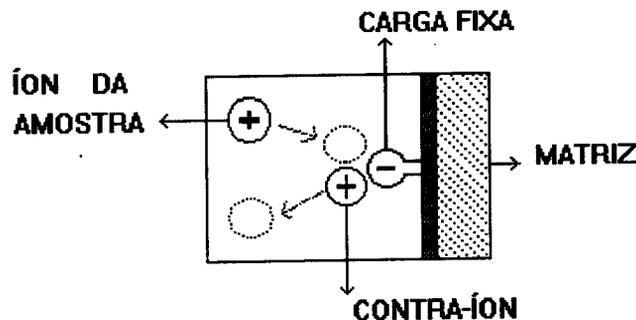
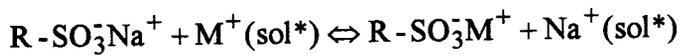


Figura 2.4 - Esquema do processo de troca iônica em um trocador catiônico.

O equilíbrio iônico para trocadores catiônicos e aniônicos pode ser representado da seguinte maneira:

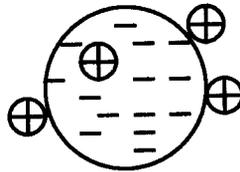
Trocador catiônico:



onde:

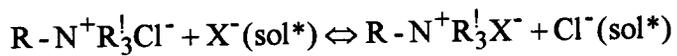
$M^+$  = cátion

R = matriz do trocador



**Figura 2.5** - Esquema de um trocador catiônico, o sinal (-) representa o grupo trocador, o sinal (+) os cátions que são adsorvidos.

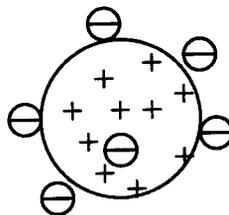
Trocador aniônico:



onde:

$X^-$  = anion

R' = radical orgânico



**Figura 2.6** - Esquema de um trocador aniônico, o sinal (+) representa o grupo trocador ligado à matriz e o sinal (-) os ânions que são adsorvidos.

A cromatografia por troca iônica, bem como os outros tipos de cromatografia líquida em coluna, pode ser classificada em cromatografia clássica e cromatografia líquida de alta eficiência. A diferença entre estes dois tipos de cromatografia em coluna está no tamanho das partículas que constituem a fase estacionária.

No primeiro caso emprega-se partículas maiores que 40  $\mu\text{m}$ ; a ação da gravidade é suficiente para ter-se vazões razoáveis da fase móvel. No caso de cromatografia líquida de alta eficiência emprega-se partículas de menor diâmetro (5-10 $\mu\text{m}$ ), com a finalidade de aumentar a eficiência das colunas, o que acarreta em uma maior resistência ao fluxo, tornando necessário o emprego de bombas de alta pressão para impulsionar a fase móvel através da coluna.

#### **2.2.4.2 - Cromatografia por troca iônica clássica**

Os materiais mais utilizados para cromatografia por troca iônica clássica são polímeros sintéticos orgânicos, mais comumente denominados como resinas, capazes de trocar íons. Este material é composto de uma matriz orgânica porosa, onde encontram-se ligados grupos ionizáveis (ácidos ou básicos). Estas resinas são obtidas através da polimerização do estireno em presença de divinilbenzeno resultando em uma estrutura tridimensional, onde pode-se ligar os grupos com carga positiva. Estes materiais são conhecidos como resinas aniônica fortemente básica e resina catiônica fortemente ácida, respectivamente.

### **2.3 - Extração e Purificação da cefalosporina C**

Os processos de separação e purificação normalmente são selecionados e estudados em função das características químicas do produto, de sua estabilidade e da composição final do meio de cultura que pode apresentar sais e subprodutos indesejáveis.

para se ter sucesso na escolha do processo a ser utilizado deve-se levar em conta se o sistema é seletivo, não tóxico ao crescimento da cultura, capacidade de se realizar a operação de forma asséptica, ter capacidade decarregar grande quantidade de produto e ser reutilizado se formuito caro.

### 2.3.1 - Métodos de extração e purificação de cefalosporina C.

Compostos hidrofóbicos como é o caso da penicilina G, podem ser separados eficientemente do meio de cultura de maneira relativamente barata por extração a baixo pH com um solvente orgânico. Este processo não pode ser facilmente aplicado para a separação de cefalosporina C do meio de fermentação. A natureza hidrofílica do  $\alpha$ -aminoadipil presente na cadeia das cefalosporinas caracteriza uma alta solubilidade em água impedindo a utilização de métodos diretos de extração por solvente.

As técnicas mais comuns utilizadas para a separação de cefalosporina são: adsorção, troca iônica, derivatização seguida por extração com solvente e modificação enzimática. Em cada um dos casos, o primeiro passo do processo de recuperação é a remoção dos microrganismos feito por filtração. Para este fim, emprega-se um filtro cilíndrico rotatório como auxiliar de filtração. O caldo também pode ser misturado com o auxílio de filtração, variando a quantidade de acordo com a dificuldade de filtração, que muda de linhagem a linhagem e algumas vezes de lote para lote. Em geral a idade do cultivo dificulta a filtração. Ao mesmo tempo o caldo é acidificado a um pH de 3,0, para precipitar proteínas do meio de cultura e melhorar a eficiência do adsorventes (SMITH, 1985).

Em processos industriais, para a recuperação de cefalosporina C, a filtração é seguida por adsorção, onde um dos processo utiliza carvão ativado, segundo as pesquisas de ABRAHAM & NEWTON (1956). A cefalosporina C é adsorvida na superfície do carvão, muitas impurezas e sais inorgânicos são eliminados no percolado e coluna de lavagem. A cefalosporina C é relativamente vulnerável à decomposição, ao ser adsorvida em carvão e perdas podem ocorrer nesta etapa. O empacotamento eficiente da coluna é feito através do monitoramento do percolador por HPLC ou por métodos simples como a polarimetria. O antibiótico é eluído do carvão por uma mistura aquosa de solvente, como uma mistura de água e acetona (NOVA *et al.* 1975).

VOSER (1982) descreve que em 1965 Rohm & Haas comercializaram o primeiro adsorvente orgânico sintético macroporoso ou macroreticular, que foi chamado de resina Amberlite XAD. Essas resinas apresentaram boa aplicabilidade em adsorção cromatográfica, podendo ser utilizadas em colunas cromatográficas de troca iônica.

HANO *et al.* (1992) utilizaram a reação extrativa e retirada da cefalosporina C em seu trabalho usando vários extratores e soluções tampão. A cefalosporina não pode ser separada por aminas secundárias como a penicilina devido a sua característica anfotérica dificultando a formação do par iônico complexo. Porém, com a presença de um sal quaternário no meio a extração pode ocorrer. Os pesquisadores utilizaram tri-n-octilmetilamonio clorido (TOMAC) como extrator e butil acetato como solvente orgânico. De acordo com os resultados, embora tenha sido possível realizar a extração utilizando carbonato como tampão, a quantidade de cefalosporina presente na fase orgânica vai depender muito das concentrações do extraente bem como do acetato. Neste trabalho não foi investigado a influência da penicilina N e da desacetil cefalosporina C (produto secundário), no equilíbrio de extração, isto é, se o processo é seletivo ou não o que torna difícil analisar a eficiência do processo sugerido.

YANG *et al.* (1994) investigaram a possibilidade de se extrair cefalosporina C e separá-la da desacetil cefalosporina C, provenientes de caldo de fermentação. Os pesquisadores utilizaram o princípio de duas fases aquosas com PEG (Polietilenoglicol)/sal, onde o sal seria o determinante nos valores dos coeficientes de partição. O rendimento para a recuperação não foi muito bom para um pequeno estágio, mas pode ser melhorado para um sistema de multiestágios em contracorrente. Segundo BAYLEY & OLLIS (1986) os processos de separação que envolvem PEG apresentam alto custo.

Os projetos de processos de separação e purificação por adsorção, devem buscar uma simplicidade operacional das instalações industriais buscando também a seleção do adsorvente mais adequado na separação do produto desejado, levando-se sempre em conta a possibilidade de sua reutilização por um método apropriado de regeneração.

Para a recuperação da cefalosporina C, resinas não polares do tipo amberlite XAD-2, XAD-4 e ER- 180 (PIROTA, 1982) são consideradas de maior utilidade. Fatores considerados para a escolha de um adsorvente são: capacidade, seletividade e outras propriedades físicas tais como o entumescimento ("swelling") da resina. Embora a resina XAD-4 tenha uma maior capacidade que a XAD-2, ela tem uma maior dificuldade no ciclo de eluição e regeneração, numa escala industrial. A eluição da resina com isopropanol aquoso produz uma cefalosporina de maior pureza que a obtida por processo de adsorção em carvão.

Em alguns casos, especialmente quando se trabalha com caldo ou alta concentração do antibiótico, é possível concentrar o eluido da resina macrorreticular por meio da

cristalização da cefalosporina C com uma solução. Para caldos de concentração mais baixa, uma resina de troca iônica intermediária é necessária para obter um produto de pureza boa.

A resina pode ser a amberlite IRA-68 ou seu equivalente. A resina pode ser usada num ciclo acetato e carregada diretamente com o eluido da etapa de adsorção. Baixo pH favorece uma alta eficiência de adsorção. A resina pode ser eluida com acetato de sódio ou potássio. Na prática, na primeira corrida a fração de cauda é eliminada, pois contém impurezas que se ligam à resina com uma eficiência mais ou menos similar à cefalosporina C. Destas impurezas, a desacetilcefalosporina C é fortemente retida e parcialmente isolada da cefalosporina C durante a eluição.

Uma variedade de processos são descritos na literatura na qual resinas trocadoras de íons são usadas em um primeiro passo de adsorção. McCORNICK em 1971 descreve um processo no qual as impurezas foram primeiramente precipitadas com acetona, o pH reduzido com uma resina de troca catiônica e então a cefalosporina adsorvida em uma resina de troca aniônica.

STABLES & BRIGGS (1978) desenvolveram um processo em que emprega-se três resinas nas quais as impurezas e os sais são removidos fazendo-se uso de uma resina de troca aniônica, seguido por uma redução de pH usando uma resina de troca catiônica para facilitar a adsorção sobre a troca aniônica. É usual concentrar primeiro o eluido por cristalização da cefalosporina C. O ponto mais importante é evitar longos tempos de contato e temperaturas elevadas, que podem destruir a cefalosporina.

A cristalização da cefalosporina C é feita por adição de diferentes volumes de solvente, por exemplo: acetona, metanol ou isopropanol em solução aquosa concentrada. O sal resultante ou é recuperado por centrifugação ou filtração e secado para dar um produto intermediário o qual é usado para sintetizar uma grande quantidade de derivados de cefalosporina

### **2.3.2 - Adsorventes utilizados para a purificação de Cefalosporina C**

PIROTTA (1982), realizou um estudo mais detalhado sobre alguns adsorventes poliméricos, Amberlite XAD e ER-180, com relação a sua eficiência nos processos de purificação de cefalosporina. Segundo este pesquisador, os adsorventes poliméricos

apresentam-se como uma maneira simples e econômica de se extrair uma série de substâncias a nível industrial, como é o caso da cefalosporina C.

O pesquisador apresenta algumas comparações a respeito das tecnologias existentes para a extração de cefalosporina C, as quais são:

#### **Carvão ativo.**

Foi o primeiro processo desenvolvido para a extração de cefalosporina C.

**Vantagens:** baixo custo do adsorvente, alta capacidade de adsorver, técnicas familiares na indústria farmacêutica.

**Desvantagens:** Baixo rendimento de extração, alto custo de eluição, alto custo de regeneração, provoca poluição do ar, alto custo dos solventes, o eluido não é particularmente puro, perda significativa de adsorvente, separação cromatográfica não significativa de compostos similares.

#### **Extração por solventes de derivados de cefalosporina C:**

Muitas patentes foram registradas a respeito desta técnica. O conceito é bastante interessante e familiar à indústria farmacêutica. Esta tecnologia tornou-se bastante atrativa após a crise do petróleo e o aumento de controle das leis de poluição.

**Vantagens:** simplicidade, não necessita do desenvolvimento de nenhum mecanismo particular para a indústria farmacêutica, apresenta um bom rendimento, produto de aceitável pureza partindo de um meio de cultura razoavelmente puro, tecnologia padrão para uma série de indústrias farmacêuticas.

**Desvantagens:** alto custo dos componentes químicos, perda desses produtos químicos, controle de poluição é exigido, separação não eficiente por cromatografia dos produtos similares, apresenta componentes químicos de risco.

## **Resinas Trocadoras de íons:**

Muitas patentes também foram requeridas e muitos artigos publicados.

**Vantagens:** não necessita que se especifique o solvente no princípio, simplicidade, baixo custo da resina, longo período de utilização da resina.

**Desvantagens:** quando minerais ácidos são utilizados na floculação dos micélios, grandes quantidades de trocadores aniônicos são necessários para extrair a cefalosporina C além dos minerais ácidos presentes. O rendimento deste tipo de extração é dependente das variações da fermentação e da eficiência do processo floculação-filtração. Outra desvantagem é apresentar uma separação cromatográfica bastante pobre de compostos similares.

## **Adsorventes Poliméricos**

### **Amberlite XAD-2**

Desenvolvida em 1963, por Dr. W. Voser especificamente para a extração de cefalosporina C (US Patent No. 3725400 Ciba-Geigy AG).

**Vantagens:** Simplicidade boa eficiência de separação cromatográfica de compostos similares; capacidade e especificidade não são influenciadas negativamente pela salinidade da solução, longo tempo de vida do adsorvente, boas propriedades hidráulicas, quantidade limitada de solvente é requerida, possibilidade de eluição com solvente externo, pequenos picos de eluição, não há necessidade de uma retrolavagem do adsorvente, alto rendimento de extração e baixo aumento do seu tamanho.

**Desvantagens:** baixa capacidade.

### **Amberlite XAD-4**

**Vantagens:** alta capacidade, alta estabilidade física, alta estabilidade química, alta afinidade, bom tempo de vida, alto rendimento na extração;

**Desvantagens:** grande pico de eluição, separação de compostos similares é fraca, apresenta significativo aumento de tamanho.

A experiência tem mostrado que o adsorvente polimérico ideal para as necessidades do mercado deveria ter as seguintes características:

- alta capacidade;
- pico de eluição estreito;
- alto rendimento na extração;
- eluato altamente puro;
- boa separação cromatográfica de compostos similares;
- possibilidade de eluição com solvente e não solvente;
- não apresentar necessidade de uma retrolavagem regular;
- boa estabilidade física;
- não apresentar aumento significativo de tamanho durante o uso;
- boa estabilidade química;
- peso específico alto;
- baixo custo

Todos estes parâmetros são regulados pela distribuição de tamanho de poro, forma do poro e polaridade da superfície ativa que será acessível à cefalosporina C, além da geometria tridimensional que será o suporte principal para a superfície ativa. Os adsorventes que melhor preencheram os requisitos necessários para que se possa extrair cefalosporina C foram, amberlite XAD-2 e amberlite ER-180, sendo que essa última foi a que apresentou melhores resultados, visto que as moléculas de cefalosporina C se difundem com um bom grau de

liberdade nos poros deste adsorvente. A polaridade da amberlite ER-180 apresenta uma boa retenção das moléculas de cefalosporina C, porém não fortemente, o que permite picos curtos de eluição permitindo uma alta concentração de produto completamente recolhido.

Desta maneira, os dois adsorventes da série de estireno divinilbenzeno (amberlite XAD-2 e ER-180) deveriam ser avaliados para as condições de meio que se irá trabalhar.

No caso particular da cefalosporina C, há uma série de fatores que controlam a performance da resina no processo extrativo, explicitados a seguir.

### **2.3.2.1 - Fatores que controlam a performance da resina:**

#### **Fatores controlados pela resina:**

- Momentos de dipolo do adsorvente e da substância a ser separada;
- Superfície ativa do adsorvente;
- Expansão do adsorvente durante as etapas de adsorção e eluição;
- Homogeneidade do trabalho reticular do adsorvente;
- Tamanho do poro;
- Distribuição do tamanho do poro;
- Volume do poro;
- Tamanho e distribuição da partícula;
- Unidade que irá conter o adsorvente.

#### **Fatores controlados pela solução:**

- Conhecimento do sal da solução em que está dissolvida a substância;
- Isotermas de adsorção;

- Concentração do soluto;
- Solubilidade do soluto no meio em solução;
- Escolha da química apropriada e da concentração em que se efetuará o passo da eluição.
- Escolha do sistema mais eficiente de regeneração, se for requerido.

### **2.3.2.2 - Propriedades físicas das resinas**

#### **Tamanho e forma das partículas**

Para propósitos cromatográficos emprega-se partículas esféricas de 106 a 250  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno, ou menores. O diâmetro de partícula das resinas, normalmente é dado em mesh; a transformação para cm é feita utilizando a "Tabela Conversion for U.S. Standard Screen Series" (DEAN,1962).

#### **Entumescimento e porosidade**

Quando uma resina é colocada em presença de uma solução aquosa, ela embebe água, devido à tendência dos grupos funcionais a se hidratarem, formando uma estrutura porosa.

Este entumescimento, medido em massa de água por miliequivalentes de resina, é diretamente proporcional ao número de grupos funcionais hidrofílicos ligados à matriz polimérica. Depende também, da natureza do solvente, presença ou ausência de eletrólitos na solução, sua natureza e concentração, natureza do íon fixo e contra-íon, do esqueleto da resina e do grau de entrecruzamento.

O grau de entrecruzamento está relacionado com a rigidez da resina e com o tamanho dos poros; quanto maior for o grau de entrecruzamentos expresso em porcentagem de divinilbenzeno empregado na copolimerização do estireno, menor serão os poros das partículas e estas apontaram uma maior rigidez mecânica

### 2.3.2.3 - Propriedades químicas das resinas

#### Capacidade de troca

A capacidade de troca é uma medida da quantidade de troca de íons que pode ocorrer entre a matriz e os íons presentes na fase móvel. A capacidade total é a quantidade de grupos carregados, ou potencialmente carregados, que podem ser trocados por grama de peso seco do trocador, A capacidade disponível é a capacidade real do trocador sob determinadas condições. Ela é dependente de vários fatores, entre os quais a força iônica, o pH e a temperatura do efluente (COLLINS & BRAGA, 1990).

A capacidade pode ser expressa como a capacidade total ou capacidade disponível. A capacidade total é expressa em meq/g ou meq/100mL de suspensão da resina, sendo determinada por titulação. A capacidade de resinas fortemente ácidas ou básicas é independente do pH da fase móvel, enquanto que, em resinas fracamente ácidas ou básicas o pH influencia bastante na capacidade de troca.

Resinas catiônicas fracamente ácidas têm sua capacidade bastante diminuída em pH abaixo de 4,0, devido à grande afinidade da resina pelos íons  $H^+$  presentes na fase móvel. No caso de resinas aniônicas fracamente básicas, a capacidade diminui em pH acima de 7,0.

#### Seletividade

A seletividade depende principalmente de dois fatores: carga iônica e raio iônico dos íons hidratados. Íons divalentes são mais atraídos pela resina que íons monovalentes.

A seletividade de um trocador é muito importante para o seu emprego, embora este fator dependa muito das condições de operação e pode-se destacar que:

- a) a seletividade de um trocador aumenta com o incremento do grau das ligações cruzadas da matriz;
- b) íons com carga elevada são ligados mais fortemente ao trocador que íons de baixa carga, nas mesmas concentrações;

c) íons com a mesma carga, porém com diferentes tamanhos em solução, tem graus de afinidade diferentes;

d) Tamanho da partícula: em operações de grande escala é desejável uma alta taxa de fluxo o que requer o uso de partículas consideravelmente grandes. Para propósitos analíticos o tamanho padrão é aproximadamente 20-60 mesh, (BRAITHWAITE, 1985).

### **Matriz**

A matriz de um trocador é constituída de um material poroso, natural ou sintético, inerte, insolúvel em água e em solventes orgânicos, apresentando ligações covalentes nos grupos trocadores iônicos. As matrizes são classificadas em inorgânicas e orgânicas, sendo naturais ou sintéticas. A natureza da matriz determina suas propriedades físicas, como sua força mecânica e características de fluxo. (COLLINS & BRAGA, 1990).

Os primeiros trocadores iônicos projetados para uso com materiais biológicos foram os trocadores à base de celulose desenvolvidos por PETERSON & SOBER (1956). Por serem em geral mais eficientes, as resinas orgânicas altamente polimerizadas, com ligações cruzadas, são amplamente utilizadas como matriz. Os adsorventes mais importantes utilizados a base de biopolímeros são dextrana e agarose, além de polímeros sintéticos que também estão se tornando populares, (SCOPES, 1987). Dependendo do grupo trocador ligado covalentemente à matriz, os trocadores iônicos são classificados em aniônicos e catiônicos.

A escolha da matriz para troca iônica depende de três fatores: estabilidade dos componentes da amostra, peso molecular dos componentes da amostra e requerimentos específicos da aplicação.

### **Grupos trocadores**

A presença de grupos trocadores é uma propriedade fundamental de um trocador iônico. O tipo de grupo determina o tipo de trocador iônico e conseqüentemente, sua força, seu número e disponibilidade total determinam a capacidade. Há uma variedade de grupos que podem ser utilizados em trocadores iônicos, (HIMMELHOCH, 1971). Alguns exemplos são mostrados na Tabela 2.5.

Tabela 2.5 - Alguns Trocadores de cátions e ânions

Alguns Trocadores de cátions e ânions	
Trocadores aniônicos	Grupo funcional
Aminoetil (AE-)	$-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$
Dietaminoetil (DEAE-)	$-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$
Aminoetil quaternário(QAE-)	$-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$
Trocadores catiônicos	Grupo funcional
Carboximetil (CM-)	$-\text{OCH}_2\text{COO}^-$
Fosfo	$-\text{PO}_4\text{H}_2^-$
Sulfopropil (SP-)	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$

## 2.4 - Isotermas de Adsorção

Os processos adsorptivos foram primeiramente observados em sólidos porosos que tinha a capacidade de captar seletivamente grandes quantidades de gás em seus vazios. De acordo com a quantidade de adsorbato presente no gás, há uma quantidade definida de adsorbato presente na fase adsorvida, isto ocorre quando se atinge o equilíbrio.

Essas relações de equilíbrio são apresentados em forma de modelos que correlacionam matematicamente as quantidades adsorvidas em equilíbrio com o meio circundante.

Algumas características tais como a natureza do sólido (sítios ativos, distribuição de poros, etc) e natureza do adsorbato (dipolos, forma e tamanho molecular, etc) são determinantes no equilíbrio.

Segundo GOSLING *et al.* (1989), as isotermas mais comuns utilizadas para descrever o fenômeno de adsorção em sistemas biológicos são as isotermas de Langmuir e Freundlich.

### 2.4.1 - Isoterma de Langmuir

Uma das isotermas mais clássicas apresentadas na literatura provém da teoria de Langmuir, que assume a formação de uma camada homogênea sobre a superfície sólida, sem

que haja interações entre as moléculas adsorvidas. A representação matemática desta isoterma é apresentada de acordo com a equação 2.1.

$$q = \frac{q_m K_1 C}{1 + K_1 C} \quad (2.1)$$

Onde  $C$  é a concentração da espécie em solução que está em equilíbrio com a quantidade adsorvida  $q$ ,  $K_1$  é uma constante de dissociação do complexo adsorbato-adsorvente e  $q_m$  quantidade máxima de substância adsorvida. A isoterma de Langmuir é bastante utilizada para descrever afinidade adsortiva.

#### 2.4.2 - Isoterma de Freundlich

A isoterma de Freundlich corresponde a adsorção em sítios não uniformes; especialmente no caso da ligação entre a superfície e o adsorbato ser parcialmente iônico (MOORE, 1976). A equação 2.2 descreve matematicamente esta isoterma.

$$q = K_f C^{1/n} \quad (2.2)$$

Onde  $K_f$  é a constante da isoterma de Freundlich e  $n$  é um índice desta isoterma. Segundo GOSLING *et al.* (1989) esta isoterma é bastante utilizada para descrever adsorção de antibióticos, como pode ser observado na apresentação de um processo para adsorção de novomicina e estreptomicina apresentados por BAILEY & OLLIS (1986) ou mesmo no trabalho de KIRKBY *et al.* (1986), que também utiliza esta isoterma para adsorção de cefalosporina C em resina amberlite XAD-2.

#### 2.5 - Análise de adsorção em leito fixo

O projeto de leitos fixos para adsorção pode ser um procedimento complicado em virtude da interação de diversos mecanismos físicos envolvidos na adsorção, ou na troca iônica, e também em virtude dos cálculos a serem feitos para uma quantidade finita de adsorvente que opera ciclicamente.

Na Figura 3.1 está a representação esquemática de um adsorvedor a leito fixo. Para simplicidade da exposição, o sistema será discutido em termos da adsorção de um líquido, embora as considerações apliquem-se também a troca iônica e a gás.

Quando o líquido, rico em soluto, entra no leito do adsorvente virgem, o soluto do líquido começa a ser adsorvido pelo adsorvente sólido. A velocidade com que ocorre esta adsorção é influenciada por um, ou mais de um, entre os seguintes fatores:

difusão do soluto da corrente de líquido até a superfície externa das partículas sólidas.

difusão do soluto para os poros internos da partícula, cheios de líquido.

reação na interface líquido-sólido.

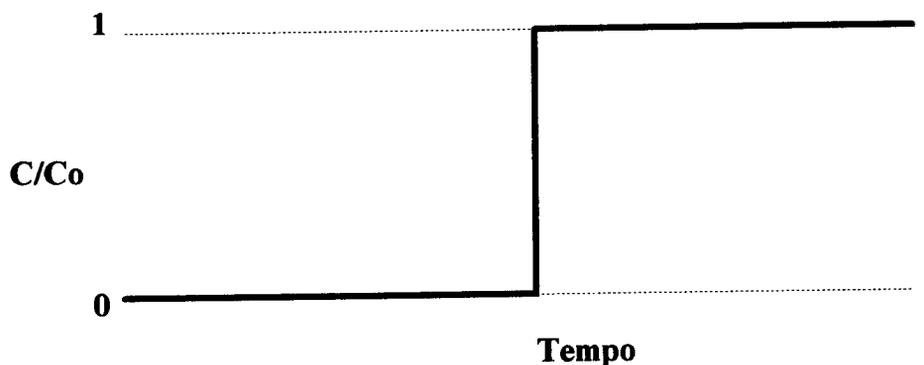
difusão do soluto adsorvido para a fase solvente.

Quando nenhuma destas etapas é lenta, é possível imaginar uma adsorção instantânea e completa assim que a primeira parcela de líquido entra em contato com a primeira parcela do leito sólido. O adsorvente sólido adsorve imediatamente o soluto até que seja atingido o equilíbrio com a corrente de líquido afluyente. Depois, o líquido afluyente passa sem se alterar por esta primeira parcela do leito, e terá o seu soluto adsorvido, da mesma forma, na parcela seguinte. Esta ação continua até que a carga introduzida tenha grandeza suficiente para saturar todo o leito com a concentração de equilíbrio em relação ao líquido; neste instante, a concentração do soluto no líquido efluyente cresce instantaneamente de zero até a concentração na corrente afluyente.

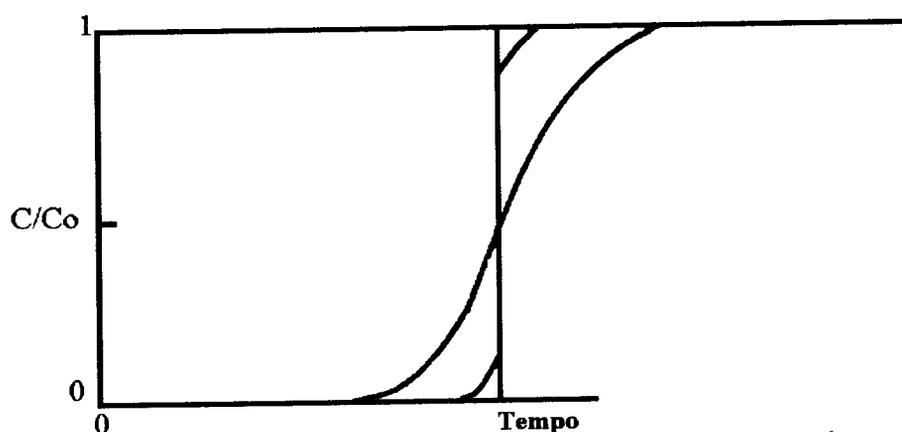
Durante o intervalo de tempo em que a frente de adsorção avança, o componente que não se adsorve passa pelo restante do leito e aparece como efluyente. Quando se mede a concentração do soluto, neste efluyente, observa-se que ela é nula até que o leito fica saturado; então ela cresce subitamente até atingir a composição afluyente original.

O intervalo de tempo necessário para saturar o leito é uma função da capacidade de adsorção do leito, da vazão e da concentração do adsorvente na carga. Por isso, existe uma

proporção direta entre o tempo necessário para saturar o leito e a massa acumulada de efluente, conforme ilustrado na Figura (2.7)



(a)



(b)

**Figura 2.7** - Curvas de efluência na adsorção. (a) no caso de adsorção ser instantânea, (b) no caso de adsorção ocorrer com uma velocidade finita de transferência de massa

Com a adsorção instantânea (Figura 2.7a), a frente entre o leito completamente saturado e o adsorvente virgem movimenta-se através do leito até atingir o terminal de saída, quando então a concentração passa de 0 para 1, e a última parcela do leito fica saturado. Este

súbito aumento da concentração do efluente constitui o rompimento, que mostra a dependência existente entre a concentração e o tempo.

Esta representação gráfica da concentração de saída em função do tempo é bastante semelhante à representação gráfica em pontos ao longo do leito, num instante fixo, durante o ciclo de adsorção.

Numa adsorção real, a velocidade de transferência de massa é finita, de modo que o soluto não é adsorvido instantaneamente. Por isso, a medida que o líquido transporta o soluto através do leito, somente uma parte do soluto é adsorvido. A medida que a saturação se aproxima, a velocidade de adsorção diminui. Estes dois efeitos provocam um esmaecimento da nitidez da frente plana de adsorção, provocando a criação de uma zona de adsorção com largura finita. Na parte frontal da zona de adsorção, o soluto está sendo adsorvido, enquanto na fronteira posterior da zona o leito está atingindo a saturação. A concentração resultante do efluente reflete esta variação da concentração do soluto no leito, num instante determinado, conforme aparece na curva de efluência da Figura 2.7b.

O coeficiente angular da curva de efluência é uma função da taxa de adsorção. Quanto maior a velocidade de adsorção, mais vertical será a curva.

### III - MODELAGEM MATEMÁTICA

#### 3.1 - Modelo Cinético

Um modelo matemático baseado em um balanço de massa e equação de cinética de adsorção foi desenvolvido e usado para estudar o relacionamento entre as variáveis do processo. Parte-se do pressuposto que a reação de adsorção-dessorção pode ser representada esquematicamente pela equação 3.1.



Onde  $K_1$  e  $K_2$  são as constantes da taxa que geram a adsorção e  $K_d = (K_2/K_1)$ , a constante de dissociação que descreve o equilíbrio da adsorção.

Exemplificando-se tem-se que  $C$ ,  $B$  e  $Q$  são a cefalosporina  $C$  a ser adsorvida, o adsorvente e o complexo cefalosporina-adsorvente, respectivamente.

A expressão cinética para adsorção da cefalosporina em resina descrita pela equação (3.1) é dada por:

$$\frac{\partial Q}{\partial t} = K_1 C (Q_m - Q)^{1/n} - K_2 Q^{1/n} \quad (3.2)$$

onde:

$C$  é a concentração de cefalosporina em solução que pode ser adsorvida,  $Q$  é a concentração de cefalosporina adsorvida na fase sólida de material (resina) por unidade de volume de adsorvente,  $Q_m$  é a capacidade máxima de adsorção do adsorvente,  $K_1$  e  $K_2$  são as constantes cinéticas do modelo.

No equilíbrio a equação é descrita por:

$$\frac{\partial Q}{\partial t} = K_1 C^* (Q_m - Q^*)^{1/n} - K_2 Q^{*1/n} = 0 \quad (3.3)$$

Onde o símbolo (\*) representa o valor da variável no equilíbrio.

A partir da equação (3.3) pode ser observado que no equilíbrio a concentração da fase sólida de material adsorvido ( $Q^*$ ) varia com a concentração do material em solução da seguinte forma:

$$Q^* = \frac{Q_m C^{*n}}{K + C^{*n}} \quad (3.4)$$

A equação (3.4) prediz que a isoterma de adsorção deve ser não linear e do tipo descrito por Freundlich, quando  $C^n \ll K$ , ou seja  $Q^* = KC^n$ , sendo  $K = K_d^n = \left(\frac{K_2}{K_1}\right)^n$

### 3.2 - Descrição do Problema

Trata-se de um processo isotérmico de adsorção de cefalosporina C em uma coluna tubular contendo resina XAD-2 (Figura 3.1). O processo foi descrito matematicamente em termos das equações diferenciais obtidas do balanço de massa e a cinética do processo. As equações analíticas descritivas do processo foram transformadas em algoritmo numérico aplicando os métodos numéricos de Crank-Nicholson para as equações diferenciais parciais e o de Runge-Kutta de 4ª ordem para as equações cinéticas.

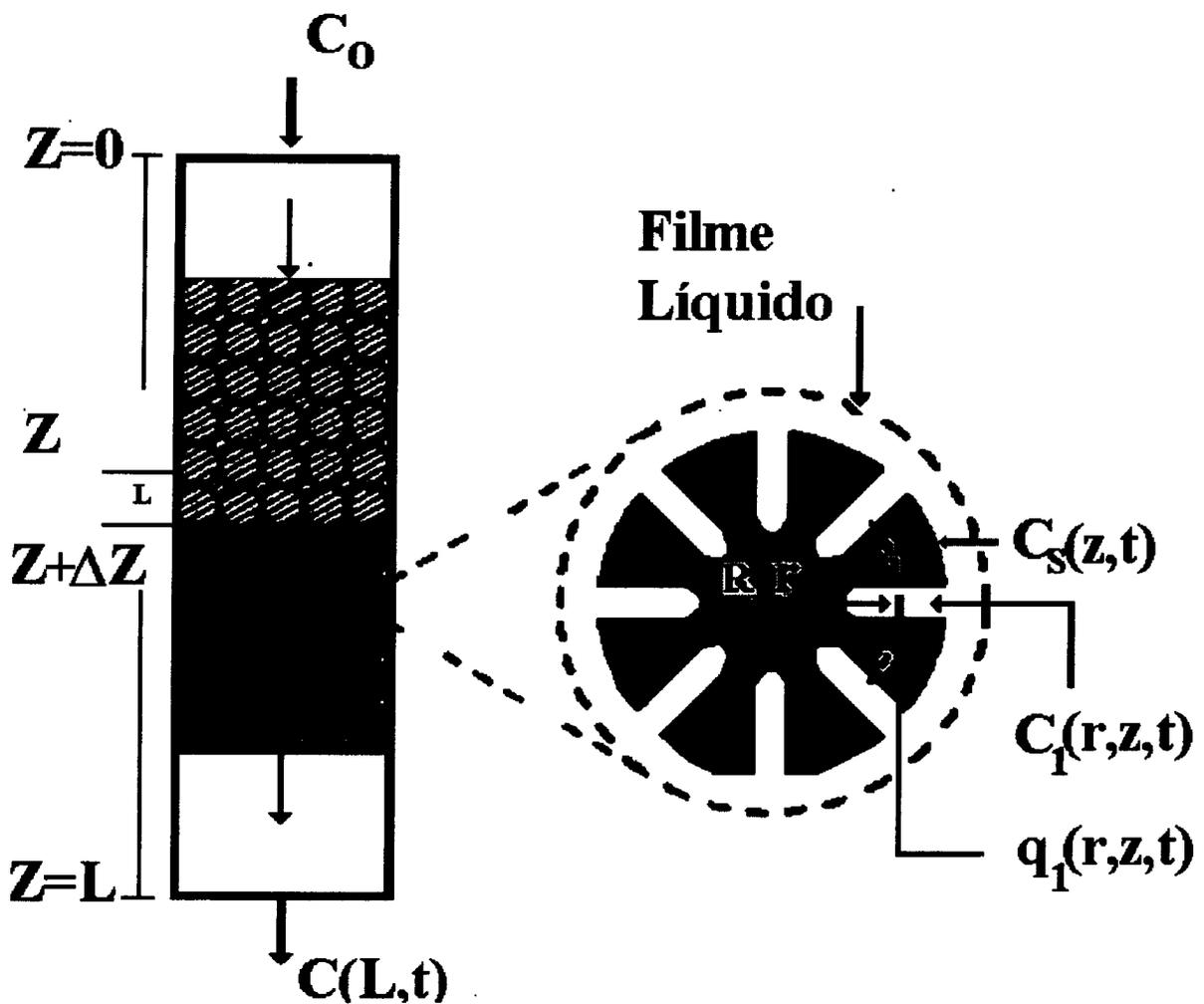


Figura 3.1 - Esquema de uma coluna de cromatografia

**Na Figura 3.1 tem-se:**

Co: concentração de cefalosporina C na alimentação	[Kg.mol / m <sup>3</sup> sol.]
C: concentração de cefalosporina C em solução	[Kg.mol / m <sup>3</sup> sol.]
L: comprimento do leito da coluna	[m.]
Q: concentração de cefalosporina C adsorvida na resina	[Kg.mol/m <sup>3</sup> resina.]
r: raio da coluna tubular	[m.]
t: tempo	[h.]
v: velocidade de escoamento da solução de cefalosporina C	[m/h.]
Z: distância	[m.]
Definiu-se um volume diferencial de controle (VDC) na coluna, de Z até $\Delta Z$ , e a seguinte nomenclatura adicional:	
A: área da secção transversal da coluna	[m <sup>2</sup> ]
E: Coeficiente de dispersão axial da cefalosporina em solução	[m <sup>2</sup> /h]
D: difusividade da cefalosporina em solução	[m <sup>2</sup> / h]
Rc: Taxa de adsorção da cefalosporina pela resina	[Kg.mol / m <sup>3</sup> leito . h]
$\epsilon$ : Porosidade do leito	[m <sup>3</sup> sol / m <sup>3</sup> leito]

Os termos de balanço de massa são:

Cefalosporina em solução que entra no (VDC) por convecção	$vCA\varepsilon _Z$
Cefalosporina em solução que entra no (VDC) por difusão	$-E\left(\frac{\partial C}{\partial z}\right)A\varepsilon _Z$
Cefalosporina em solução que sai do (VDC) por convecção	$vCA\varepsilon _{Z+\Delta Z}$
Cefalosporina em solução que sai do (VDC) por difusão	$-E\left(\frac{\partial C}{\partial z}\right)A\varepsilon _{Z+\Delta Z}$
Cefalosporina adsorvida na resina no (VDC)	$Rc\pi r^2\Delta Z(1-\varepsilon)$
Acúmulo de cefalosporina em solução no (VDC)	$\frac{\partial C}{\partial t}\pi r^2\Delta Z(\varepsilon)$

Portanto a equação de balanço de massa será:

$$\left[ vCA\varepsilon|_Z + \left(-E\frac{\partial C}{\partial Z}\right)A\varepsilon|_Z \right] - \left[ vCA\varepsilon|_{Z+\Delta Z} + \left(-E\frac{\partial C}{\partial Z}\right)A\varepsilon|_{Z+\Delta Z} \right] - \left[ Rc\pi r^2\Delta Z \right](1-\varepsilon) = \frac{\partial C}{\partial t}\pi r^2\Delta Z\varepsilon \quad (3.5)$$

onde

$$A = \pi r^2$$

Dividindo-se pela área A e por  $\Delta Z$  tem-se:

$$\frac{vC\varepsilon|_Z - vC\varepsilon|_{Z+\Delta Z}}{\Delta Z} + \frac{-E\varepsilon \frac{\partial C}{\partial Z}|_Z + E\varepsilon \frac{\partial C}{\partial Z}|_{Z+\Delta Z}}{\Delta Z} - (1-\varepsilon)Rc = \varepsilon \frac{\partial C}{\partial t} \quad (3.6)$$

Tomando o limite com  $\Delta Z \Rightarrow 0$  e considerando que o coeficiente de dispersão axial E e a porosidade ( $\varepsilon$ ) são constantes ao longo da coluna tem-se:

$$-v\varepsilon \frac{\partial C}{\partial z} + E\varepsilon \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - (1-\varepsilon)Rc = \varepsilon \frac{\partial C}{\partial t} \quad (3.7)$$

Rearrajando tem-se:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -v \frac{\partial C}{\partial z} + E \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) Rc \quad (3.8)$$

A expressão cinética para adsorção da cefalosporina em resina fica da seguinte maneira:

$$\frac{\partial Q}{\partial t} = [K_1 C (Q_m - Q)^{1/n} - K_2 Q^{1/n}] = -\frac{\partial C}{\partial t} \left( \frac{\varepsilon}{1-\varepsilon} \right) = Rc \quad (3.9)$$

Onde:

Rc: taxa de adsorção de cefalosporina [kg.mol/m<sup>3</sup> meio]

Q: concentração. de cefalosporina adsorvida na resina [kg.mol/m<sup>3</sup> resina]

C: concentração. de cefalosporina em solução [kg.mol /m<sup>3</sup> solução]

K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, Q<sub>m</sub> : constantes cinéticas do modelo de absorção.

Como o sistema de equações consiste em uma diferencial parcial e uma diferencial ordinária, deve-se aplicar 2 métodos de resolução. No caso usaremos Crank-Nicholson e

Runge-kutta de quarta ordem respectivamente para equação diferencial parcial e equação diferencial ordinária

$$\left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}\right) \frac{\partial Q}{\partial t} = -v \frac{\partial C}{\partial z} + \frac{\partial C}{\partial t} E \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \quad (3.10)$$

com as seguintes condições de contorno

Na entrada da coluna

$$Z=0 \Rightarrow v C - E \frac{\partial C}{\partial z} = 0 \quad (3.11)$$

Na saída da coluna

$$Z=L \Rightarrow \frac{\partial C}{\partial z} = 0 \quad (3.12)$$

Com as seguintes condições iniciais para  $C(z,t)$  e  $Q(z,t)$

$$C_{0,0} = C_0, \quad Q_{0,0} = 0, \quad C_{0,j} = C_0, \quad V_j$$

$$C_{i,0} = 0 \text{ para } i > 1, \quad Q_{i,0} = 0 \text{ para } i > 1, \quad Q_{0,j} = 0, \quad V_j$$

### 3.3 - Mecanismo de transferência de massa externa:

Levando em consideração a resistência a transferência de massa entre o líquido e a superfície do adsorvente, e considerando regime permanente, e governada por um modelo de película, caracterizado por um coeficiente de transferência de massa  $K_s$ , então tem-se:

$$R_c = J = \frac{3}{R} K_s (C_m - C_s) \quad (3.13)$$

onde  $C_m$  é a concentração no meio ("bulk") e  $C_s$  é a concentração na superfície da partícula

Para um reator de leito fixo tem-se:

$$j = \frac{N_{Sh}}{N_{Re} N_{Sc}} (N_{Sc})^{2/3} \quad (3.14)$$

onde

$$N_{Sh} = \frac{K_s dp}{D_m v} \quad (3.15)$$

onde  $D_m$  é a difusividade molecular da cefalosporina e

$$N_{Sc} = \frac{\mu}{\rho D_m v} \quad (3.16)$$

$$N_{Re} = \frac{\rho v dp}{\mu} \quad (3.17)$$

Substituindo os números adimensionais na equação (3.14) tem-se:

$$j = \frac{K_s}{v} \left( \frac{\mu}{\rho D_m v} \right)^{2/3} \quad (3.18)$$

Isolando-se o coeficiente global de transferência de massa ( $K_s$ ) tem-se:

$$K_s = j v \left( \frac{\mu}{\rho D_m v} \right)^{-2/3} \quad (3.19)$$

de acordo com a correlação de DWIVEDI & UPADHYAY (1977) para  $N_{re} < 10$  temos:

$$j = \frac{1,1068}{\varepsilon} \left( \frac{\rho v dp}{\mu} \right)^{-0,72} \quad (3.20)$$

Substituindo-se a correlação acima na expressão do coeficiente global de transferência de massa:

$$K_s = v \frac{1,1068}{\varepsilon} \left( \frac{\rho v dp}{\mu} \right)^{-0,72} \left( \frac{\mu}{\rho D_m v} \right)^{-2/3} \quad (3.21)$$

ou seja:

$$K_s = v \frac{1,1068}{\varepsilon} (NRe)^{-0,72} (NSc)^{-2/3} \quad (3.22)$$

Retornando-se as equações (3.9) e (3.13) para obter a expressão da concentração na superfície da resina:

$$-\frac{\partial C}{\partial t} = \left[ K_1 C_s \left( Q_m - \bar{Q}_{i,j} \right)^{1/n} - K_2 \bar{Q}_{i,j}^{1/n} \right] \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \quad (3.9)$$

$$j = Rc = \frac{3}{R} K_s (C_m - C_s) = -\frac{\partial C}{\partial t} = \left[ K_1 C_s \left( Q_m - \bar{Q}_{i,j} \right)^{1/n} - K_2 \bar{Q}_{i,j}^{1/n} \right] \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \quad (3.13)$$

Onde  $\bar{Q}_{i,j}$  é a concentração média de produto adsorvido na posição  $i$  e no tempo  $j$

assim isolando-se  $C_s$  tem-se

$$C_s = \frac{K_s C_m + K_2 \bar{Q}_{i,j}^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}}{K_s + K_1 (Q_m - \bar{Q}_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \quad (3.23)$$

então substituindo equação (3.21) na equação (3.8) chega-se a equação (3.22)

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -v \frac{\partial C_m}{\partial z} + E \frac{\partial^2 C_m}{\partial z^2} - K_s \left[ C_m - \frac{K_s C_m + K_2 \bar{Q}_{i,j} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}}{K_s + K_1 (Q_m - \bar{Q}_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \right] \frac{3}{R} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \quad (3.24)$$

Fazendo-se as aproximações numéricas segundo Crank-Nicholson tem-se

$$\frac{\partial C_m}{\partial t} = \frac{C_{m_{i,j+1}} - C_{m_{i,j}}}{\Delta t} \quad (3.25)$$

$$\frac{\partial C_m}{\partial Z} = \frac{1}{2} \left\{ \frac{C_{m_{i+1,j+1}} - C_{m_{i-1,j+1}}}{2\Delta Z} + \frac{C_{m_{i+1,j}} - C_{m_{i-1,j}}}{2\Delta Z} \right\} \quad (3.26)$$

$$\frac{\partial^2 C_m}{\partial Z^2} = \frac{1}{2} \left\{ \frac{C_{m_{i+1,j}} - 2C_{m_{i,j}} + C_{m_{i-1,j}}}{(\Delta Z)^2} + \frac{C_{m_{i+1,j+1}} - 2C_{m_{i,j+1}} + C_{m_{i-1,j+1}}}{(\Delta Z)^2} \right\} \quad (3.27)$$

substituindo as equações (3.25) (3.26) (3.27) na equação (3.24) obtemos a equação abaixo:

$$\begin{aligned} \frac{C_{m_{i,j+1}} - C_{m_{i,j}}}{\Delta t} = & -\frac{v}{2} \left\{ \frac{C_{m_{i+1,j+1}} - C_{m_{i-1,j+1}}}{2\Delta Z} + \frac{C_{m_{i+1,j}} - C_{m_{i-1,j}}}{2\Delta Z} \right\} + \\ & \frac{1}{2} E \left\{ \frac{C_{m_{i+1,j}} - 2C_{m_{i,j}} + C_{m_{i-1,j}}}{(\Delta Z)^2} + \frac{C_{m_{i+1,j+1}} - 2C_{m_{i,j+1}} + C_{m_{i-1,j+1}}}{(\Delta Z)^2} \right\} - \\ & K_s \left[ 1 - \frac{1}{1 + \frac{K_1}{K_s} (Q_m - \bar{Q}_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \right] \frac{3}{R} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) + \frac{K_2 + \bar{Q}_{i,j} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right)^2}{1 + \frac{K_1}{K_s} (Q_m - \bar{Q}_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \end{aligned} \quad (3.28)$$

Rearranjando a equação (3.28) obtemos o seguinte:

$$\begin{aligned}
 & - \left[ \frac{v}{4\Delta Z} + \frac{E}{2(\Delta Z)^2} \right] C_{m_{i-1,j+1}} + \left[ \frac{E}{(\Delta Z)^2} + \frac{1}{\Delta t} \right] C_{m_{i,j+1}} + \left[ \frac{v}{4\Delta Z} - \frac{E}{2(\Delta Z)^2} \right] C_{m_{i+1,j+1}} = \\
 & \left[ \frac{v}{4\Delta Z} + \frac{E}{2(\Delta Z)^2} \right] C_{m_{i-1,j}} + \left[ \frac{1}{\Delta t} - \frac{E}{(\Delta Z)^2} - K_s \left( 1 - \frac{1}{1 + \frac{K_1}{K_s} (Q_m - \bar{Q}_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \right) \frac{3 \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right)}{R} \right] C_{m_{i,j}} + \\
 & \left[ \frac{E}{2(\Delta Z)^2} - \frac{v}{4\Delta Z} \right] C_{m_{i+1,j}} + \frac{K_2 \bar{Q}_{i,j} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right)^2}{1 + \frac{K_1}{K_s} (Q_m - \bar{Q}_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \quad (3.29)
 \end{aligned}$$

definindo-se

$$\alpha = \left[ \frac{v}{4\Delta Z} + \frac{E}{2(\Delta Z)^2} \right] \quad (3.30)$$

$$\beta = \left[ \frac{E}{(\Delta Z)^2} + \frac{1}{\Delta t} \right] \quad (3.31)$$

$$\gamma = \left[ \frac{v}{4\Delta Z} - \frac{E}{2(\Delta Z)^2} \right] \quad (3.32)$$

$$\delta = \left[ \frac{1}{\Delta t} - \frac{E}{(\Delta Z)^2} \right] \quad (3.33)$$

então a equação assume a seguinte forma:

$$\begin{aligned}
 & \alpha C_{m_{i-1,j+1}} + \beta C_{m_{i,j+1}} + \gamma C_{m_{i+1,j+1}} = \\
 & \alpha C_{m_{i-1,j}} + \left\{ \delta - K_s \left[ 1 - \frac{1}{1 + \frac{K_1}{K_s} \left( Q_m - \bar{Q}_{i,j} \right)^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \right] \frac{3}{R} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \right\} C_{m_{i,j}} - \\
 & -\gamma C_{m_{i+1,j}} + \frac{K_2 \bar{Q}_{i,j} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right)^2}{1 + \frac{K_1}{K_s} \left( Q_m - \bar{Q}_{i,j} \right)^{1/n} \left( \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{R}{3}} \quad (3.34)
 \end{aligned}$$

Esta equação da origem a um sistema de matrizes tridiagonais que podem ser resolvidas por métodos tradicionais como o de CHAPRA & CANALE, (1990).

### 3.5 - Resistência à transferência de massa interna

Além dos efeitos de transferência de massa externa, geralmente existem resistência à difusão interna. Devido ao efeito difusional e a cinética de reação no interior do suporte, forma-se um perfil de concentração para uma dada partícula porosa. Aplicando-se um balanço de massa envolvendo difusão e reação química, FROUWS & COL (1976) obtiveram para suportes de formato esférico em regime permanente:

$$D_{ef} \left[ \frac{\partial^2 C(r)}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C(r)}{\partial r} \right] = r(c) \quad (3.35)$$

$C(r)$  = Concentração da cefalosporina na posição radial ( $r$ )

$r(c)$  = Taxa de reação na posição radial ( $r$ )

onde:

$$r(c) = \left[ K_1 C_{(r)} (Q_m - Q_{(r)})^{1/n} - K_2 Q_{(r)}^{1/n} \right] \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) \quad (3.36)$$

mais

$$\bar{Q}_{(L,t)} = Q_{(r)} = \frac{3}{R} \sum_{r=0}^{r=R} Q_{(r)} r^2 \Delta r \quad (3.37)$$

Onde  $\bar{Q}_{(L,t)}$  é a concentração média de cefalosporina C adsorvida na resina no ponto L da coluna e no instante t.

Com as seguintes condições de contorno:

$$r = 0 \quad \rightarrow \quad \frac{\partial C}{\partial r} = 0 \quad (3.38)$$

$$r = 1 \quad (r = R) \quad \rightarrow \quad K_s (C_m - C_s) = D_{ef} \frac{\partial C}{\partial r} \quad (3.39)$$

O balanço de massa de cefalosporina no interior da partícula gera a seguinte equação:

$$D_{ef} \left[ \frac{\partial^2 C_{(r)}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C_{(r)}}{\partial r} \right] - r(c) = \frac{\partial C}{\partial t} \quad (3.40)$$

Fazendo as aproximações numéricas segundo Crank-Nickolson tem-se:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{C_{i,j+1} - C_{i,j}}{\Delta t} \quad (3.41)$$

$$\frac{\partial C}{\partial r} = \frac{1}{2} \left\{ \frac{C_{i+1,j+1} - C_{i-1,j+1}}{2\Delta r} + \frac{C_{i+1,j} - C_{i-1,j}}{2\Delta r} \right\} \quad (3.42)$$

$$\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} = \frac{1}{2} \left\{ \frac{C_{i+1,j} - 2C_{i,j} + C_{i-1,j}}{(\Delta r)^2} + \frac{C_{i+1,j+1} - 2C_{i,j+1} + C_{i-1,j+1}}{(\Delta r)^2} \right\} \quad (3.43)$$

$$\frac{\partial Q}{\partial t} = \left[ K_1 C_{(r)} (Q_m - Q_{(r)})^{1/n} - K_2 Q_{(r)}^{1/n} \right] \quad (3.44)$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{2}{r} D_{ef} \frac{\partial C}{\partial r} + D_{ef} \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} - \frac{\partial Q}{\partial t} \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) \quad (3.45)$$

Substituindo equações (3.36) (3.41) (3.42) e (3.43) na equação (3.45):

obtemos:

$$\begin{aligned} \frac{C_{i,j+1} - C_{i,j}}{\Delta t} = & \frac{1}{r} \left\{ \frac{C_{i+1,j+1} - C_{i-1,j+1}}{2\Delta r} + \frac{C_{i+1,j} - C_{i-1,j}}{2\Delta r} \right\} + \\ & \frac{1}{2} D_{ef} \left\{ \frac{C_{i+1,j} - 2C_{i,j} + C_{i-1,j}}{(\Delta r)^2} + \frac{C_{i+1,j+1} - 2C_{i,j+1} + C_{i-1,j+1}}{(\Delta r)^2} \right\} - \\ & \left[ K_1 C_{i,j} (Q_m - Q_{i,j})^{1/n} - K_2 Q_{i,j}^{1/n} \right] \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) \end{aligned} \quad (3.46)$$

Rearrajando-se:

$$\begin{aligned} & \left[ \frac{1}{\Delta t} - \frac{1}{2} D_{ef} \left( \frac{-2}{(\Delta r)^2} \right) \right] C_{i,j+1} + \left[ \frac{1}{\Delta t} + \frac{1}{2} D_{ef} \left( \frac{-2}{(\Delta r)^2} \right) + \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) K_1 (Q_m - Q_{i,j})^{1/n} \right] C_{i,j} \\ & + \left[ \frac{1}{r} \left( \frac{1}{2\Delta r} \right) - \frac{1}{2} D_{ef} \left( \frac{1}{(\Delta r)^2} \right) \right] C_{i+1,j+1} + \left[ -\frac{1}{r} \left( \frac{1}{2\Delta r} \right) - \frac{1}{2} D_{ef} \left( \frac{1}{(\Delta r)^2} \right) \right] C_{i-1,j+1} \\ & + \left[ \frac{1}{r} \left( \frac{1}{2\Delta r} \right) - \frac{1}{2} D_{ef} \left( \frac{1}{(\Delta r)^2} \right) \right] C_{i+1,j} + \left[ -\frac{1}{r} \left( \frac{1}{2\Delta r} \right) - \frac{1}{2} D_{ef} \left( \frac{1}{(\Delta r)^2} \right) \right] C_{i-1,j} + \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) K_2 Q_{i,j}^{1/n} \end{aligned}$$

agrupando

$$\begin{aligned}
 & \left[ \frac{1}{2r\Delta r} + \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} \right]_{\alpha_1} C_{i-1,j+1} + \left[ \frac{1}{\Delta t} + \frac{D_{ef}}{(\Delta r)^2} \right]_{\beta_1} C_{i,j+1} + \left[ \frac{1}{2r\Delta r} - \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} \right]_{\gamma_1} C_{i+1,j+1} = \\
 & \left[ \frac{1}{2r\Delta r} + \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} \right]_{\alpha_1} C_{i-1,j} + \left[ \frac{1}{\Delta t} + \frac{D_{ef}}{(\Delta r)^2} - K_1(Q_m - Q_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) \right]_{\beta_1} C_{i,j} + \\
 & + \left[ \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} - \frac{1}{2r\Delta r} \right]_{-\gamma_1} C_{i+1,j} + \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) K_2 Q_{i,j}^{1/n} \tag{3.47}
 \end{aligned}$$

igualando e tendo em consideração que:  $r = \Delta r i$  tem-se

$$\alpha_1 = \left[ \frac{1}{2r\Delta r} + \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} \right] = \alpha_{1[\Pi]} = \left[ \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} \left( 1 - \frac{1}{i} \right) \right] \tag{3.48}$$

$$\beta_1 = \left[ \frac{1}{\Delta t} + \frac{D_{ef}}{(\Delta r)^2} \right] \tag{3.49}$$

$$\gamma_1 = \left[ \frac{1}{2r\Delta r} - \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} \right] = \gamma_{1[\Pi]} = \left[ \frac{D_{ef}}{2(\Delta r)^2} \left( \frac{1}{i} + 1 \right) \right] \tag{3.50}$$

$$\delta_1 = \left[ \frac{1}{\Delta t} - \frac{D_{ef}}{(\Delta r)^2} \right] \tag{3.51}$$

Então a equação geral para transferência de massa interna tendo em consideração que  $i$  é a posição radial e  $j$  o tempo, fica;

$$-\alpha_{1[\Pi]} C_{i-1,j+1} + \beta_{1} C_{i,j+1} + \gamma_{1[\Pi]} C_{i+1,j+1} = \alpha_{1} C_{i-1,j} +$$

$$\left[ \delta_{1} - K_{1}(Q_m - Q_{i,j})^{1/n} \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) \right] C_{i,j} - \gamma_{1} C_{i+1,j} + \left( \frac{1}{\varepsilon_p} \right) K_{2} Q_{i,j}^{1/n} \quad (3.52)$$

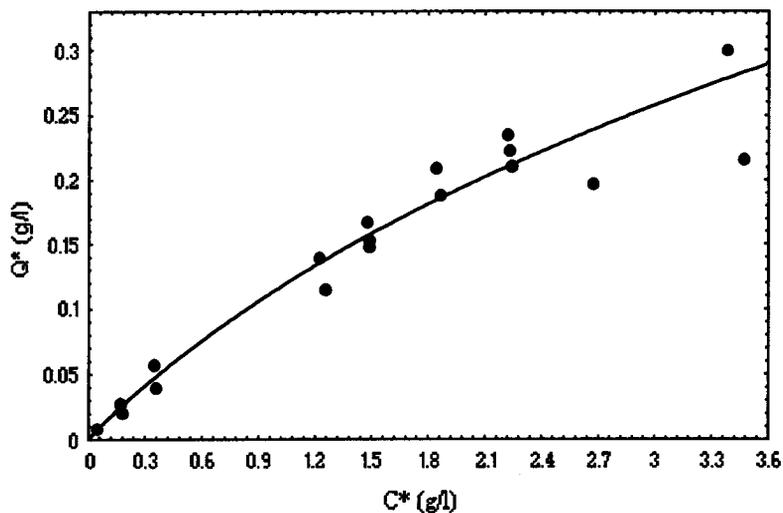
## IV - RESULTADOS

Neste trabalho, as simulações do processo de adsorção de cefalosporina C em coluna de leito fixo foram efetuadas utilizando as resoluções numérica de Crank-Nicholson e Runge Kutta de quarta ordem. O modelo desenvolvido incorpora as características típicas de uma coluna de leito fixo recheadas com partículas porosas esquematicamente representada na Figura 3.1. As seguintes considerações básicas são necessárias para o modelo geral usado neste estudo.

O modelo é baseado num processo isotérmico de um único soluto em fluxo disperso através de uma coluna contendo partículas porosas. O líquido principal tem uma concentração de soluto  $C(z,t)$ , com uma velocidade superficial  $v$  através de um leito de comprimento  $L$  e fração de vazio  $\varepsilon$ . As partículas são esféricas com raio  $R$  e porosidade  $\varepsilon_p$ . A concentração do soluto adsorvido na resina porosa é  $q(r,z,t)$  e a concentração de soluto nos poros é  $C(r,z,t)$ . A transferência de massa para a superfície do adsorvente é governada por um modelo de filme (FOO & RICE, 1975), caracterizado por um coeficiente de transferência de massa  $K_s$ .

O estudo foi dividido em duas partes. Na primeira estudou-se o comportamento do modelo e da coluna em face aos resultados obtidos das simulações. Na segunda e última parte efetuou-se um estudo paramétrico visando a determinação do fator de sensibilidade, tendo como parâmetro a eficiência da coluna, frente à variação de parâmetros cinéticos, físicos e operacionais. Para a modelagem do processo foram utilizados os dados cinéticos preliminares obtidos por BARBOSA *et al.* (1996) em estudo da cinética de adsorção de cefalosporina C em resina XAD-2.

Assim sendo, utilizou-se a curva de equilíbrio (Figura 4.1) obtida por BARBOSA *et al.* (1996) para a determinação dos valores de  $Q_m$  e  $K_D$  e de um valor arbitrário de  $k_1$  para análise do comportamento do modelo do processo, baseando-se nos dados de CHASE (1984), utilizados por KAMIMURA (1995). A curva de equilíbrio foi obtida experimentalmente através de ensaios preliminares em batelada em frascos agitados contendo 20 ml de solução de cefalosporina C e 1 g de resina amberlite XAD-2. As concentrações iniciais e finais foram determinadas através de um espectrofotômetro UV a 263nm.



**Figura 4.1** - Curva de equilíbrio com dados experimentais (●) e ajuste do modelo cinético proposto (-) com coeficiente de correlação:  $r^2=0,95$ , para adsorção de cefalosporina C em resina amberlite XAD-2. (BARBOSA, *et al.* 1996).

As simulações foram feitas para demonstrar a eficiência e robustez de um algoritmo de computador, baseado num procedimento numérico usando diferenças finitas, para o estudo do efeito da concentração de saída da cefalosporina, porosidade e tamanho da partícula, comprimento e diâmetro da coluna e taxa de fluxo na curva de rompimento de uma coluna com partículas porosas.

A concentração de cefalosporina na fase líquida é calculada em relação ao tempo, isto é, na forma de uma curva de rompimento. O tempo de passagem é definido como o tempo requerido para a concentração da cefalosporina alcançar 10% da concentração de cefalosporina na entrada da coluna ( $C = 0,1 C_0$ ).

A Figura 4.2 mostra uma curva típica de rompimento para o caso de adsorção segundo SRIDHAR *et al* (1994). Muito da informação necessária para calcular a performance da coluna está contida nesta curva. Sua forma é um resultado de uma complexa mistura do processo de equilíbrio e não equilíbrio. O soluto leva 10 minutos para alcançar o fundo da coluna, e portanto, não existe fluido saindo antes desse tempo. A solução que sai em 10 minutos contém soluto não adsorvido em uma concentração que depende da capacidade da coluna. A partir de 10 minutos a concentração de soluto no efluente cresce com o tempo.

Após longos tempos, a coluna torna-se saturada, e a concentração do efluente iguala-se a concentração que alimenta a coluna. A capacidade máxima da coluna para uma dada concentração de entrada é igual a área atrás da curva de rompimento. A quantidade de soluto que permanece no efluente é representada pela área sob a curva. Para propósitos qualitativos de comparação, isto é, a eficiência de recuperação do soluto e a eficiência da utilização do leito, são definidas em termos das áreas  $S_1$  (= capacidade da coluna usada),  $S_2$  (=alimentação residual),  $S_3$  (=capacidade da coluna não usada) como mostrado na Figura 4.2.

Eficiência de recuperação do soluto =  $S_1/(S_1+S_2)$ .

Eficiência de utilização do leito =  $S_1/(S_1+S_3)$ .

O tempo de rompimento e o formato da curva (Figura 4.2) afetam a eficiência de adsorção. A eficiência de recuperação do soluto e utilização do leito são calculados pela concentração de  $C=0,1 C_0$ .

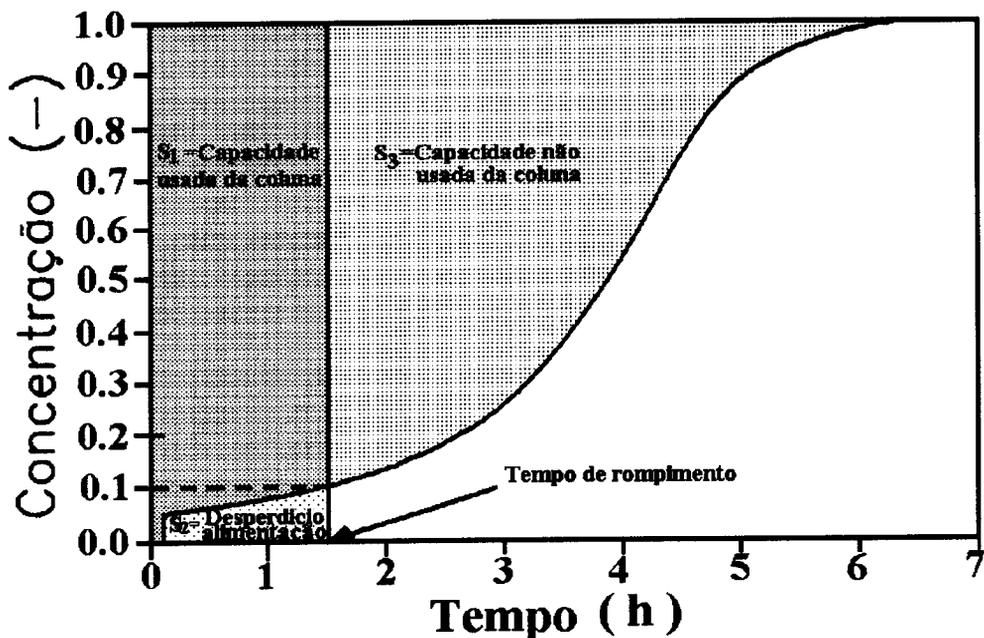


Figura 4.2 - Curva típica de rompimento para o caso de adsorção em coluna de leito fixo.

Os parâmetros operacionais e cinéticos utilizados estão apresentados na Tabela 4.1 a seguir:

**Tabela 4.1** - Valores dos parâmetros utilizados na simulação do modelo proposto

---

$L=1,04 \times 10^{-1} \text{ m}$
$\theta=1,8 \times 10^{-2} \text{ m}$
$\varepsilon=0,36 \text{ *}$
$\varepsilon_p=0,42 \text{ **}$
$d_p=2,97 \times 10^{-4} \text{ m}^{**}$
$C_o=9,6 \text{ mol/m}^3$
$Q_m=1,4 \text{ mol/m}^3 \text{ *}$
$K_d=7,9 \text{ mol/m}^3 \text{ *}$
$k_1=227,85 [\text{mol/m}^3]^{-1/n} \text{ h}^{-1} \text{ *}$
$k_2=1,8 [\text{mol/m}^3]^{n-1/n} \text{ h}^{-1} \text{ ***}$
$n=0,9 \text{ *}$
$v=3 \times 10^{-2} \text{ m/h}$
$E=1 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{h}$
$K_s=2,95 \times 10^{-2} \text{ m}^2/\text{h}$
$D_{ef}=7.2 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{h} \text{ ***}$
$D_m=1 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{h} \text{ *}$

---

\*BARBOSA *et al.* (1996);

\*\*ROHM & HAAS-Boletim técnico (1989);

\*\*\*KIRKBY *et al.* (1986).

\*\*\*\*CHASE (1984)

A Figura 4.3 mostra o comportamento típico da coluna para uma vazão de alimentação de  $2.75 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{h}$ . A Figura 4.3A representa o perfil de concentração dada pela curva de rompimento da coluna e a Figura 4.3B representa o perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida, ao longo da coluna, no tempo. Analisando a Figura 4.3B, onde estão graficados os dados de simulação e uma curva de superfície média, verifica-se que a saturação ao longo da coluna é gradativa, sendo que após 6 horas de operação ela atinge a saturação total. Esta saturação pode ser visualizada tanto na curva de rompimento Figura 4.3A quanto no ponto  $Z=1$  (saída) da coluna na Figura 4.3B.

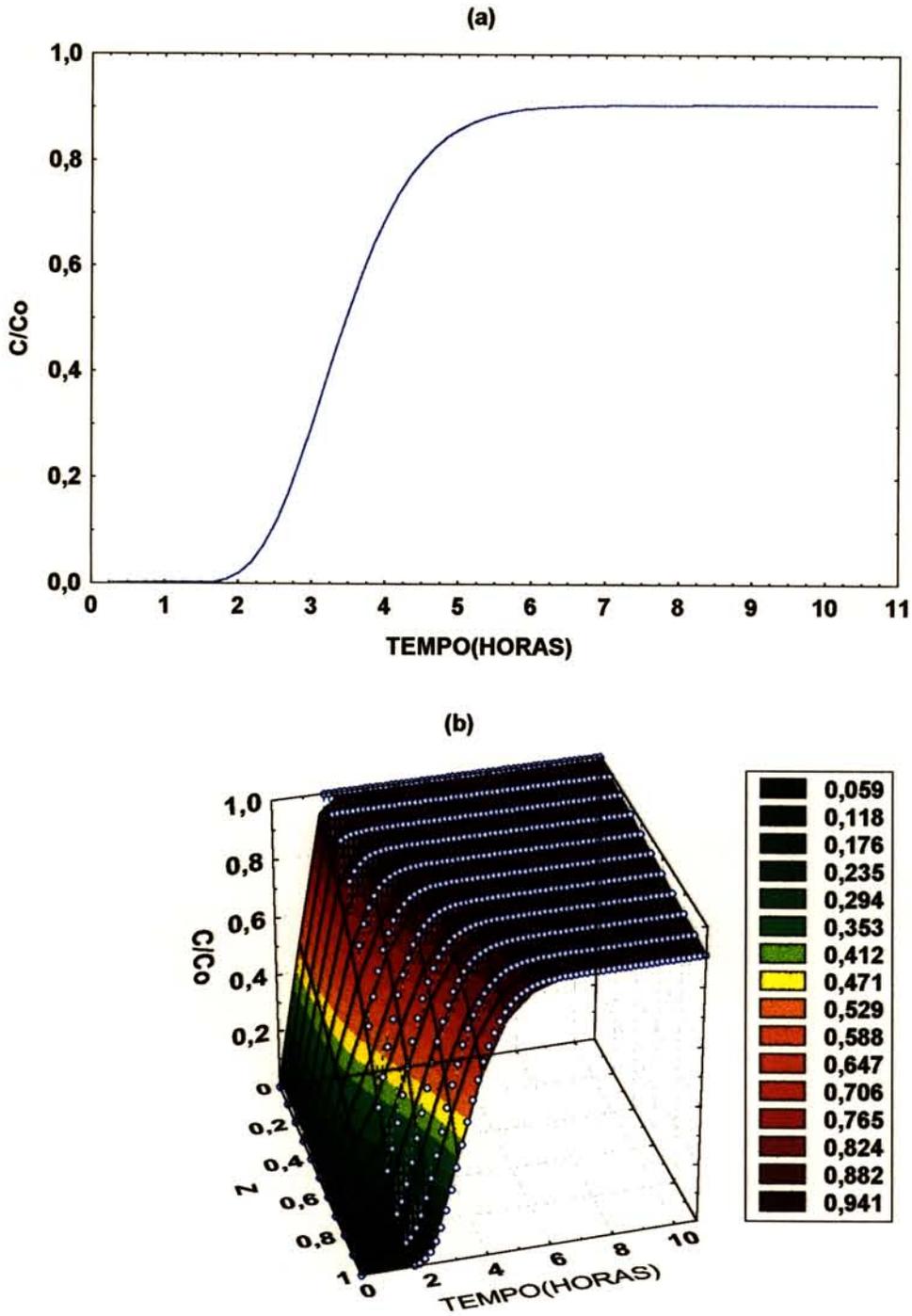


Figura 4.3 Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação: (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

É interessante notar que esta saturação não é total, pois  $C/C_0$  é menor do que um na saída da coluna mesmo após 10 horas de operação. Este fenômeno pode ser explicado pelo problema difusional que limita o processo de adsorção, afetando negativamente a eficiência da coluna.

Este processo pode ser mais facilmente visualizado a partir da Figura 4.4. Nesta figura, onde estão graficados os dados de simulação e curvas de superfície médias obtidas por mínimos quadrados, estão representados 4 pontos distintos da coluna ( $L=0.1, 0.4, 0.7, e 1$ ). Cada gráfico representa a razão da quantidade de cefalosporina C efetivamente adsorvida ( $Q$ ) pela quantidade que estaria adsorvida no equilíbrio hipotético ( $Q^*$ ), no respectivo ponto da coluna, em função do raio da partícula e do tempo. É de se salientar que o ajuste da superfície deixa um pouco a desejar, mas a sua função é mais de facilitar a visualização dos resultados.

A análise da Figura 4.4 mostra que a adsorção ocorre principalmente nas camadas externas da partícula, atingindo praticamente zero para  $r \leq 0,5$ . Além disso, a quantidade adsorvida está muito aquém da concentração de equilíbrio. Isto pode ser verificado em qualquer ponto da coluna como ilustram os gráficos de A a D. O máximo valor é obtido na entrada da coluna (Figura 4.4 A),  $Q/Q^*=0,046$ , ou seja, menos do que 5% do valor de equilíbrio, e este valor atinge 0,042 Figura 4.4D na saída da coluna. Esta baixa eficiência é devido principalmente às resistências de transferência de massa externa, que diminua a concentração de cefalosporina em fase líquida na superfície da partícula, e interna que faz com que a adsorção se processe preferencialmente nas camadas externas da partícula.

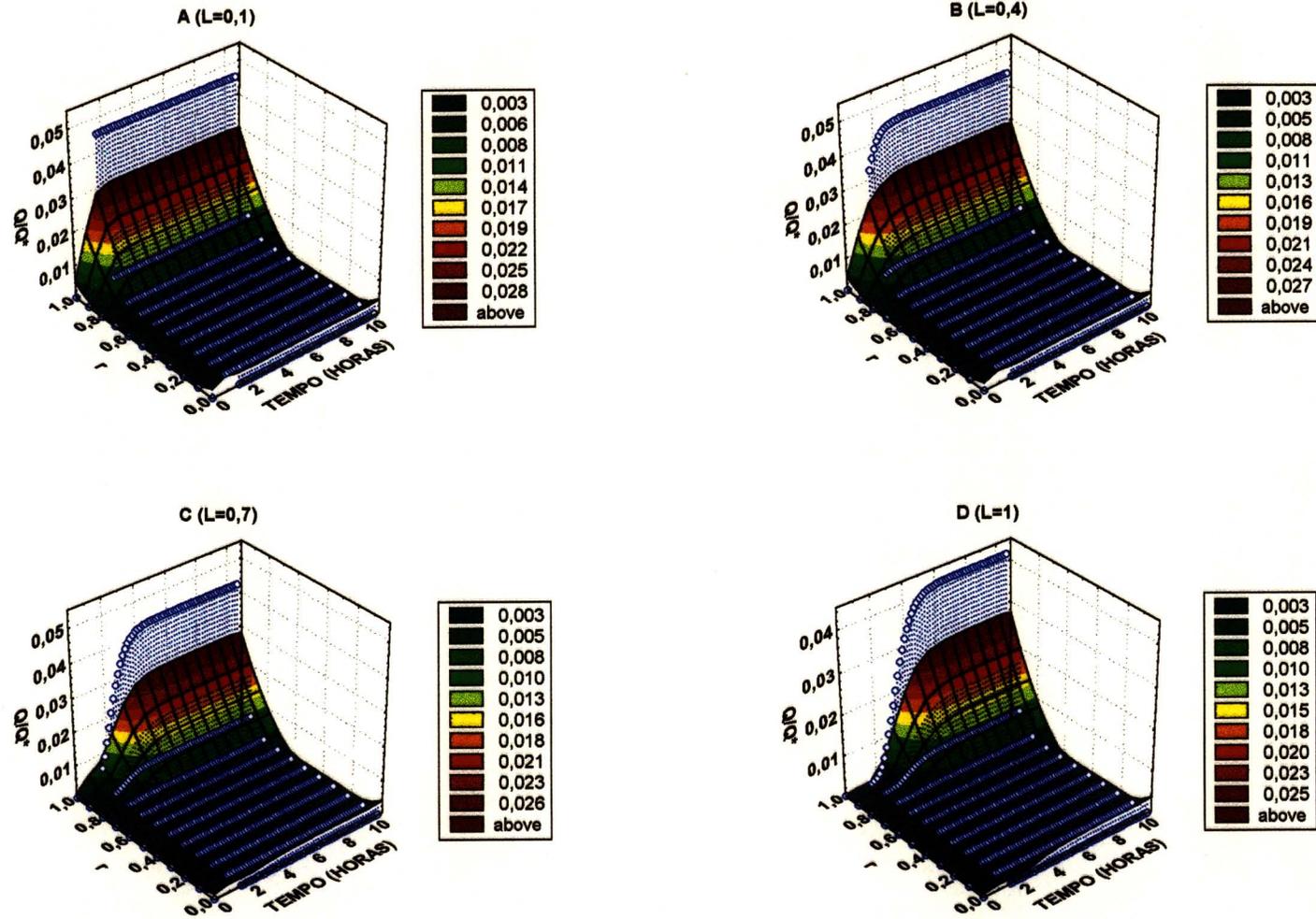


Figura 4.4 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, usando os parâmetros da Tabela 4.1: A( $L=0,1$ ), B( $L=0,4$ ), C( $L=0,7$ ), D( $L=1$ ).

Para melhor estabelecer estes problemas de resistência à transferência de massa, pode-se utilizar o número de DANMKOHLER que é a relação das velocidades máximas de reação e transferência de massa.

As equações abaixo representam o número de DAMKOHLER em relação a resistência externa

$$Da = \frac{R^2 K_1^2 C_0 Q_m^{1/n}}{K_2 K_s} \quad (4.1)$$

e resistência interna

$$Da = \frac{R^2 K_1^2 C_0 Q_m^{1/n}}{K_2 D_{ef}} \quad (4.2)$$

Os resultados de  $Da = 0,3$  para o primeiro caso e  $Da = 1,2 \times 10^{-4}$  para o segundo caso significam que a limitação do processo se dá na transferência de massa interna, ou seja, a difusão é a etapa limitante do processo.

Esta característica de baixa eficiência já é conhecida dos pesquisadores, como foi verificado por HICKETIER *et al* (1989) e FIROUZTALE *et al* (1994). sendo uma das desvantagens na utilização desta resina. Em situação semelhante, é difícil melhorar a eficiência do processo através da variação dos parâmetros cinéticos e operacionais. Para averiguar a influência destes parâmetros na eficiência da coluna, procedeu-se a um estudo paramétrico mostrado a seguir.

Segundo KAMIMURA 1995, a modelagem e simulação torna possível estudar o efeito de alterações nos parâmetros operacionais e cinéticos do processo, e com isso possibilitar uma análise do comportamento do sistema.

YANG & TSAO 1982, mostra que através da modelagem matemática as taxas de adsorção podem tornar-se processos bem estabelecidos e podem fornecer a base para aplica-la em diferentes problemas para purificação de macromoléculas biológicas.

Para se ter uma idéia dos parâmetros que mais influenciam no processo, fez-se a análise paramétrica, onde esses parâmetros foram variados em 25% acima do valor de referência como ilustrado na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2** - Valores dos parâmetros que foram alterados 25% acima dos valores dos parâmetros de referência.

---

$L=1,3 \times 10^{-1} \text{ m}$
$\theta=2,25 \times 10^{-2} \text{ m}$
$\varepsilon=0,45 \text{ *}$
$\varepsilon_p=0,525 \text{ *}$
$d_p=3,71 \times 10^{-4} \text{ m}$
$C_o=12 \text{ mol/m}^3$
$Q_m=1,75 \text{ mol/m}^3 \text{ *}$
$k_1=284,81 [\text{mol/m}^3]^{(-1/n)} \text{ *}$
$k_2=2,25 [\text{mol/m}^3]^{(n-1)/n} \text{ h}^{-1} \text{ ****}$
$v=3,75 \times 10^{-2} \text{ m/h}$
$E=1,25 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{h}$
$K_s=3,69 \times 10^{-2} \text{ m}^2/\text{h}$
$D_{ef}=9 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{h} \text{ ***}$

---

\*BARBOSA *et al.* (1996);

\*\*ROHM & HAAS-Boletim técnico (1989);

\*\*\*KIRKBY *et al.* (1986).

\*\*\*\*CHASE (1984)

As Figuras 4.5 a 4.30 mostram os resultados obtidos nas simulações com cada parâmetro alterado. A análise destas figuras mostra que a alteração nos valores dos diferentes parâmetros não altera substancialmente o funcionamento da coluna. Os gráficos são praticamente coincidentes e também se assemelham às Figuras 4.3 e 4.4, que representam a situação de referência. Em outros termos, pode-se dizer que a eficiência do processo é relativamente pouco afetada dentro da amplitude de alteração efetuada dos parâmetros.

No entanto, para melhor equacionar este fenômeno, estes resultados foram transformados em fator de sensibilidade, tendo como parâmetro a eficiência da coluna, detalhado a seguir.

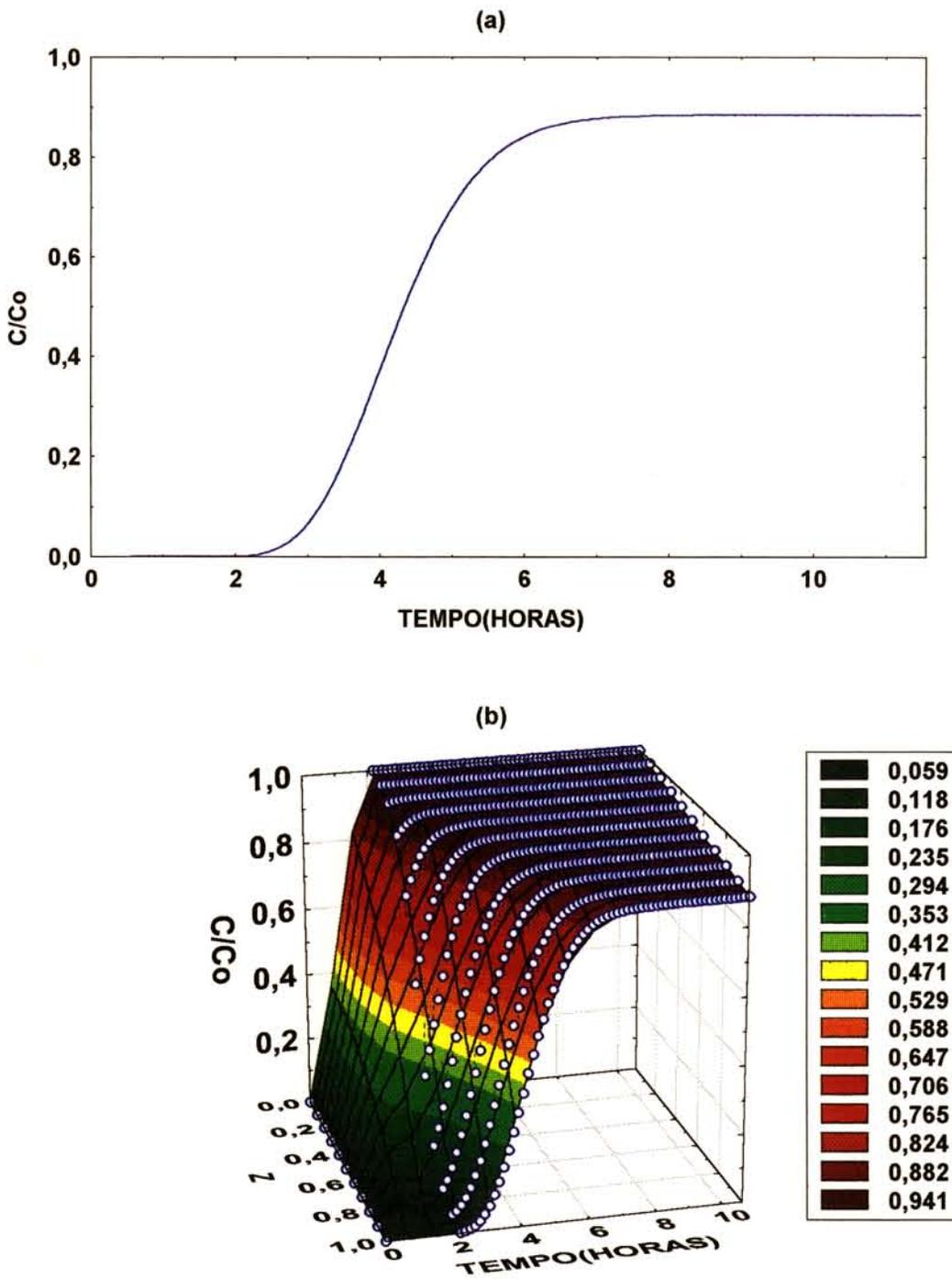


Figura 4.5 Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25 % de variação no comprimento da coluna (L): (a) curva de rompimento da coluna. (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

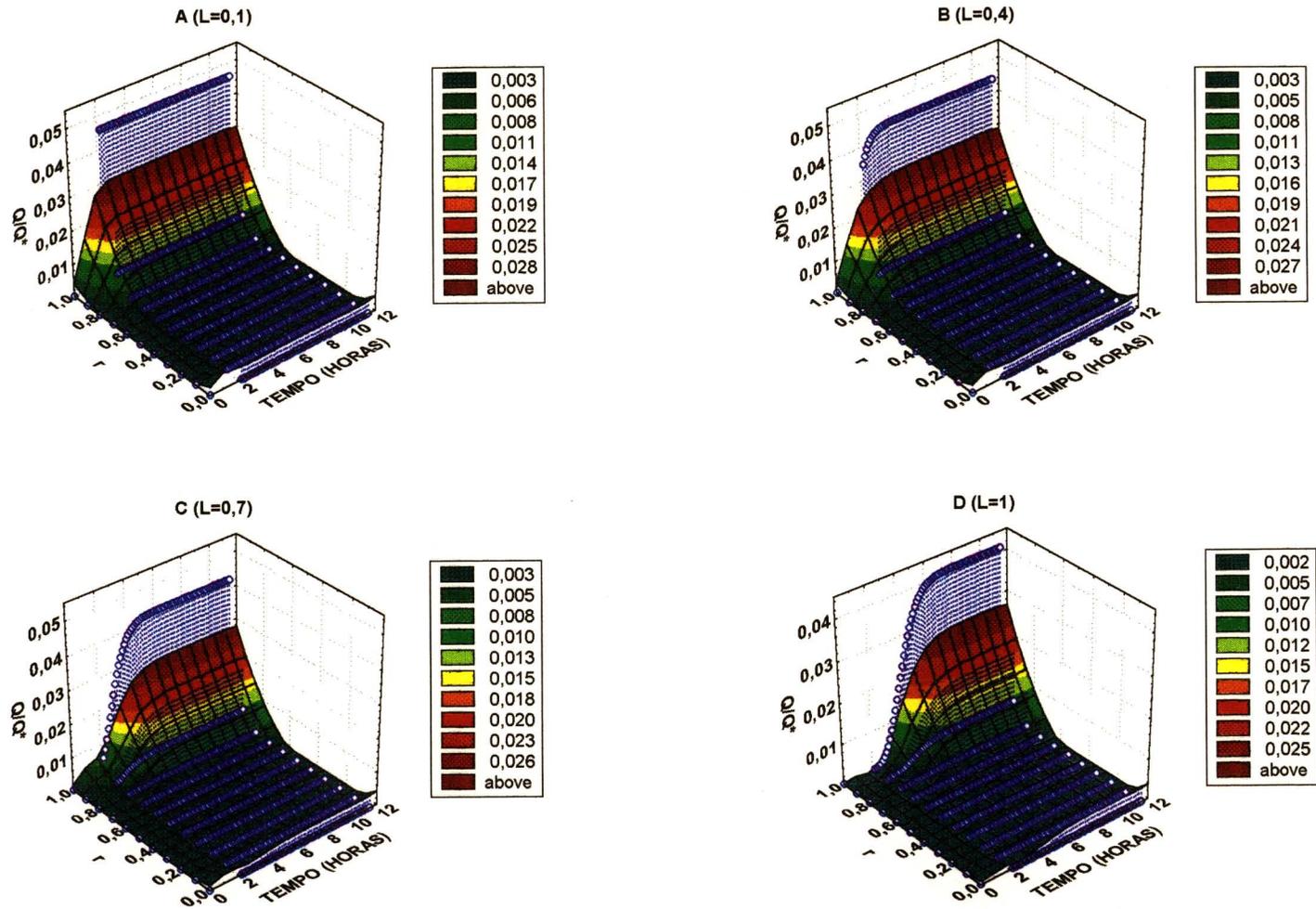


Figura 4.6 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% no comprimento da coluna ( $L$ ): A( $L=0,1$ ), B( $L=0,4$ ), C( $L=0,7$ ), D( $L=1$ ).

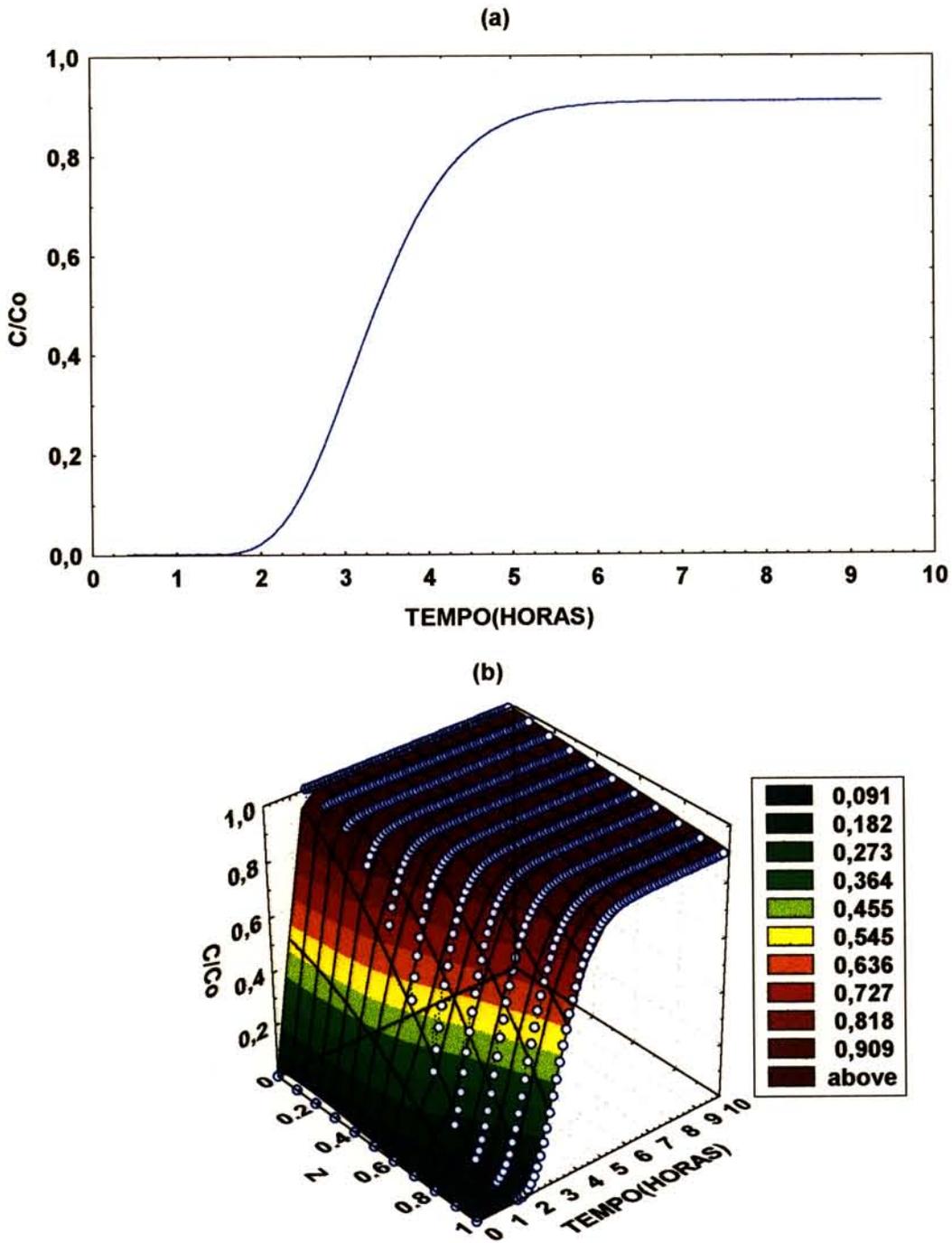
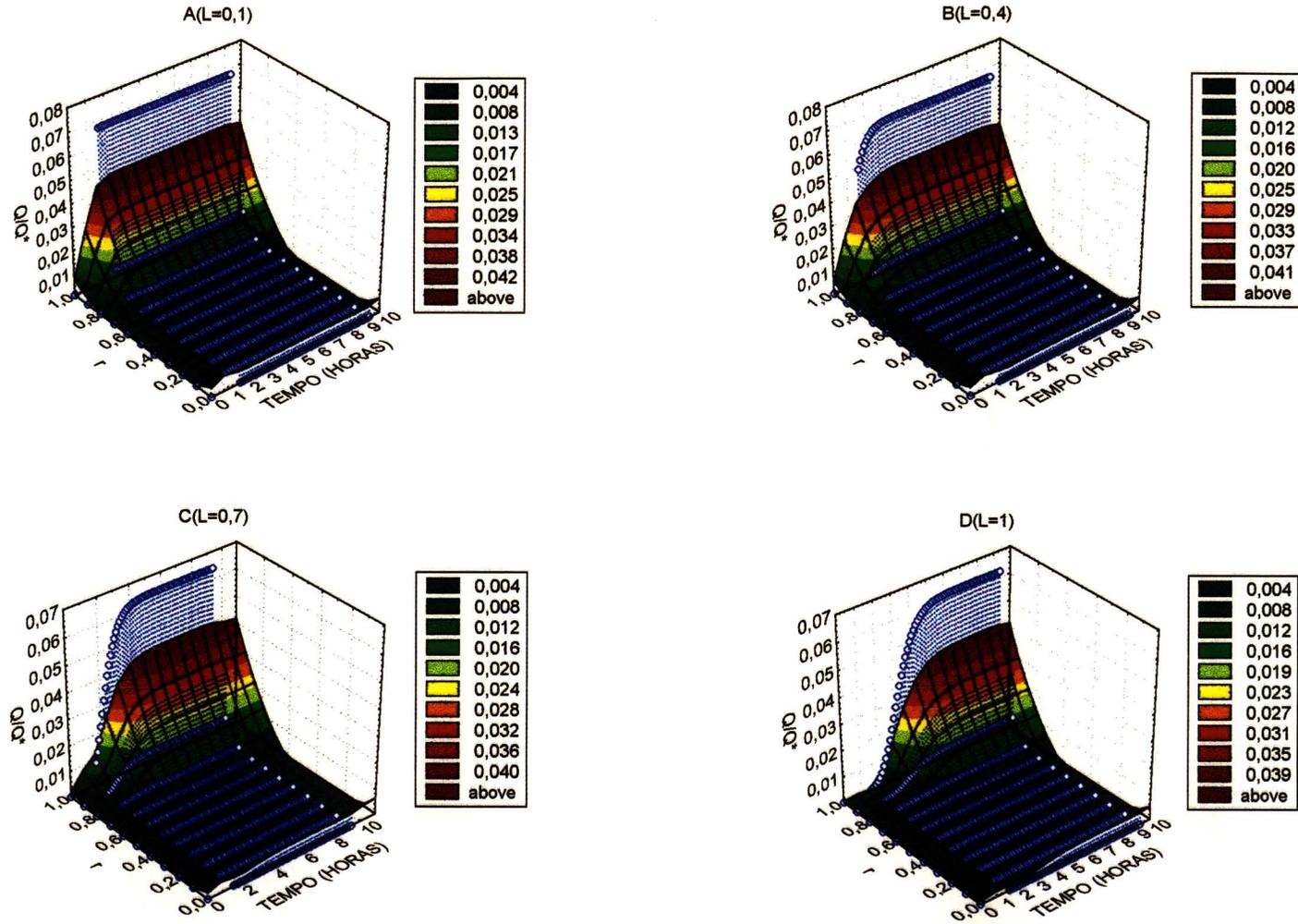


Figura 4.7 Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25 % de variação no diâmetro da coluna ( $\theta$ ): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.



**Figura 4.8** Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% no diâmetro da coluna ( $\theta$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1).

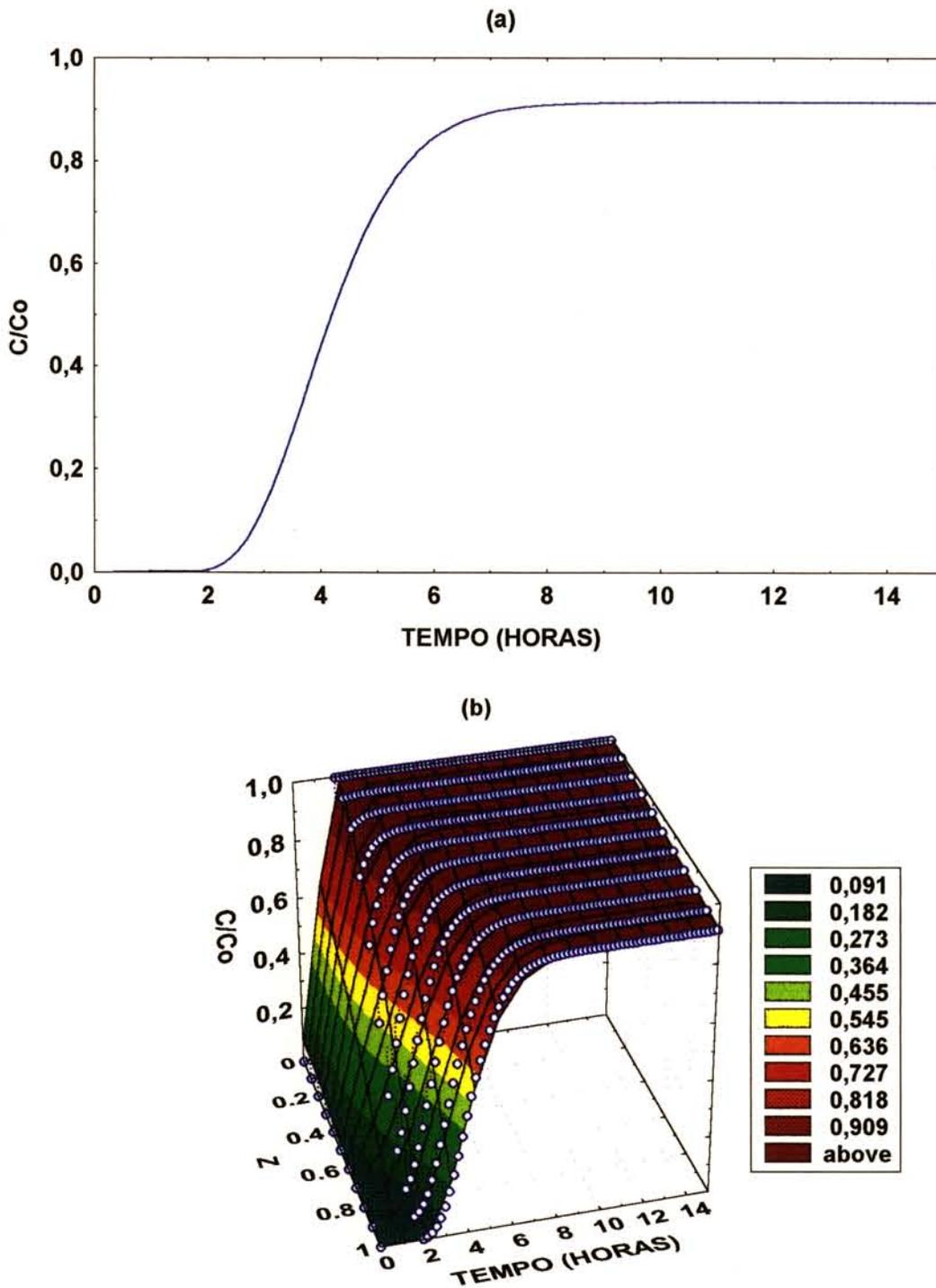


Figura 4.9 Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na porosidade do leito ( $\epsilon$ ): (a) curva de rompimento da coluna (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

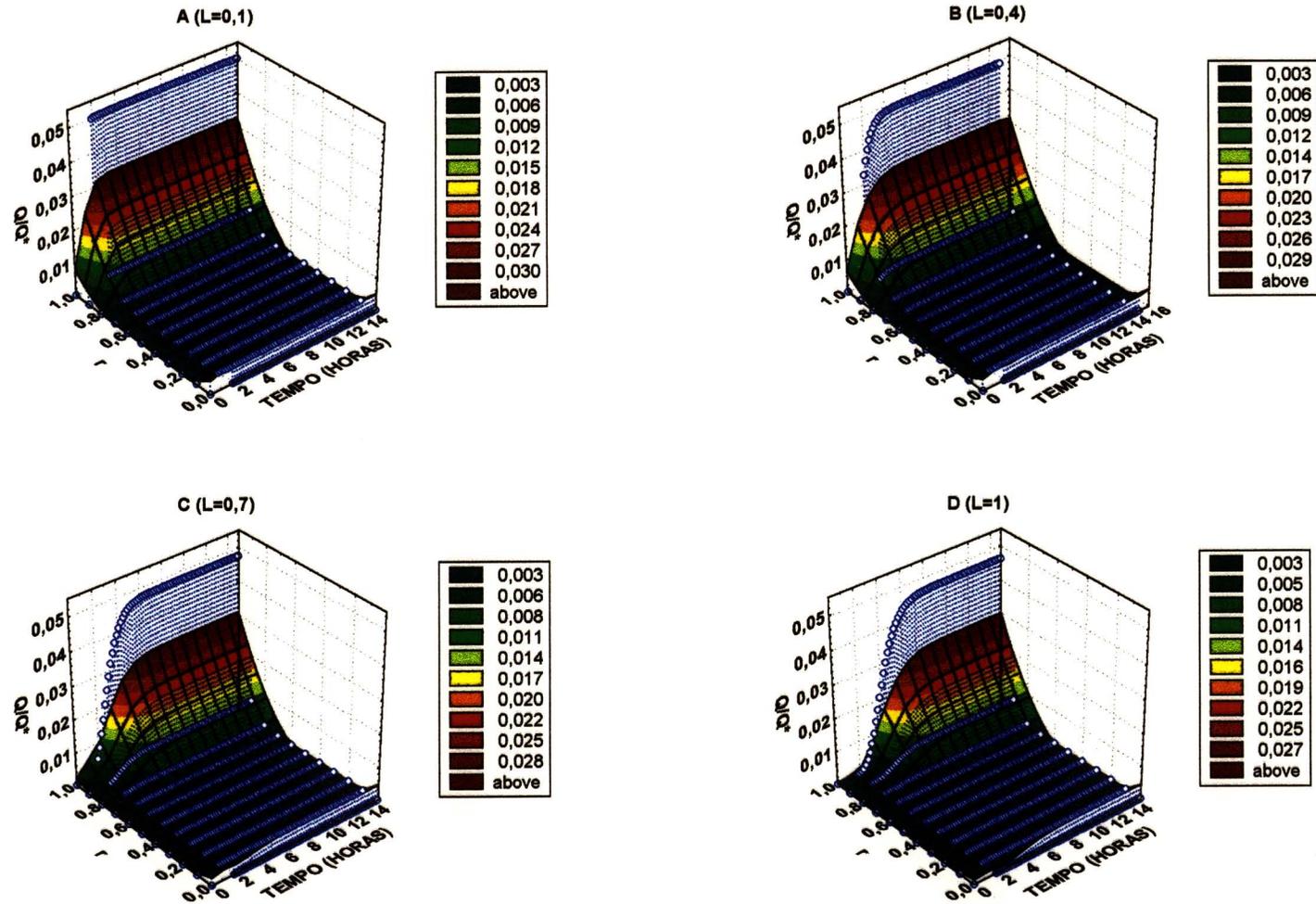


Figura 4.10 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na porosidade do leito ( $\varepsilon$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1).

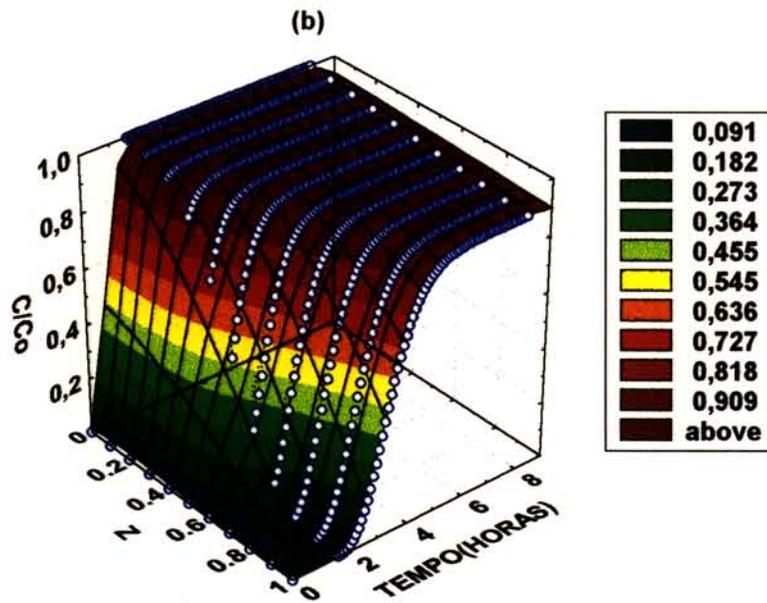
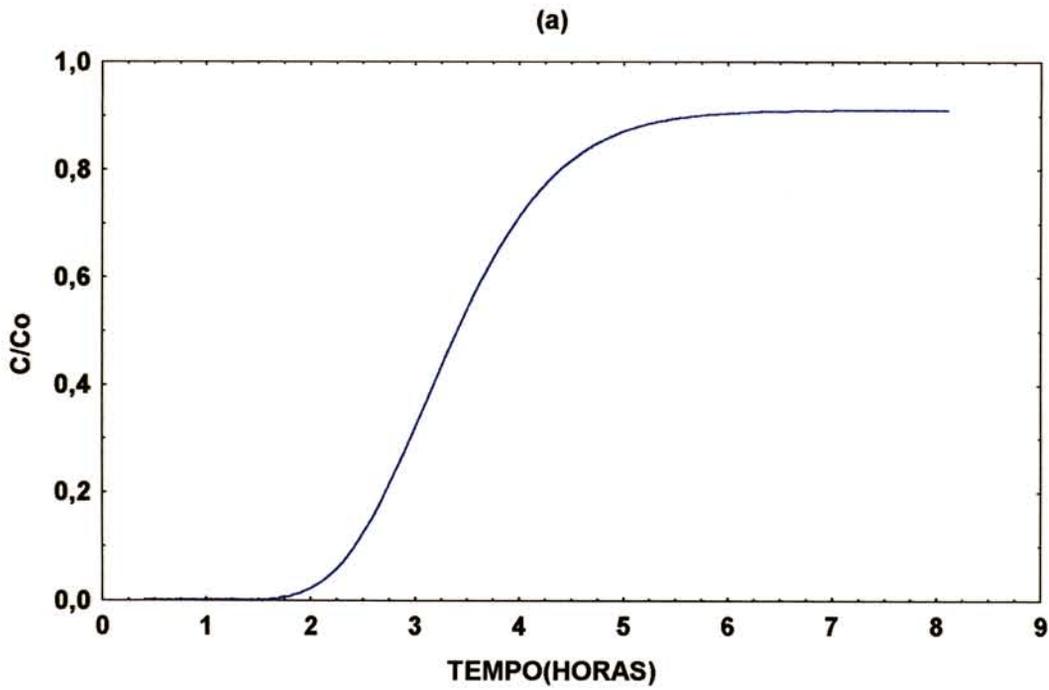


Figura 4.11 Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na porosidade da partícula ( $\epsilon_p$ ): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

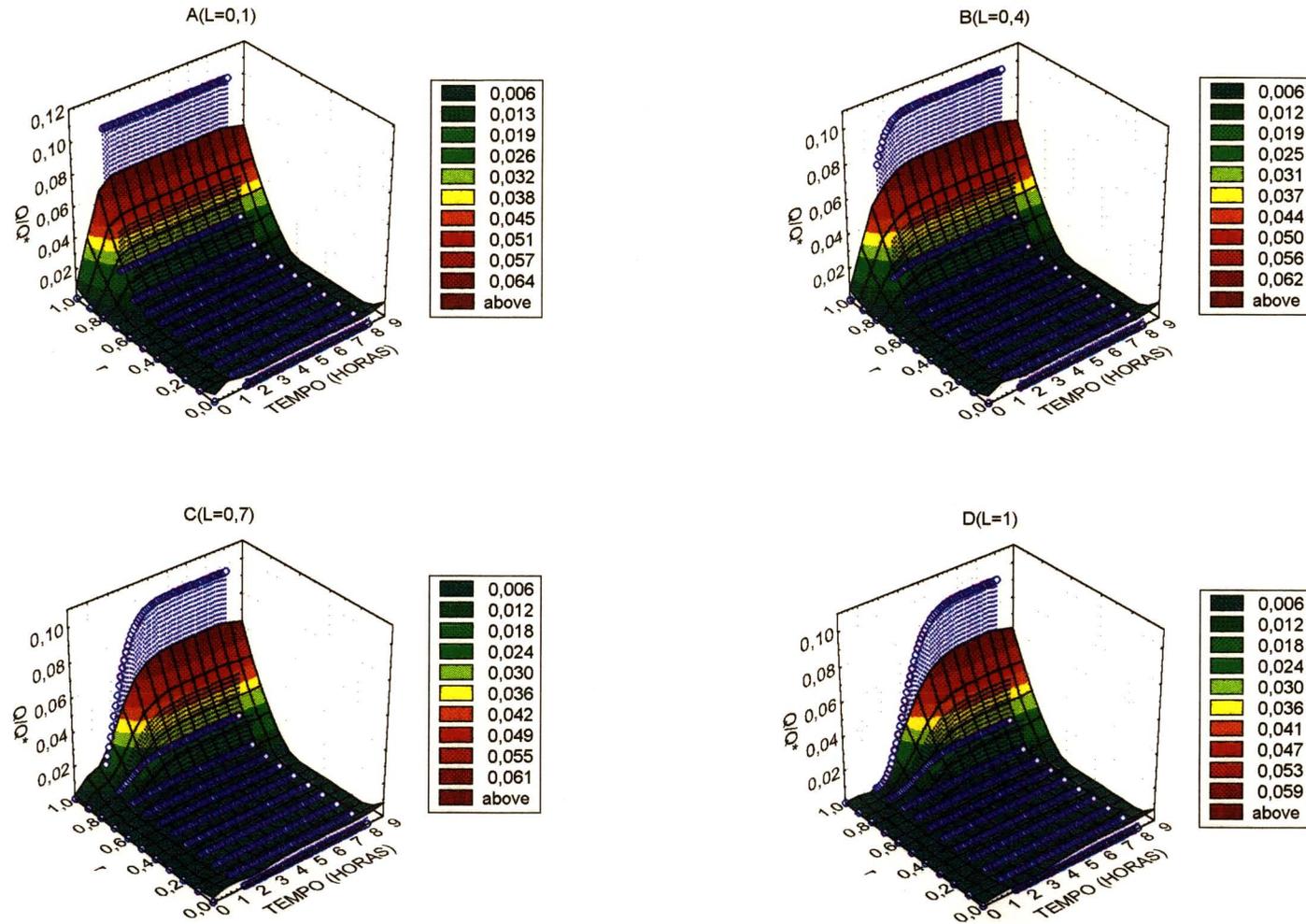


Figura 4.12 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na porosidade da partícula ( $\epsilon_p$ ): A ( $L=0,1$ ), B ( $L=0,4$ ), C ( $L=0,7$ ), D ( $L=1$ ).

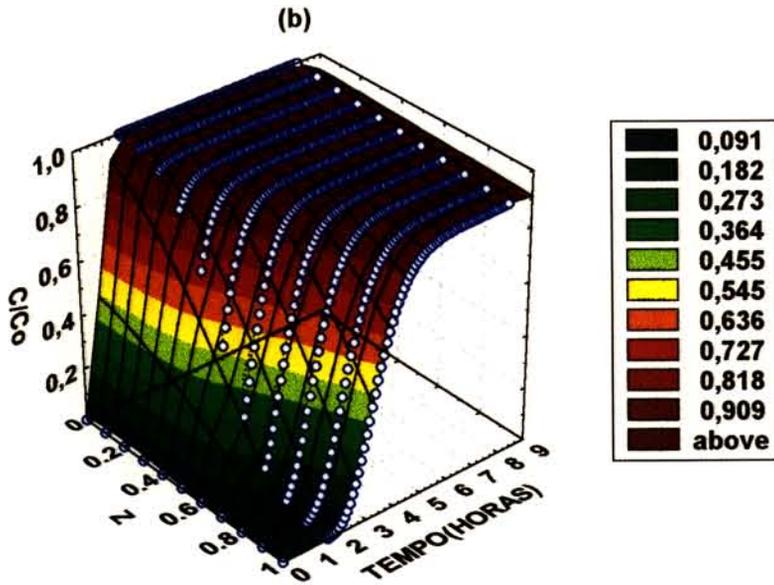
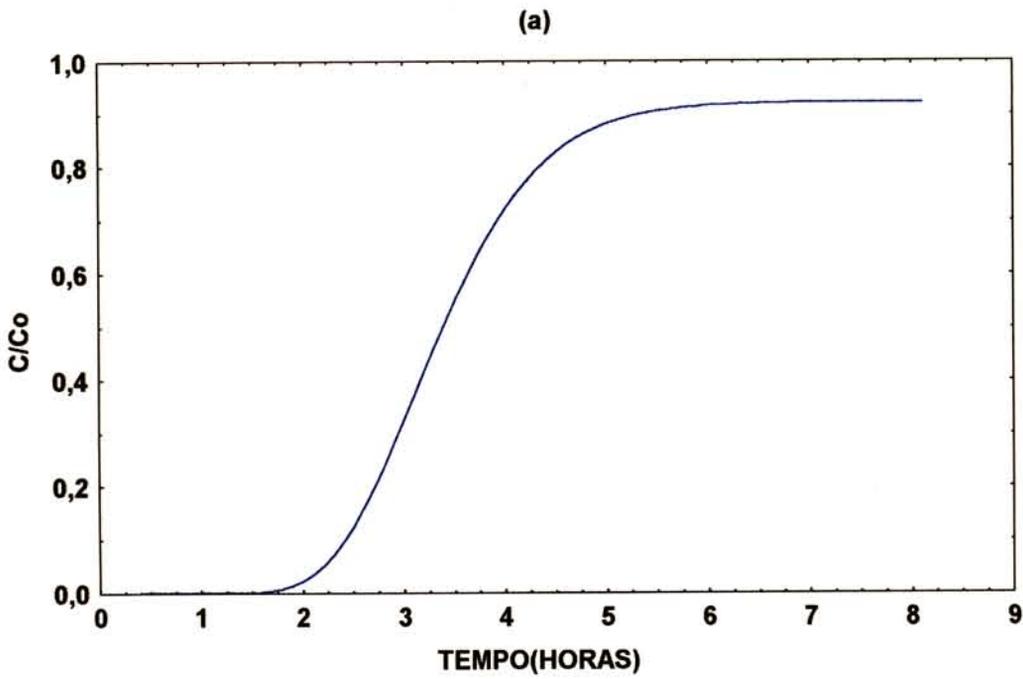


Figura 4.13 Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação no diâmetro da partícula ( $d_p$ ): (a) curva de rompimento da coluna (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

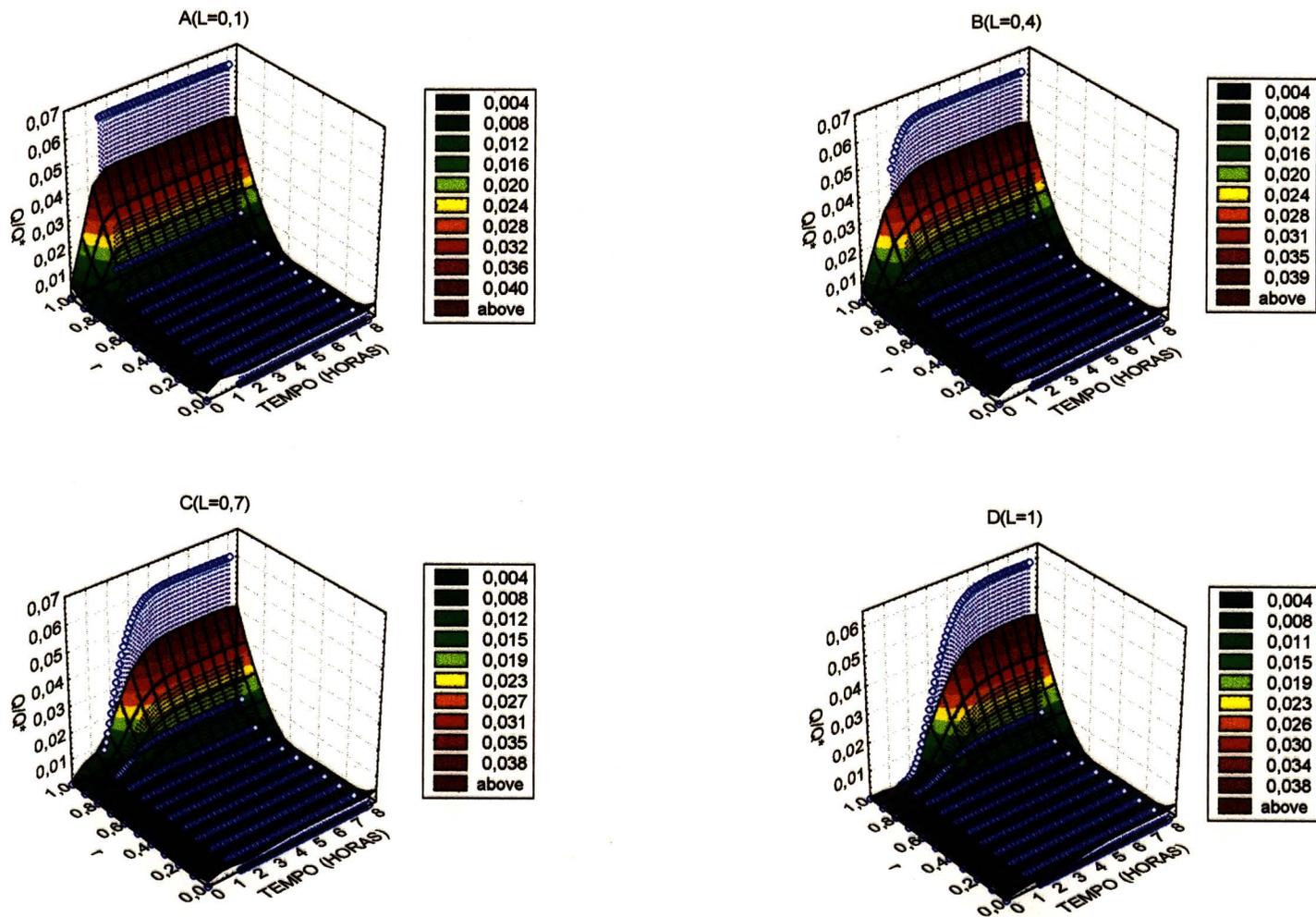


Figura 4.14 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% no diâmetro da partícula ( $d_p$ ): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1).

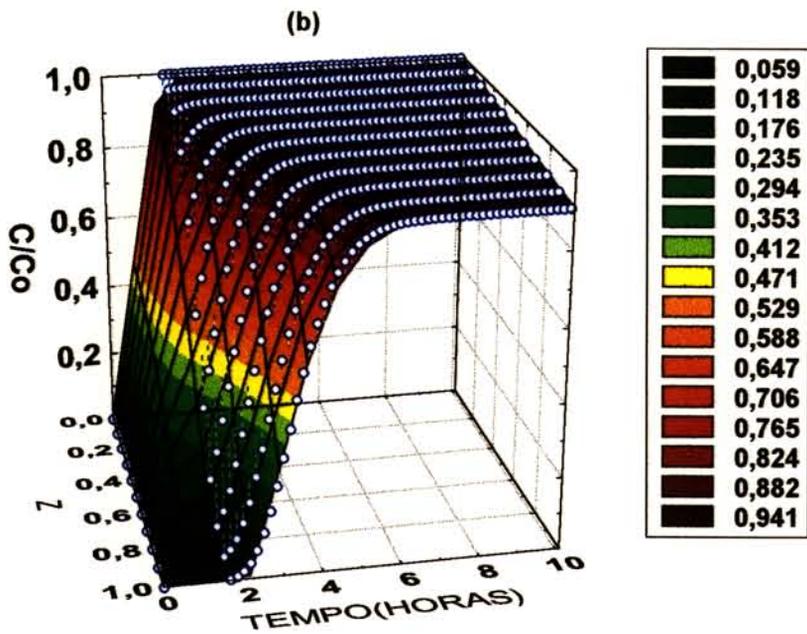
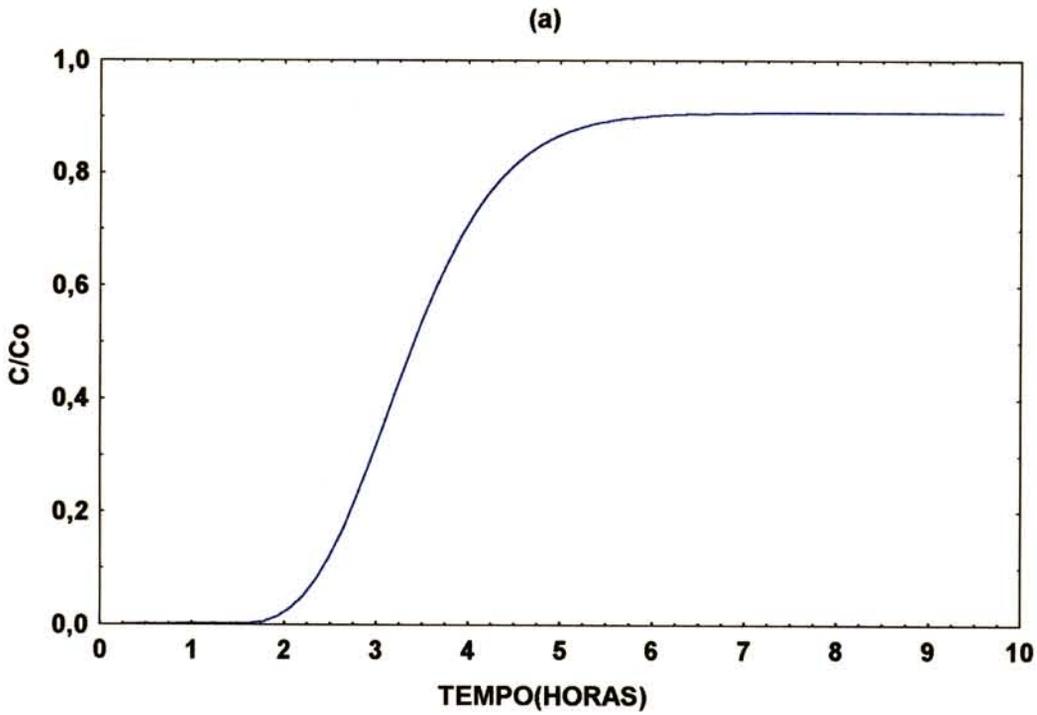


Figura 4.15 Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na concentração de entrada ( $C_0$ ): (a) curva de rompimento da coluna (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo

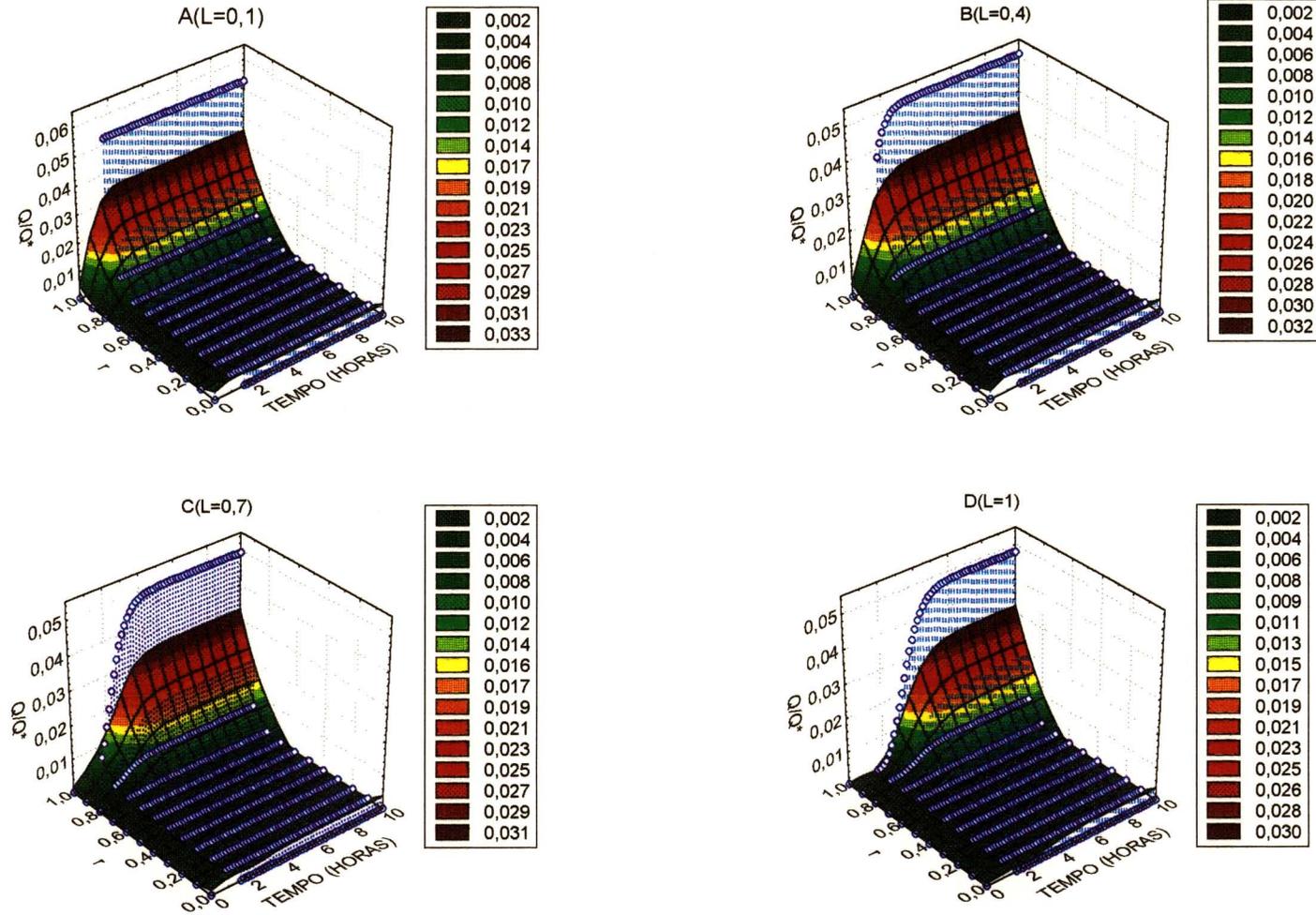


Figura 4.16-Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25 % na concentração de entrada ( $C_0$ ): A:(L=0,1), B:(L=0,4), C:(L=0,7), D:(L=1).

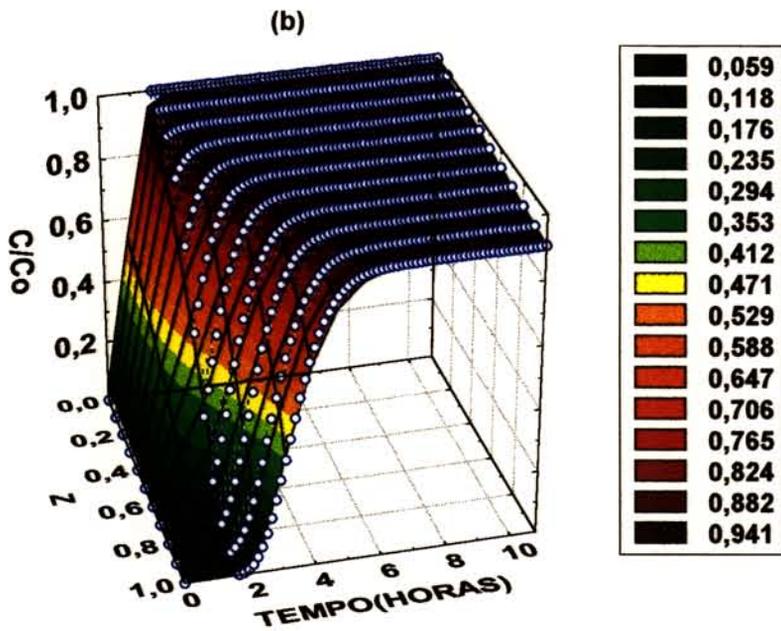
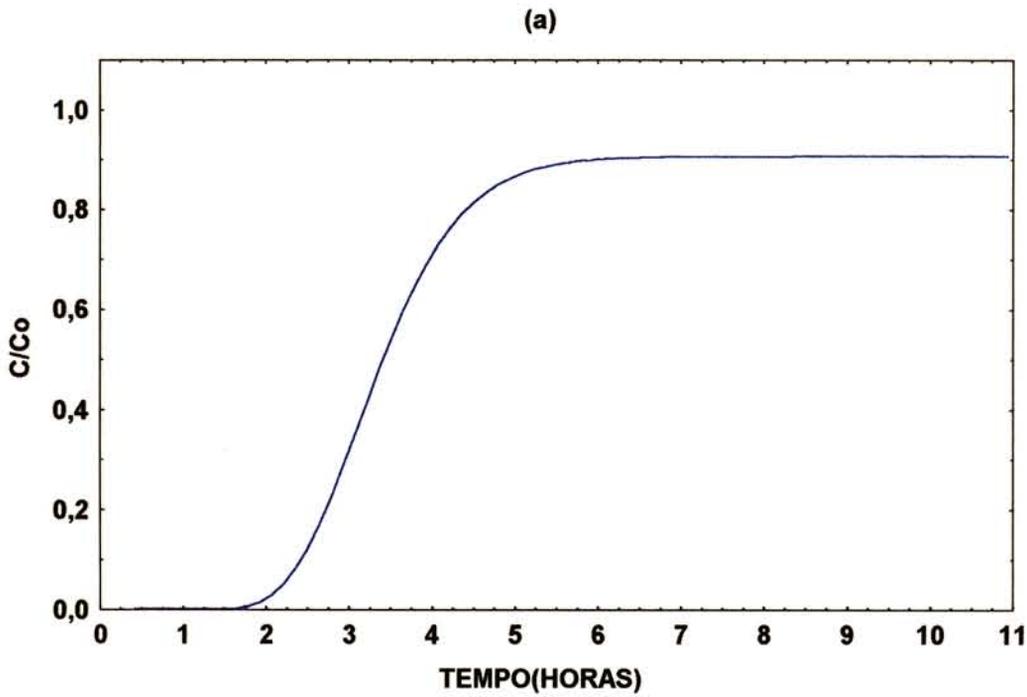


Figura 4.17 Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25 % de variação na constante cinética ( $Q_m$ ): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

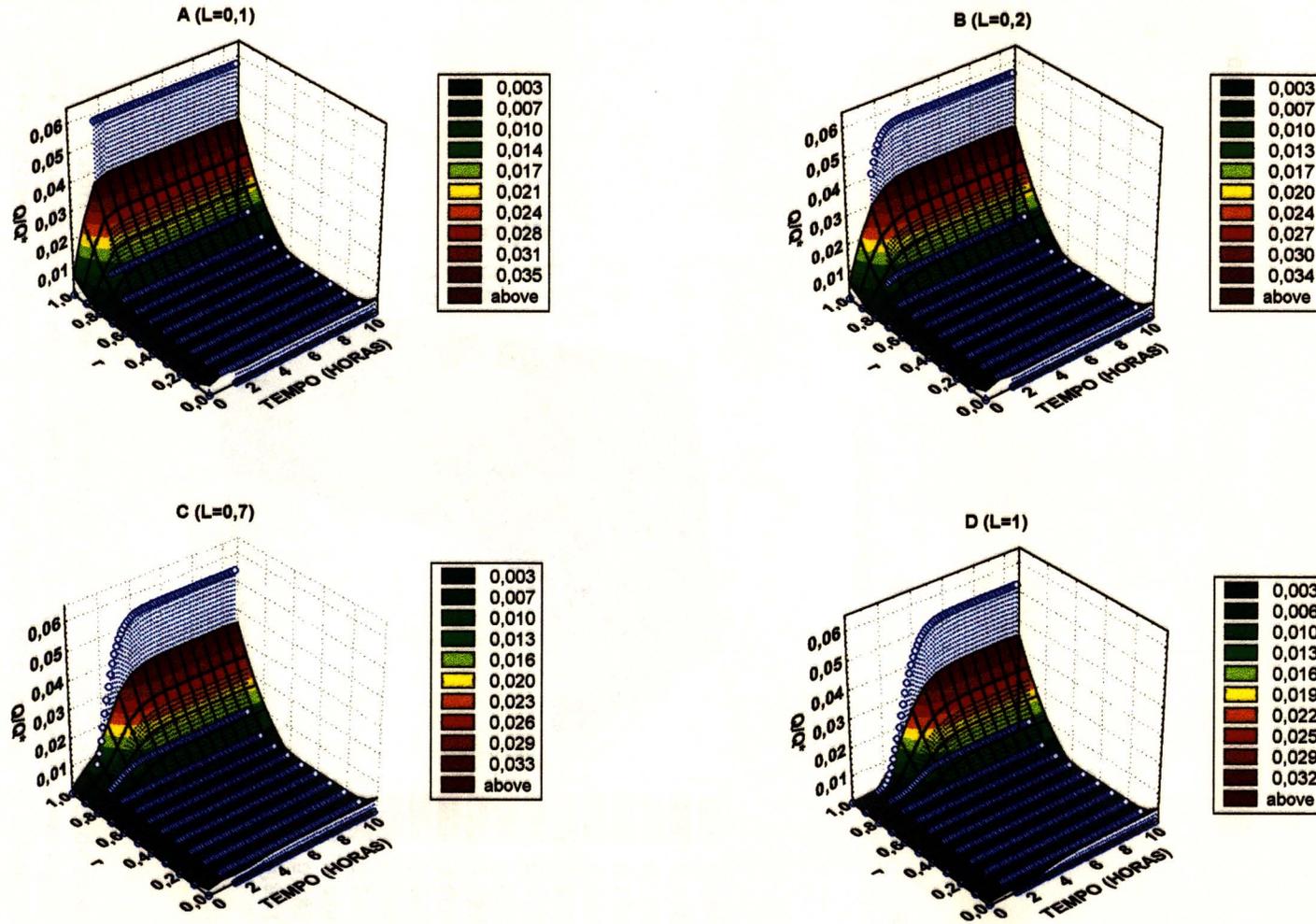


Figura 4.18 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na constante cinética ( $Q_m$ ): A( $L=0,1$ ), B( $L=0,4$ ), C( $L=0,7$ ), D( $L=1$ ).

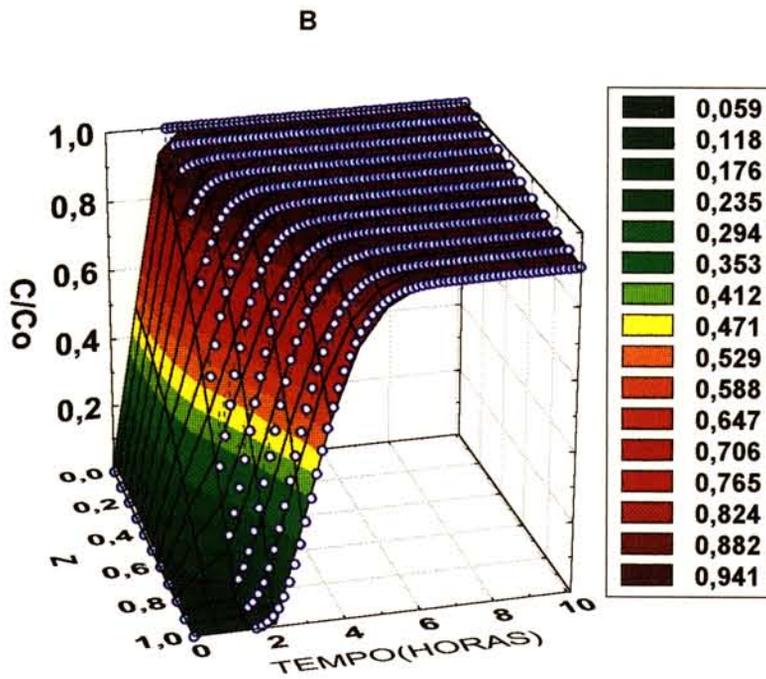
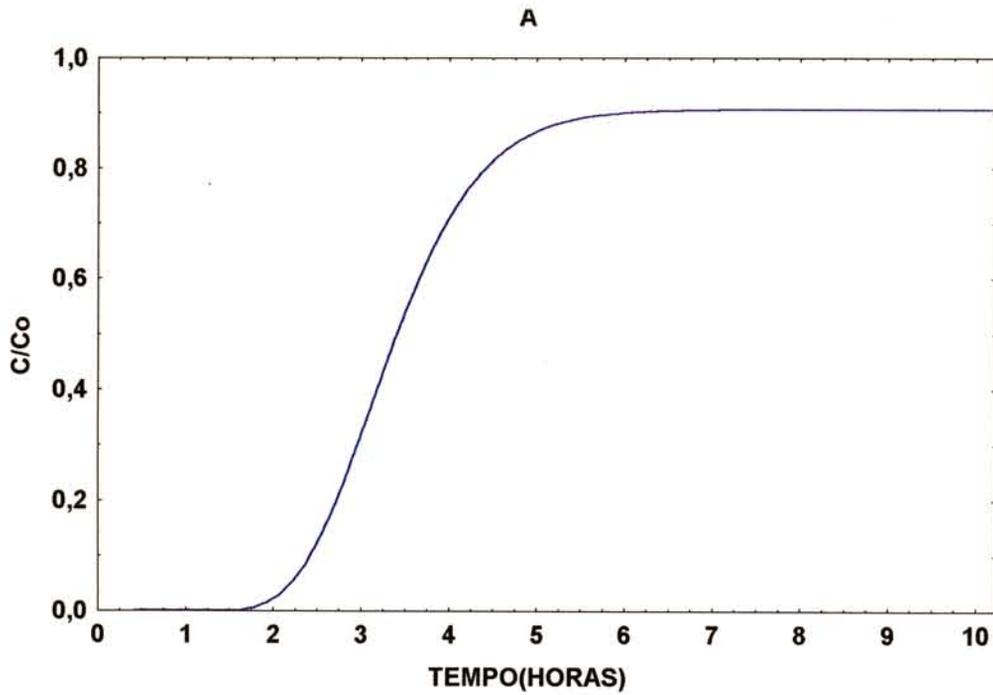


Figura 4.19-Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na constante cinética ( $K_1$ ): A-Curva de rompimento da coluna., B-Perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

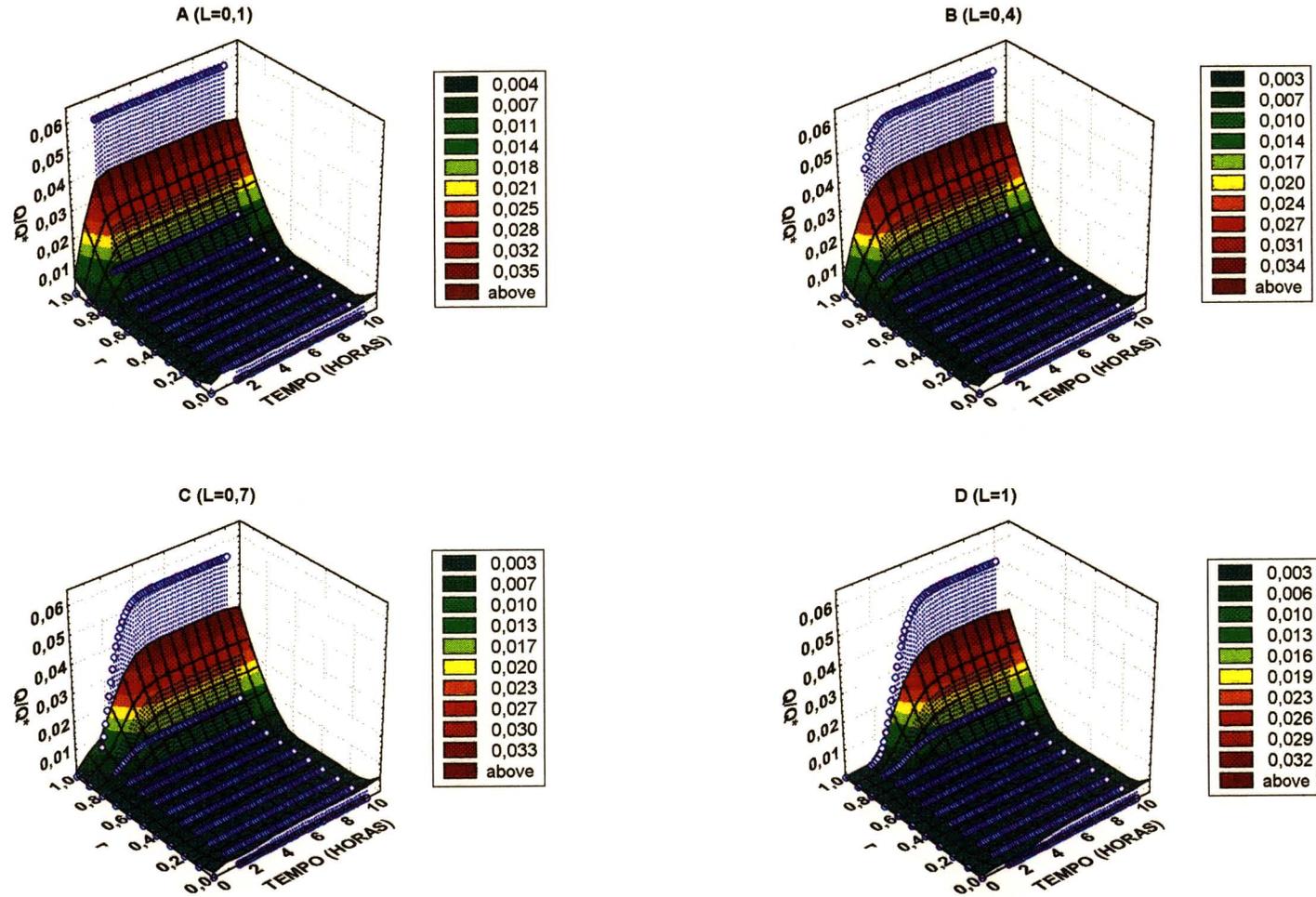


Figura 4.20 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na constante cinética (K1): A( $L=0,1$ ), B( $L=0,4$ ), C( $L=0,7$ ), D( $L=1$ ).

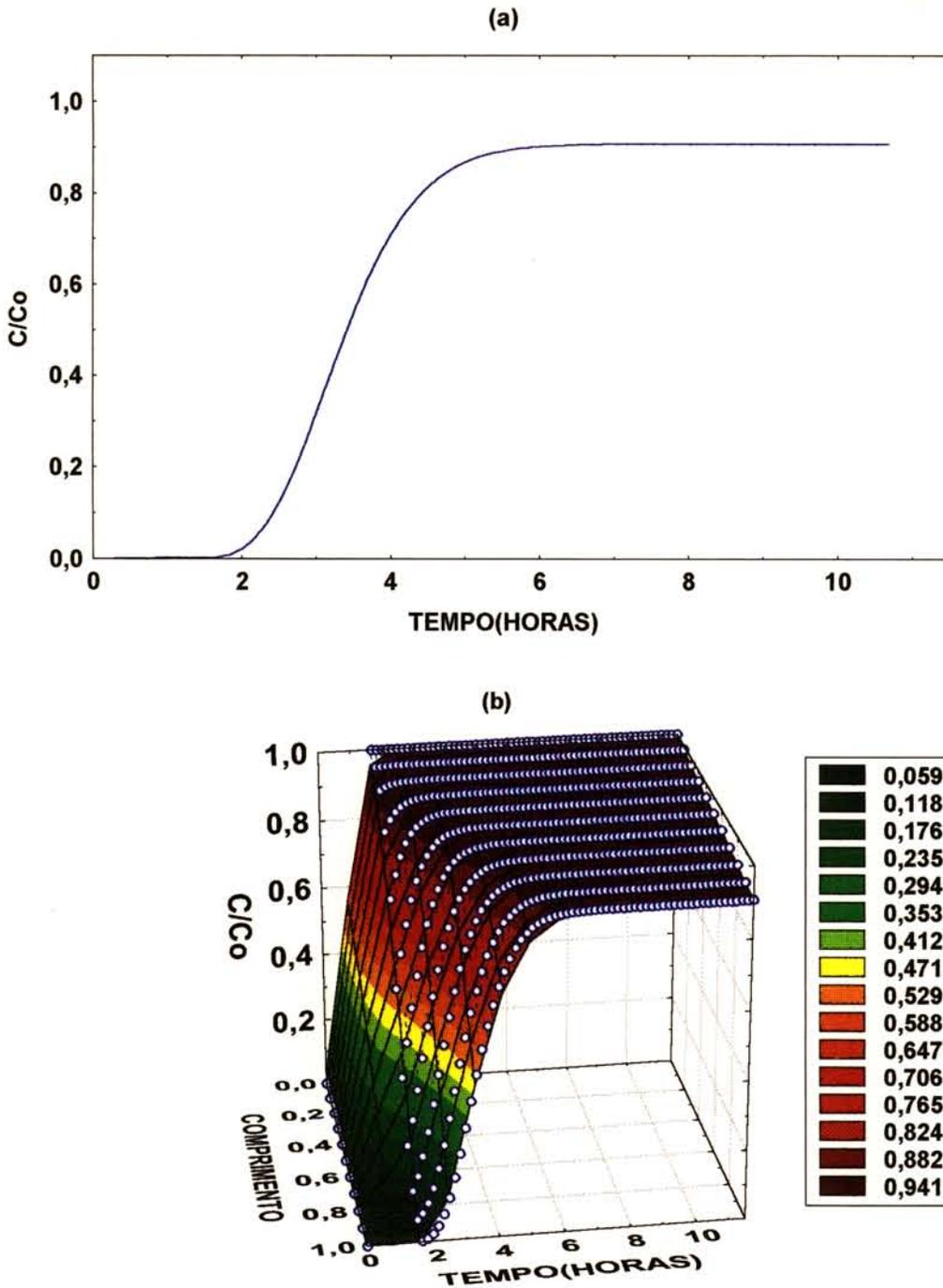


Figura 4.21 Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25 % de variação na constante cinética (K2): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

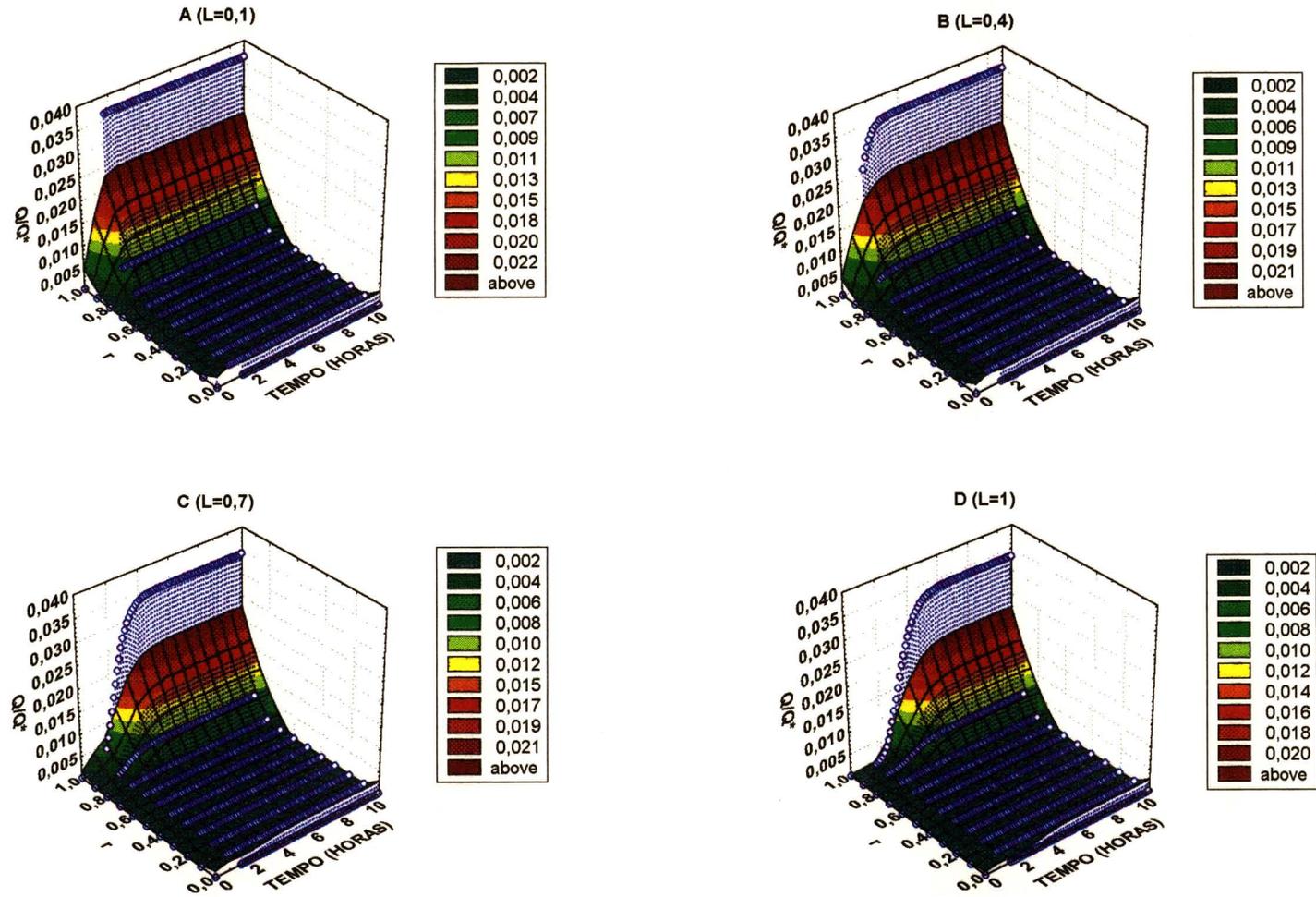


Figura 4.22 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na constante cinética ( $K_2$ ): A( $L=0,1$ ), B( $L=0,4$ ), C( $L=0,7$ ), D( $L=1$ ).

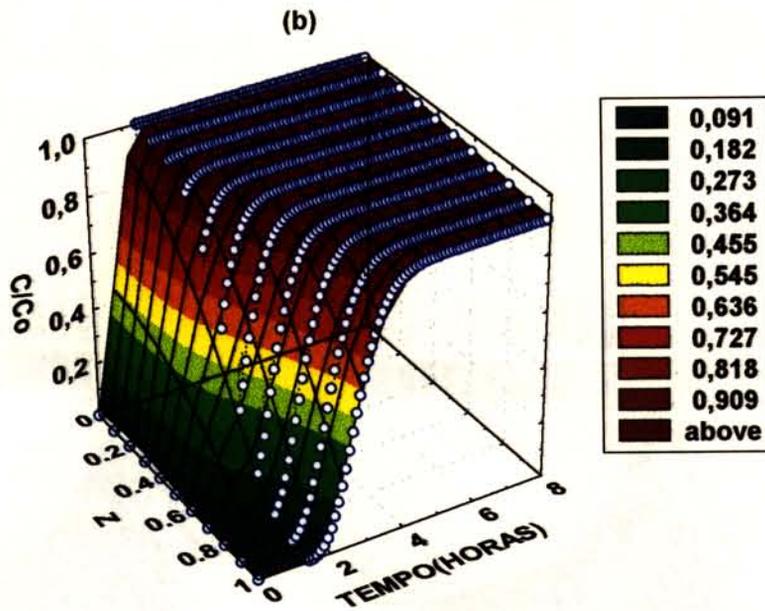
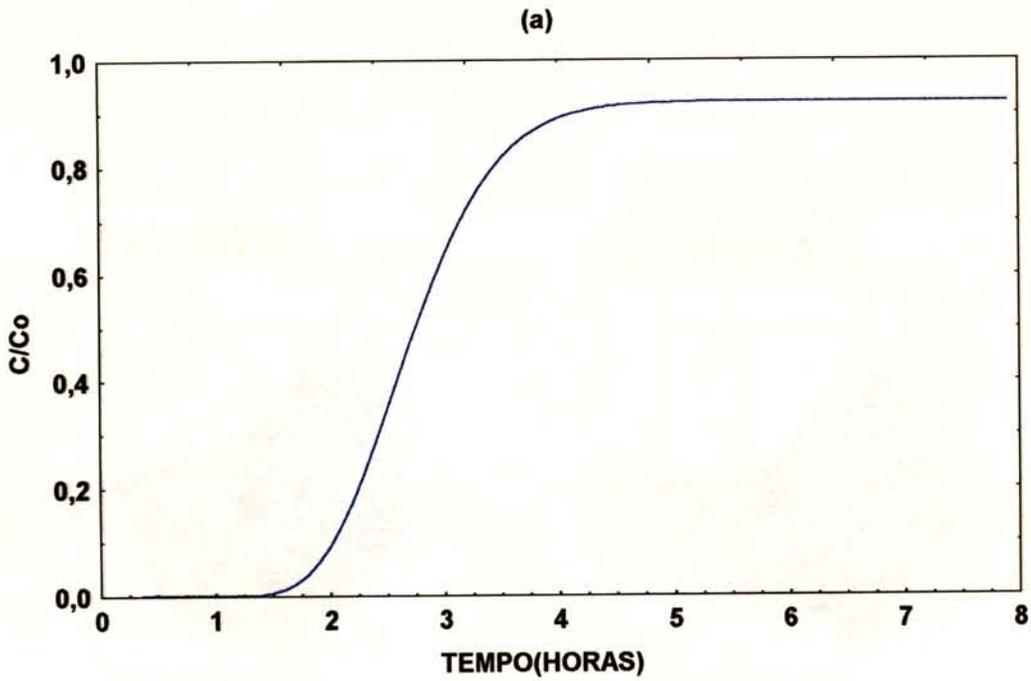
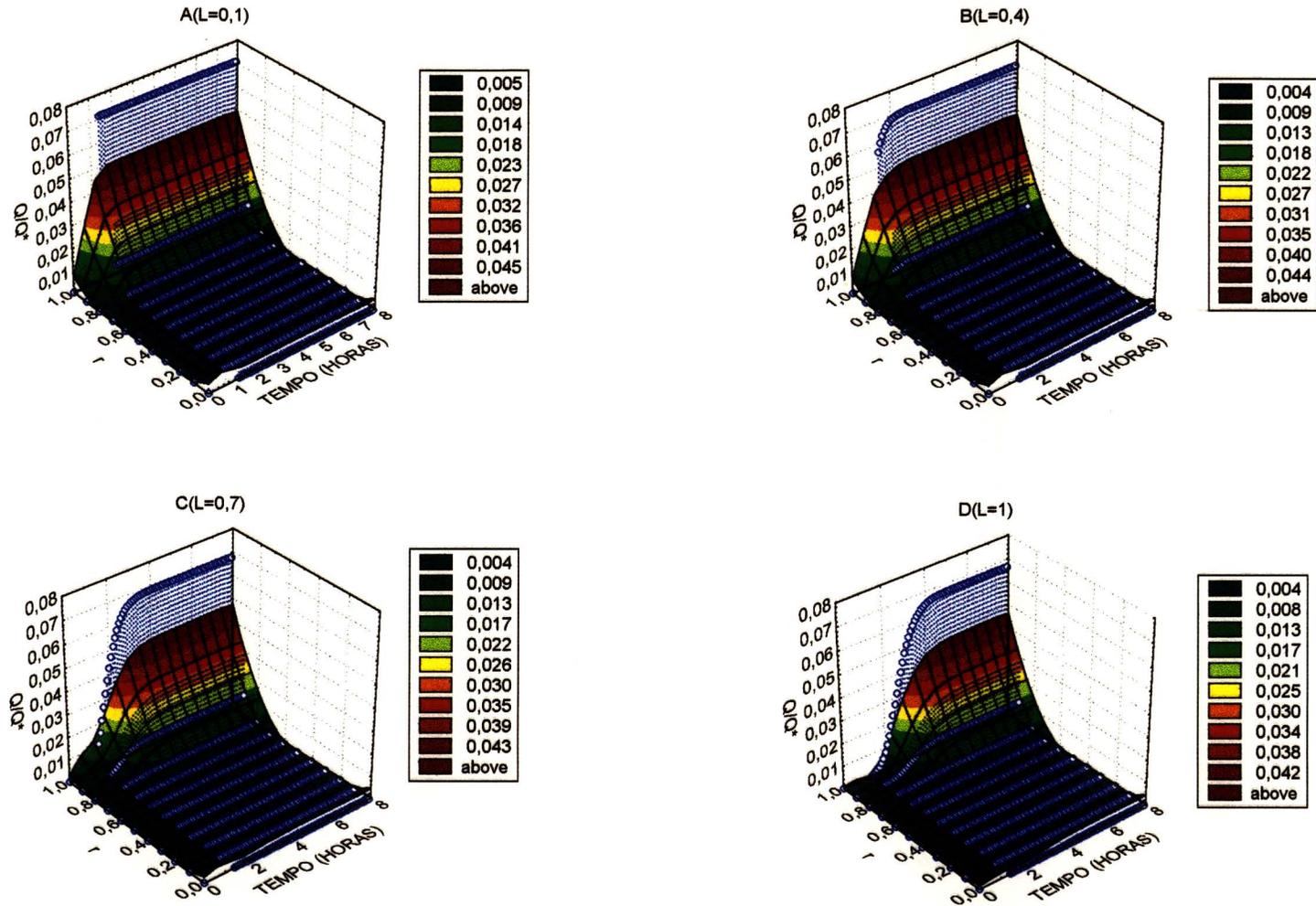


Figura 4.23 Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25% de variação na velocidade superficial ( $v$ ): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.



**Figura 4.24** Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na velocidade superficial (v): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1).

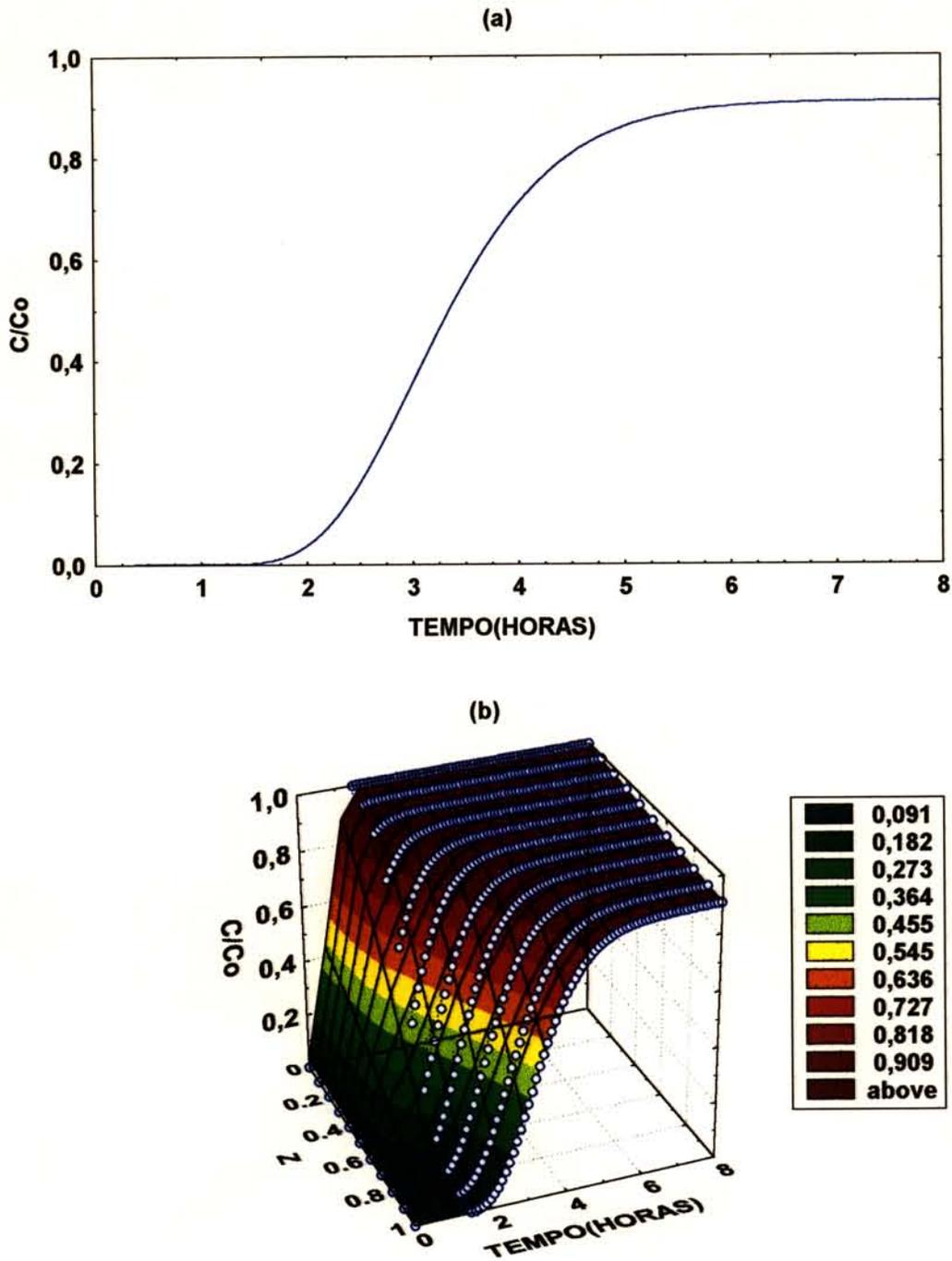
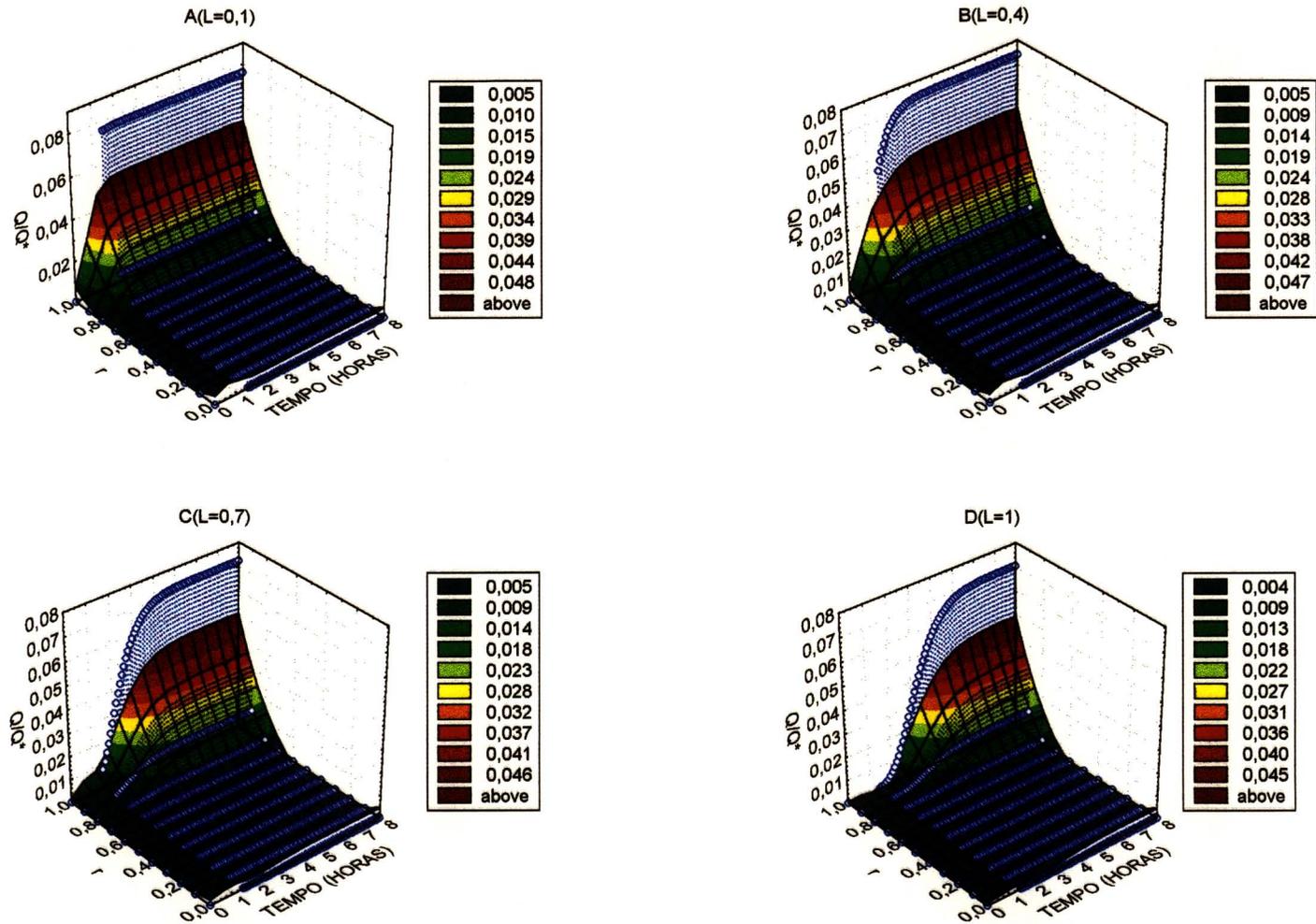


Figura 4.25 Valores obtidos da concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25 % de variação na dispersão axial (E): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.



**Figura 4.26** Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na dispersão axial (E): A(L=0,1), B(L=0,4), C(L=0,7), D(L=1).

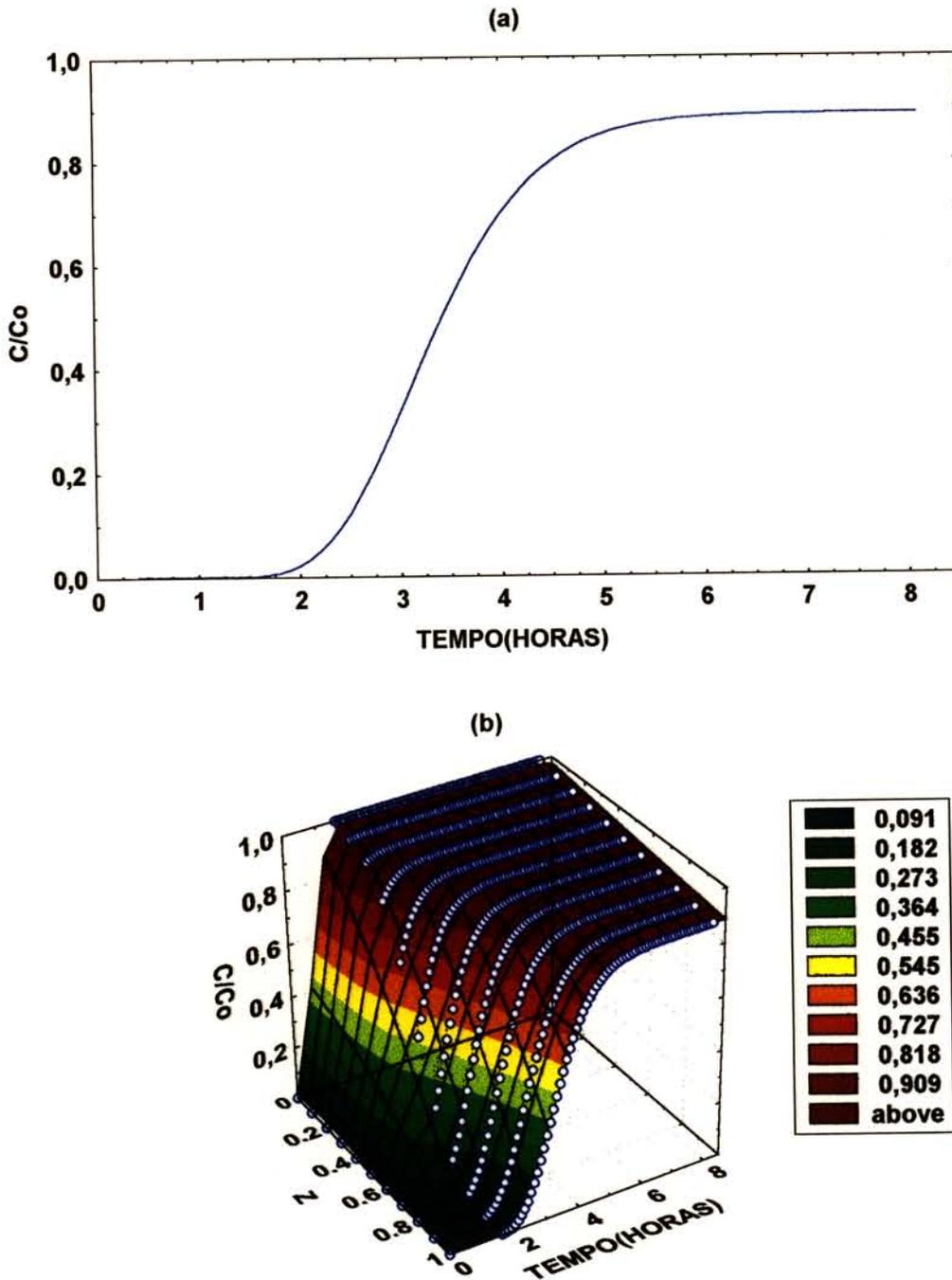


Figura 4.27 Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulação com 25 % de variação no coeficiente global de transferência de massa ( $K_s$ ): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

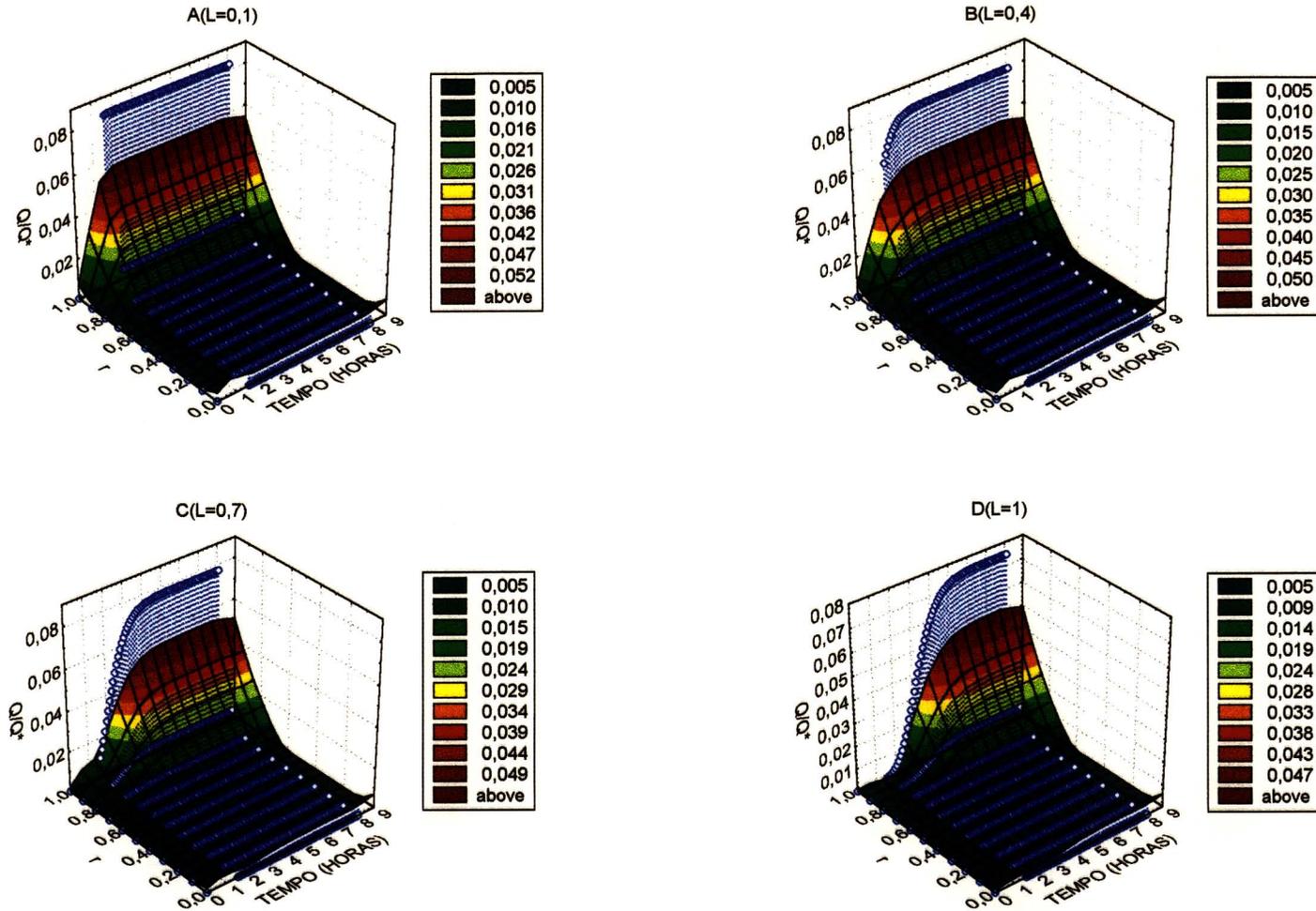


Figura 4.28 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% no coeficiente global de transferência de massa ( $K_s$ ): A( $L=0,1$ ), B( $L=0,4$ ), C( $L=0,7$ ), D( $L=1$ ).

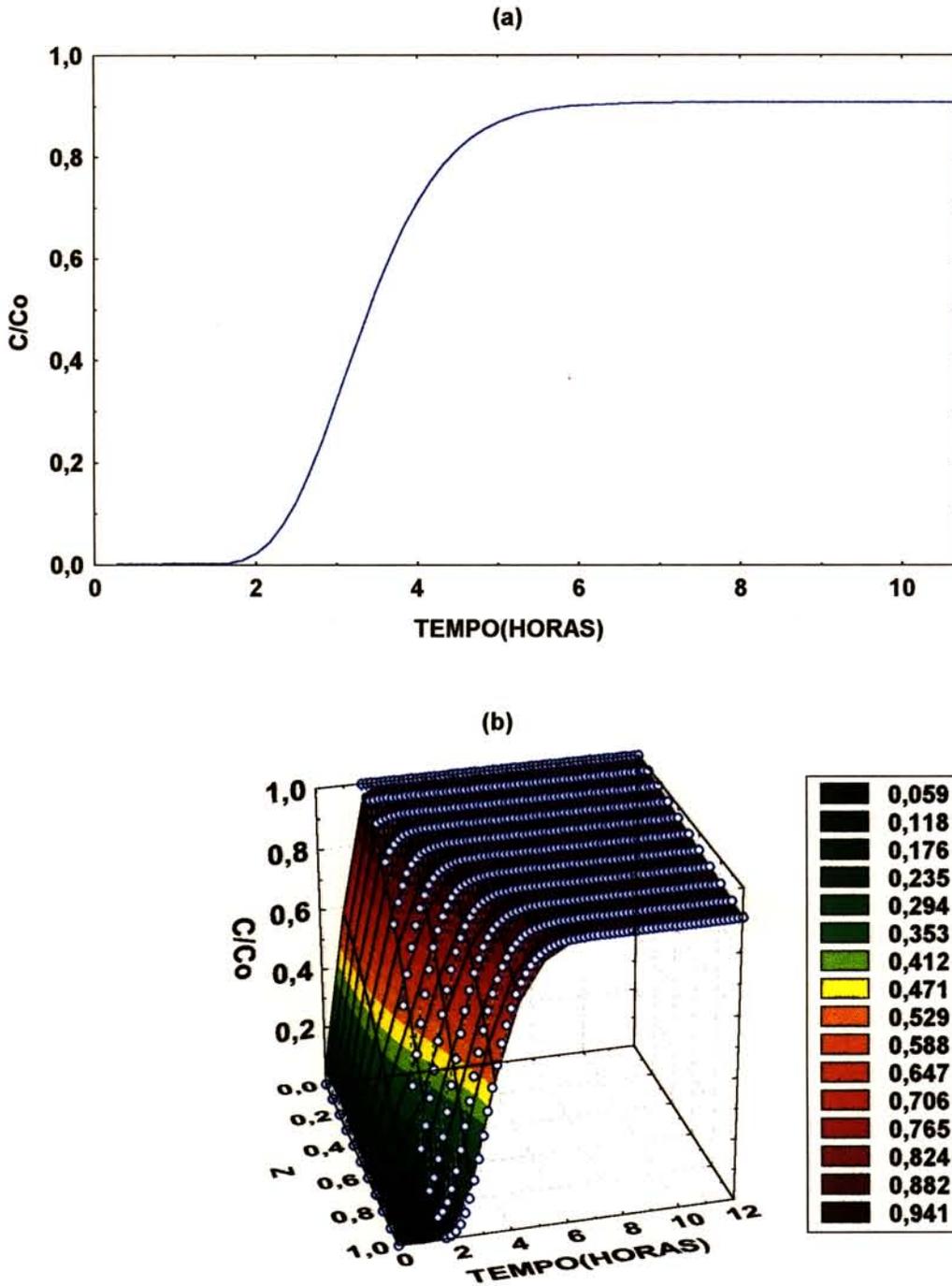


Figura 4.29 Valores obtidos de concentração de cefalosporina C, através de simulações com 25 % de variação na difusividade efetiva ( $D_{ef}$ ): (a) curva de rompimento da coluna; (b) perfil de concentração de cefalosporina C na fase líquida ao longo da coluna em função do tempo.

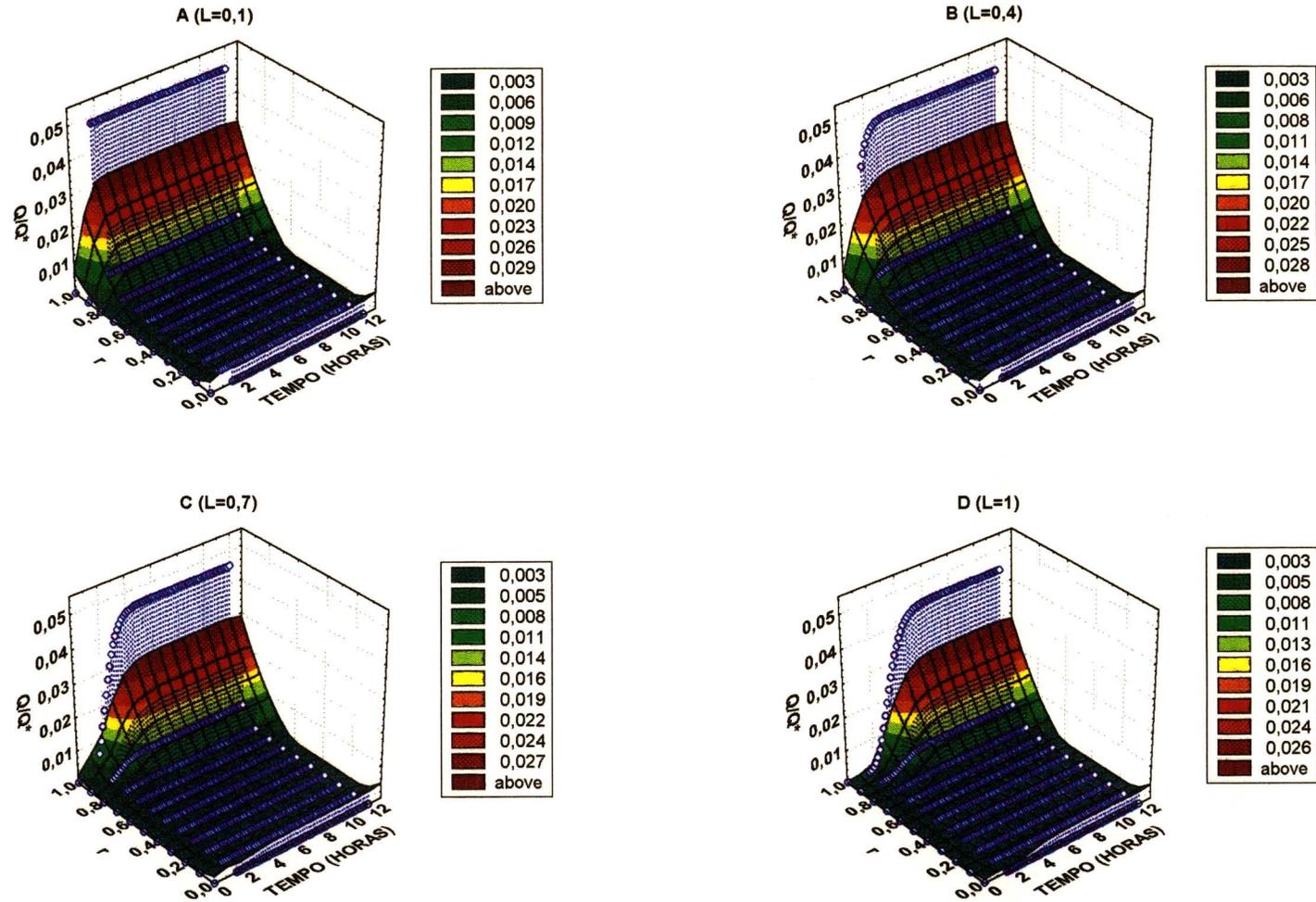


Figura 4.30 Perfil de cefalosporina adsorvida em função da posição radial e do tempo, em 4 pontos da coluna, com variação de 25% na difusividade efetiva ( $D_{ef}$ ): A( $L=0,1$ ), B( $L=0,4$ ), C( $L=0,7$ ), D( $L=1$ ).

## 4.1 - Estudo do fator de sensibilidade

### 4.1.1 - Cálculo da eficiência da coluna

A eficiência da coluna foi definida como sendo a razão da quantidade retida pelo leito sobre a quantidade aplicada, sendo calculada conforme Equação (4.3).

$$\phi = \frac{Q_{ads(C/Co=0,1)}}{Q_{ads(C/Co=0,9)}} \quad (4.3)$$

Os valores de  $Q_{ads(C/Co=0,1)}$  e  $Q_{ads(C/Co=0,9)}$  são definidos, respectivamente conforme apresentado nas Equações (4.4) e (4.5).

$$Q_{ads} = CoV_z t(C/Co=0,1) \quad (4.4)$$

$$Q_{ads(C/Co=0,9)} = CoV_z t(C/Co=0,9) - V_z \left[ \int \frac{C(t)}{Co} dt \right] Co \quad (4.5)$$

Escolheu-se o valor de  $C/Co=0,1$  na curva de saída, pois este é um valor usado na prática para interferir a alimentação das colunas. Os valores de  $Q_{ads(C/Co=0,9)}$  estão apresentados na Tabela (4.3) bem como os valores das eficiências calculadas para cada parâmetro com respectivo tempo de saturação da coluna.

### 4.1.2 - Fator de sensibilidade dos parâmetros

O fator de sensibilidade foi usado como indicador desta influência. A sensibilidade foi calculada com base na eficiência da coluna como parâmetro de saída e os parâmetros cinéticos e operacionais como parâmetros de entrada, este fator representa o ganho ou perda do processo no estado estacionário.

O fator de sensibilidade foi calculado conforme a definição:

$$S = \frac{\frac{\text{valor obtido da variável de saída} - \text{valor desta variável nas condições de referência}}{\text{valor desta variável nas condições de referência}}}{\frac{\text{valor alterado da variável de entrada} - \text{valor desta variável na referência}}{\text{valor da variável de entrada nas condições de referência}}}$$

$$S = \frac{\frac{\text{valor obtido da variável de saída} - \text{valor desta variável nas condições de referência}}{\text{valor desta variável nas condições de referência}}}{\frac{\text{valor referência} \times 1,25 - \text{valor referência}}{\text{valor de referência}}}$$

$$S = \frac{\frac{\text{valor obtido da variável de saída} - \text{valor desta variável nas condições de referência}}{\text{valor desta variável nas condições de referência}}}{0,25}$$

$$S = \frac{\text{valor obtido da variável de saída} - \text{valor desta variável nas condições de referência}}{\text{valor desta variável nas condições de referência}} \times 4 \quad (4.6)$$

A Tabela (4,3) reúne os valores dos  $Q_{ads}(C/C_0=0,9)$ , das eficiências obtidas para cada parâmetro modificado e do fator de sensibilidade. O fator de sensibilidade representa a porcentagem de alteração na eficiência por unidade de porcentagem alterada do parâmetro de entrada. Valores negativos representam queda e positivos ganhos de eficiência.

**Tabela 4.3 - Valores da eficiência ( $\phi$ ) e sensibilidade (S) para os parâmetros alterados, comparados com o modelo padrão ( $\phi=61$  e  $t=2,5$  h)**

Parâmetros	$Q_{ads}(C/C_0=0,9)$ (mol cef)	$\phi$	S
L (m)	$1,32 \times 10^{-7}$	64	$+1,9 \times 10^{-1}$
$\theta$ (m)	$1,62 \times 10^{-7}$	61	0
$\epsilon$	$1,30 \times 10^{-7}$	60	$-6,5 \times 10^{-2}$
$\epsilon_p$	$1,01 \times 10^{-7}$	64	$+1,9 \times 10^{-1}$
$dp(m)$	$1,39 \times 10^{-7}$	61	0
$Co$ (mol/m <sup>3</sup> )	$1,67 \times 10^{-7}$	50	$-7,2 \times 10^{-1}$
$Q_m$ (mol/m <sup>3</sup> )	$1,04 \times 10^{-7}$	62	$+6,5 \times 10^{-1}$
$k_1$ (m <sup>3</sup> /mol h)	$1,04 \times 10^{-7}$	64	$+1,9 \times 10^{-1}$
$k_2$ (l/h)	$1,05 \times 10^{-7}$	61	0
$v$ (m/h)	$1,02 \times 10^{-7}$	65	$+2,6 \times 10^{-1}$
$E$ (m <sup>2</sup> /h)	$1,00 \times 10^{-7}$	61	0
$K_s$	$1,03 \times 10^{-7}$	62	$+6,6 \times 10^{-2}$
$D_{ef}$ (m <sup>2</sup> /h)	$1,04 \times 10^{-7}$	64	$+1,9 \times 10^{-1}$

A principal vantagem do modelo validado é que ele pode ser utilizado para simular condições experimentais. Nesta seção utilizamos o modelo para analisar sistematicamente o efeito dos parâmetros mostrados na Tabela 4.3.

Analisando os dados observa-se que a concentração inicial e a porosidade do leito quando aumentados diminuem a eficiência do processo. Particularmente, a concentração inicial é a que mais afeta a eficiência do processo devido provavelmente à baixa capacidade de adsorção da resina.

A Figura 4.11 examina o efeito da porosidade da partícula na curva de rompimento, onde uma pequena mudança na porosidade tem um efeito pronunciado na curva de rompimento melhorando a capacidade de adsorção. Quando a porosidade é aumentada 25% a curva de rompimento é deslocada para a esquerda e pode ser observado na Tabela 4.3 que a sensibilidade é positiva, ou seja, melhora a eficiência da coluna. No entanto SRIDHAR, *et al* (1994), analisando a influência da porosidade das partículas de resina XAD-16 na faixa de 0,7, superior a porosidade trabalhada neste trabalho que é de 0,45, verificaram que um pequeno incremento afeta substancialmente a eficiência da coluna, como pode se observado na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Efeito da porosidade da partícula, resina XAD-16

Porosidade da Partícula	Eficiência $\phi$
0,70	70
0,74	58,7

Por outro lado, em relação aos parâmetros cinéticos, a sensibilidade é positiva para as constantes  $Q_m$  e  $K_1$  e nula para  $K_2$ , indicando que estes parâmetros devem ser otimizados previamente, pois eles dependem das condições do meio como pH, força iônica, temperatura. Segundo KAMIMURA, (1995) a quantidade máxima de adsorção  $Q_m$  e a constante  $K_1$  quando alterados 25% em relação ao padrão, apresentam uma sensibilidade positiva, que representa um ganho na eficiência da coluna. Além disso os parâmetros  $Q_m$  e  $K_1$ , que favorecem o processo quando aumentados, dependem intrinsecamente da interação adsorvato-adsorvente, e não é sujeito à manipulações, salvo na etapa de seleção da resina e da escolha das condições de operação. O aumento da difusividade efetiva, conforme poderia-se esperar, também melhora a eficiência do processo, visto que proporciona uma menor resistência à difusão interna.

O aumento no comprimento da coluna acarreta em um aumento na eficiência do processo. Isto se deve ao fato de que quando o comprimento da coluna aumenta, a fração não utilizada da coluna decresce, e portanto aumentando a eficiência. No entanto, provoca uma queda na produtividade da coluna. Da mesma forma, FIROUZTALE *et al* (1994) verifica que a eficiência aumenta em decorrer de um incremento da coluna, trabalhando com resina XAD-16, com diâmetro de partículas de 310  $\mu\text{m}$ , diâmetro interno da coluna de 2 cm, velocidade superficial de 573 cm/h, e concentração de entrada de 10 mg/ml. Estes dados são reportados na Tabela 4.5, onde um incremento de 100% na coluna melhora a eficiência substancialmente.

**Tabela 4.5** Efeito do tamanho da coluna na eficiência

Comprimento da coluna (Cm)	Eficiência $\phi$
12,5	24
25,0	46
50,0	70
75,0	80

A Figura 4.13 descreve o efeito do tamanho da partícula na curva de rompimento da cefalosporina C, numa coluna de  $1,3 \times 10^{-1} \times 2,25 \times 10^{-2}$  m, com velocidade superficial  $3,75 \times 10^{-2}$  m/h e diâmetro de partícula de  $3,71 \times 10^{-4}$  m. Com o aumento do diâmetro da partícula verifica-se, que o perfil da curva de rompimento torna-se mais alongado e o tempo de rompimento mais curto. No entanto, estas mudanças são muito pequenas e não afetam a sensibilidade que é zero. Poderia-se prever que um aumento maior do que 25% provocaria uma queda da eficiência como observado por FIROUZTALE *et al* (1994). Estes autores, trabalhando com diâmetros de resinas menores que às utilizadas no presente trabalho e ilustrado na Tabela 4.6, verificaram que, o incremento no diâmetro da resina, de 84  $\mu\text{m}$  até 486  $\mu\text{m}$ , provocam uma queda na eficiência de 0,89 para 0,08. Segundo SRIDHAR, (1994), mudanças no tamanho das partículas afetam o coeficiente do transferência de massa do filme líquido. Por exemplo, se a velocidade superficial ( $v$ ) não é mudada, a correlação de WILSON & GEANKOPLES (1966), equação (4.7), indica que  $K_s$  é proporcional a  $R_p^{-2/3}$ , onde um incremento no valor do raio diminui o coeficiente de transferência de massa.

$$K_s = 2,50(N_{Re})^{-2/3} \quad (4.7)$$

**Tabela 4.6 - Efeito do tamanho das partículas com fase-reversa tipo XAD-16**

Diâmetro Resina ( $\mu\text{m}$ )	Eficiência ( $\phi$ )
84	0,89
116	0,80
200	0,51
310	0,24
486	0,08

O aumento da velocidade superficial ( $v$ ) promove um considerável aumento da eficiência da coluna, isto possivelmente devido à diminuição da resistência na película à transferência de massa. O aumento da velocidade superficial neste contexto proporciona um escoamento que favorece o processo. Segundo SRIDHAR *et al* (1994), a velocidade superficial afeta o coeficiente do filme de transferência de massa. Se  $R$  não é alterado, a correlação de WILSON & GEANKOPLIS (1966) indica que  $K_s$  é proporcional a  $v^{1/3}$ , onde um incremento na velocidade superficial leva a um incremento no coeficiente de transferência de massa nesta forma, a curva de rompimento é mais rápida para velocidades superficiais mais altas. No entanto, o efeito favorável do aumento da velocidade é limitado até um valor de velocidade ideal, a partir da qual efeitos contrários são observados. O trabalho de FIROUZTALE *et al* (1994), trabalhando com resina XAD-16 numa coluna de 6,2 x 1,0 cm, operando com diâmetro da partícula de 84 ( $\mu\text{m}$ ) e uma concentração de entrada de 10 mg/ml, cujos dados estão reportados na Tabela (4.7) ilustra este comportamento. Verifica-se que ocorre uma diminuição da eficiência com o aumento da velocidade superficial.

**Tabela 4.7 - Efeito da velocidade superficial numa coluna Amberchrom CG-161**

Velocidade superficial (cm/h)	Eficiência ( $\phi$ )
191	0,91
382	0,84
764	0,73
1528	0,53
2292	0,41

A contribuição do coeficiente de dispersão axial é nula em relação à eficiência da coluna, por ser este processo controlado pela difusão intraparticular. Segundo WAKAO (1978), se a adsorção (ou reação) dentro da partícula é suficientemente forte e rápida, o perfil de concentração através da partícula torna-se assimétrico, e isto pode levar à contribuições significativas da dispersão axial. Este efeito somente é importante se está no regime de baixo número de Reynolds, pois em números de Reynolds altos existe mistura turbulenta suficiente para garantir uma concentração uniforme na fronteira ao redor de cada partícula.

## V - CONCLUSÕES

A descrição de um modelo matemático que represente todo comportamento de escoamento de um fluido ao longo de uma coluna de leito fixo, onde os efeitos da dispersão axial, resistência intraparticular e película externa são considerados, mostrou ser adequada para o estudo do comportamento do processo de adsorção de cefalosporina C em resina XAD-2.

Não existe na literatura uma representação da taxa de adsorção com o tempo para cinéticas cujo comportamento no equilíbrio aproxime-se da isoterma de Freundlich, como é o caso da adsorção da cefalosporina C, Kirkby *et al* (1986). O modelo cinético sugerido visa de uma maneira bastante simples representar um comportamento cinético o mais próximo dos modelos observados na literatura (Chase,(1984), Kirkby *et al* (1986), que normalmente apresentam-se no equilíbrio como isotermas de Langmuir ou Freundlich. Embora a isoterma proposta se ajuste bem aos dados experimentais, verifica-se a necessidade de tornar o processo mais eficiente em relação à adsorção de cefalosporina C, visto a baixa capacidade de adsorção observada. Os parâmetros cinéticos, conforme foi apresentado, são de suma importância para uma boa eficiência do processo.

A metodologia numérica de integração das equações do modelo, essencialmente Crank-Nicholson e Runge-Kutta de 4ª ordem, foram adequadas para descrever o perfil de concentração do produto ao longo da coluna, assim como, o perfil no interior das partículas.

Verificou-se que a adsorção ocorre nas camadas externas da resina, fato este explicado pela limitação causada pela resistência a difusão intraparticular.

O estudo paramétrico mostrou que certos parâmetros são importantes no aumento da eficiência da coluna. Os parâmetros foram a velocidade superficial, o comprimento da coluna, as constantes cinéticas  $K_1$  e  $Q_m$ , e a porosidade da partícula. Em relação a velocidade superficial, a literatura mostra que este efeito é benéfico até um dado valor de  $v$ , a partir do qual a eficiência diminui. Portanto, um valor ótimo deve ser determinado.

Quanto ao comprimento da coluna, o incremento é benéfico, porém o tempo de processo aumentado, o que pode acarretar perdas de produto ativo. Portanto, um compromisso entre aumento de eficiência e perda de atividade tem que ser encontrado. Além

disso, o comprimento é limitado pelas dificuldades operacionais de se trabalhar com colunas extremamente longas. A solução para este caso poderia ser colunas colocadas em série.

A cinética do processo é importante e as condições de adsorção devem ser otimizadas previamente à operação da coluna. Condições como pH, concentração iônica e temperatura afetam as constantes cinéticas e portanto devem ser objeto de estudo prévio.

Finalmente, a porosidade da partícula é um fator importante no aumento da eficiência, cabendo ao produtor obter partículas com maior porosidade a fim de melhorar a eficiência do processo.

## **VI - RECOMENDAÇÕES**

1 É necessário que se otimize experimentalmente o processo de adsorção de cefalosporina C em resina amberlite XAD-2. Os parâmetros cinéticos assim obtidos são de suma importância para uma boa análise de comportamento do processo de purificação por cromatografia.

2 Realizar ensaio experimental em coluna cromatográfica de dimensões e características de operação idênticas as utilizadas nas simulações. Com esses valores experimentais pode-se novamente através das simulações convalidar o modelo.

## VII-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAN, S. F.; LEONARDO, A. W.; CURTIS, W. C.; BRYCE, L. A.; - Princípio das operações unitárias. 2ª ed, John Wiley & Sons, Cap. 16, p. 357-362, 1982.
- ABRAHAM, E. P. & NEWTON, G. G.- The structure of cefalosporin C. Biochemical journal. 62: 651-658, 1956.
- AHMET, R. O. - Determination of overall mass transfer coefficients in fixed bed sorption columns., Chem. Eng. Technol. 17: 285-289, 1994.
- BAILEY, J. E. & OLLIS, D. F. - Biochemical Engineering Fundamentals. 2ª. ed. New York McGraw-Hill., cap. 11, p. 729-796, 1986.
- BARBOZA, M. PAREDES, R. R. MAUGERI, F. - Modelagem e simulação de separação de cefalosporina C por cromatografia em coluna de troca iônica. 1996 (Por publicar)
- BELTER, P. A.- Recovery processes: past, present, and future, presented at 184 Th. American Chemical Society Meeting, Kansas City, MO, September 1982.
- BELTER, P. A.; CUSSLER, E. L.; HU, W. S.- Bioseparations downstream processing for biotechnology 1ª ed. New York, John Wiley & Sons, p.368, 1989.
- BJURSTROM, E. - Biotechnology fermentation and downstream processing. Chem. Eng. 92 (4): 126-158, 1985.
- CASILLAS, J. L.; MARTINEZ, M.R.; ADDO-YOBO, F.G.; ARACIL, J.H.- Modeling of the adsorption of cephalosporin C on modified resins in a stirred tank.- Chem Eng. Journal, 32: B71-B75, 1993.
- COLLINS, C. H. & BRAGA, G. L. - Introdução a métodos cromatográficos. Campinas, Ed. da UNICAMP, 4ª edição, 1990.

- COWAN, G. H.; GOSLING, I. S.; LAWS, J. F.; SWEETENHAM, W. P.- Physical and mathematical modeling to aid scale-up of liquid chromatography. J. Chromatography, 363: 37-56, 1986.
- CHAPRA, S. C. & CANALE, R. P. - Numerical Methods for Engineers. 2ª ed. McGraw-Hill., p. 286-287, 1990.
- CHASE, H. A. - Prediction of performance of preparative affinity chromatography. J Chromatography. 297: 179-202, 1984.
- DEAN, A. J. Chemical Separation Methods. 1ª. ed. Litton. Educational. Publishing, 1962.
- DWIVEDI, P. N. & UPADHYAY, S. N. - Particle-Fluid mass transfer in fixed and fluidized beds. Ind. Eng. Chem., Process Des. Dev., 16 (2): 157-165, 1977.
- EMIL, L. SMITH.; ROBERT, L. HILL.; ROBERT, L. I.; ROBERT, J. L.; PHILIP, H.; ABRAHAN, W. - Bioquímica aspectos gerais. 7ª ed. Guanabara Koogan. cap 9, 1976.
- FIROUZTALE, E.; MAIKNER, J. J.; DEISLER, K. C.; CARTIER, G. P. - Validation of a theoretical model for adsorption using cephalosporin C and polymeric reversed-phase resins. J. Chromatography. 658: 361-370, 1994.
- FROUWS, M. J.; VELLENGA, K.; WILT, H. G. - Combined external and internal mass transfer effects in heterogeneous (enzyme) catalysis, Biotech. Bioeng. 18: 53-62, 1976.
- FUJISAWA, Y.; SHIRAFUJI, H.; KIDA, M.; NARA, K.; YONEDA, M.; KANZAKI, T. - Accumulation of deacetoxicephalosporin C by cephalosporin C negative mutant of *cephalosporium acremonium*, Agric. Biol. Chem. 39: 1245-1248, 1975.
- FUJISAWA, Y.; KITONO, K.; KANZAKI, T. - Accumulation of deacetoxicephalosporin C by a deacetylcephalosporin C negative mutant of *cephalosporium acremonium*, Agric. Biol. Chem. 39: 2049-2050, 1975a.

- FLINN, E. H.; MORRIN, R. B.; JACKSON, B. G.; ROESKE, R. W. - Chemistry of cephalosporium antibiotics, 1.7-amino-cephalosporanic acid from cephalosporin J American Chem. Soc. 93: 2308-2310, 1962.
- GEANKOPLIS, C. J. - Transport processes and unit operations. 3ª ed. New Jersey Prentice Hall., cap. 7, p,426-478, 1993.
- GOSLING, D. C. & FRY, D. M. - The role of adsorption isotherms in the design of chromatographic separation for downstream processing, Biotechnology. Group. Harwell Laboratory, Chem Eng Res Des. 67: 232-282, 1989.
- HANO, T.; MATSUMOTO, M.; OHTAKE, T.; HORI, F. - Reactive extraction of cephalosporin C, J Chem Eng. Japan, 25: 293-297, 1992.
- HICKETIER, M. & BUCHHOLZ, K. - Investigations on cephalosporin C adsorption kinetics and equilibrium, Appl Microbiol Biotechnol. 32: 680-685, 1990
- HARIRI, M. H. - Bioseparations: design and engineering of partitioning systems. Bio/Technology. 7: 686-688, 1989.
- HIGGINS, C. E.; HARMILL, R. L.; SANDS, H.; HOCHEN, M. M.; DAVIES, R. N.; BOECK, D. F. - The occurrence of deacetoxycephalosporin c in fungi and streptomycetes. Antibiotic. Journal. 27: 298-299, 19
- KAMIMURA, E. S. - Modelagem e simulação de coluna cromatográfica por afinidade para purificação de proteína. Campinas , 1995. Tese de Mestrado - Fac. Eng. Alim. - Universidade Estadual de Campinas.
- KIRKBY, N. F.; SLATER, N. K.; WEISENBERGER, K. H.; ADDO-YOBO, F.; DOULIA, D. - HPLC Technique for parameter estimation for reversed-phase chromatography: - A case study on cephalosporin C, Chem. Eng. Science. 41: 2005-2016, 1986.
- MORRIS, O. J. & MORRIS, P. - Separation Methods in Biochemistry. 2a ed. Pitman, New York. 1967

- PIROTA, M. - Amberlite ER-180 a new styrene divinylbenzene adsorbent specifically designed for industrial chromatography and particularly for the extraction of cephalosporin C, Angew Makromol Chem. 197:109-110. 1982.
- QUENER, S. W.; WILKERSON, S. W.; TUNIN, D. R.; McDERMOTT, J. P.; CHAPMAN, J. L.; NASH, C.; WESTPHELING, J. - Cephalosporin C production: - Biochemical and regulatory aspects of sulfur metabolism in biotechnology of industrial antibiotics; ed. E. J. Vandamme. dekker, New York. 1984.
- ROHM and HAAS Amberlite XAD-2 - Polymeric Adsorbent, Separation Technologies (Boletim técnico), 1989.
- SCOPES, R. K. - Quantitative studies of ion-exchange and affinity elution chromatography of enzymes, Analytical Biochemistry. 114: 8-18, 1981.
- SMITH, A. - "Cephalosporins". Comprehensive Biotechnology, Murray Moo-Young, Pergamon, Oxford. 3: 1985
- SMITH, A. - Health care products, cephalosporins ; Ciba- Geigy a.g, basle, Switzerland.
- SMITH, A. & BAILEY, P. J. - Desacetylcephalosporin C production. Br. Pat. Appl. 2 060 610 A. 1985.
- SMITH, J. M. - Chemical Engineering Kinetics. 3<sup>a</sup>. ed. Tokio. McGraw-Hill, 1981.
- SPALDING, B. J. - Downstream processing: - Key to slashing production costs 100 fold, Bio/Technology. 9: 229-234, 1991.
- SRIDHAR, P. N.; SASTRI, J. M.; MUKHERJEE, A. K. - Mathematical simulation of bioseparation in an affinity packed column, Chem Eng. Technol. 17: 422-429, 1994.
- STABLES, H. C. & BRIGGS, K. - Ger Pat.2852 596, 1978
- VOSER, W.- Isolation of hydrophilic fermentation products by adsorption chromatography., J Chem. Tecnol. Biotechnol. 32: 109-111, 1982.

WAKAO, N. & FUNAZKRI, T. - Effect of fluid dispersion coefficients on particle-to-fluid mass transfer coefficients in packed beds. correlation of sherwood numbers, Chem. Eng. Science. 33 (10): 1375-1378, 1978.

WEBB .F.C. Ingeniería bioquímica; editorial acribia, apartado 466 Zaragoza - España, p.684-706, 1966.

WILSON, E. J. & GEANKOPLIS, C . J. - Liquid mass transfer at very low Reynolds Numbers in packed beds. Ind. Eng. Chem. Fundam. 5 (1): 9-14, 1966

YANG, C. M. & TSAO, G. T. - Packed - bed adsorption theories and their applications to affinity separations. Advances in Biochemical Engineering. 25: 1-18, 1982.