



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:
DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS

Tese de Doutorado

**Separação Cromatográfica dos Enantiômeros do Anestésico
Bupivacaína e Projeto de Condições de Operação em Leito Móvel
Simulado**

Doutorando: Ivanildo José da Silva Junior

Orientador: Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana

Campinas - São Paulo

Agosto de 2006



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:
DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS

Tese de Doutorado

**Separação Cromatográfica dos Enantiômeros do Anestésico
Bupivacaína e Projeto de Condições de Operação em Leito Móvel
Simulado**

Doutorando: Ivanildo José da Silva Junior

Orientador: Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana

Tese de doutorado, apresentada
à Faculdade de Engenharia Química,
como parte dos requisitos exigidos para
a obtenção do título de Doutor em
Engenharia Química.

Campinas - São Paulo

Agosto de 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE -
UNICAMP

Si38s Silva Junior, Ivanildo José da
Separação cromatográfica dos enantiômeros do
anestésico bupivacaína e projeto de condições de
operação em leito móvel simulado / Ivanildo José da
Silva Junior.--Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientador: Cesar Costapinto Santana
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Enantiômeros. 2. Cromatografia líquida de alta
eficiência. 3. Massa – Transferência. 4. Adsorção. I.
Santana, Cesar Costapinto. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III.
Título.

Titulo em Inglês: Chromatographic separation of the enantiomers of
anesthetic bupivacaine and design of operating conditions
in simulated moving bed

Palavras-chave em Inglês: Enantiomers, Bupivacaine, High performance
liquid chromatography, Mass transfer,
Adsorption

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos

Titulação: Doutor em Engenharia Química

Banca examinadora: Diana Cristina Silva Azevedo, Antonio José de
Almeida Meirelles, Isabel Cristina Sales Fontes Jardim
e Antonio Carlos Luz Lisbôa

Data da defesa: 17/08/2006

Tese de Doutorado defendida por Ivanildo José da Silva Junior e aprovada em 17 de agosto de 2006 pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Cesar Santana

Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana (FEQ/UNICAMP) - Orientador

Diana Azevedo

Profa. Dra. Diana Cristina Silva Azevedo (DEQ/UFC)

Antonio José de Almeida Meirelles

Prof. Dr. Antonio José de Almeida Meirelles (FEA/UNICAMP)

Isabel Jardim

Profa. Dra. Isabel Cristina Sales Fontes Jardim (IQ/UNICAMP)

Antonio Carlos Luz Lisboa

Prof. Dr. Antonio Carlos Luz Lisboa (FEQ/UNICAMP)

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado em Engenharia Química, defendida por Ivanildo José da Silva Junior em 17 de agosto de 2006, sob a orientação do prof. Dr. Cesar Costapinto Santana.



Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana - Orientador

*En cada homem há
que presenciar a vida e a morte,
e cada homem, em si,
que sentir a vida e a morte.
En cada homem há
que em dias tristes em casa não quer
Prefiro ser feliz, em casa
que em companhia de viver...*

Martin Luther King (1929 - 1968)

*"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ..."*

Martin Luther King (1929 - 1968)

*A minha esposa Sylvia Uchôa de Albuquerque, pelo amor,
carinho, apoio e compreensão .*

*Aos meus pais, Ivanildo e Luzia, por serem os
maiores responsáveis por tudo que sou
e a quem devo todo o meu amor e respeito.*

Aos meus irmãos e familiares.

Aos meus sogros Sônia e Ubiratan (in memoriam).

Agradecimentos

Agradeço a Deus, primeiramente, por sempre ter iluminado meu caminho e mesmo nos momentos mais difíceis, ter sido Ele o grande responsável pela superação e motivação a sempre continuar lutando por tudo aquilo que sempre almejei.

Ao professor Cesar Costapinto Santana, por sempre ter confiado no meu trabalho, pelo interesse e preocupação além das orientações seguras.

Ao professor Everson Alves Miranda por ter cedido o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência utilizado na realização deste trabalho e aos demais professores do DPB/FEQ.

Ao professor Carlos Roque Correia Duarte pelas sugestões e por ter disponibilizado espaço em seu laboratório para realização de parte dos trabalhos.

Ao professor Antônio Carlos Luz Lisboa pelas sugestões dadas no exame de qualificação e por sempre ter estado disposto a contribuir para o desenvolvimento dos trabalhos.

Aos amigos Vinicius de Veredas, Marco Antônio Garcia dos Santos e Amaro Gomes Barreto Júnior pelo apoio e dedicação indispensáveis durante a realização do trabalho. Parte desse trabalho só foi possível devido ao longo tempo dispensado na busca de soluções para os problemas que surgiram no decorrer dos experimentos, as longas horas de discussões dos resultados, e pela agradável convivência.

Aos amigos Ana Paula, André, Alessandra, Érika, Igor, Fabiana, Tashima, Goran, Oselys, Paula, João Paulo, Raquel e Mariana pelos momentos de descontração e “filosóficos” durante os intervalos do café.

A todos ex-colegas de laboratório e da FEQ.

Ao amigo Michael Rodgers (e família) pelo apoio, amizade e conselhos sempre oportunos.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, mas que por algum motivo não foram mencionados o meu muito obrigado.

Resumo

Este trabalho teve por objetivo a determinação de parâmetros cromatográficos envolvidos na separação dos enantiômeros do anestésico bupivacaína, visando sua utilização no projeto de uma unidade cromatográfica do tipo leito móvel simulado (LMS) com colunas quirais O,O'-bis[4-terc-butilbenzoil]-N,N'-dialil-L-tartadiamida e hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v) como fase móvel. Os experimentos para determinação dos parâmetros foram realizados em uma única coluna, divididos em dois conjuntos de ensaios utilizando soluções diluídas e soluções concentradas.

Experimentos de pulsos com soluções diluídas dos traçadores e dos enantiômeros da bupivacaína foram realizados variando a vazão de 1,0 a 4,0 mL/min e às temperaturas de 25, 35 e 45 °C. A detecção foi realizada no comprimento de onda de 270 nm com a finalidade de determinar as porosidades do sistema, as constantes de equilíbrio de adsorção sob condições lineares das isotermas (coeficientes de Henry), os coeficientes de dispersão axial e parâmetros de transferência de massa. Os cromatogramas mostraram que os perfis apresentam baixa dispersão e que a coluna apresenta uma alta eficiência de separação com valores de número de pratos superiores a 5000, para vazão de 1,0 mL/min. Os valores dos coeficientes de Henry foram maiores que a unidade para ambos enantiômeros, sendo que o enantiômero mais retido, S-(-)-bupivacaína, apresentou maior afinidade pela coluna quiral com maiores valores dos coeficientes de Henry. Parâmetros termodinâmicos confirmaram a maior afinidade da S-(-)-bupivacaína pela coluna com maiores valores negativos de entalpia de adsorção (ΔH^0). Os coeficientes de transferência de massa globais apresentaram valores com alta ordem de magnitude aumentando com a elevação da temperatura. Os valores do coeficiente de transferência de massa foram superiores a 150 min^{-1} para temperatura de 25 °C. A alta eficiência de separação deve-se, provavelmente, à rápida taxa de transferência de massa em que os processos convectivos são dominantes.

Experimentos a altas concentrações (condições de sobrecarga) foram realizados com a finalidade de se determinar às isotermas competitivas não-lineares pelo método da análise frontal e também os perfis de eluição sob estas condições. As isotermas de adsorção competitivas apresentaram comportamento não-linear para a faixa de concentração utilizada e foram satisfatoriamente ajustadas ao modelo de Langmuir competitivo.

Os parâmetros termodinâmicos de adsorção lineares e de transferência de massa foram utilizados para o projeto das condições operacionais da unidade LMS pela metodologia dos volumes de separação. As regiões de separação foram calculadas em que foram observadas reduções significativas nas regiões de separação com a imposição dos efeitos não-ideais. A predição de separação foi realizada pelas abordagens do leito móvel verdadeiro e do leito móvel simulado, a partir de soluções numéricas utilizando os modelos do transporte dispersivo e do equilíbrio dispersivo, respectivamente. Em ambas abordagens, os parâmetros de desempenho (pureza, produtividade e consumo de solvente) apresentaram resultados próximos.

Palavras-chave: cromatografia líquida de alta eficiência; enantiômeros; transferência de massa; adsorção, leito móvel simulado.

Abstract

The aim of this work was the determination of chromatographic parameters in the enantiomeric separation of anesthetic bupivacaine and design the chromatographic separation in a simulated moving bed (SMB), using 0,0'-bis[4-tert-butylbenzoyl]-N,N'-diallyl-L-tartadamide as chiral columns and hexane/2-propanol/acetic acid/triethylamine (98/2/0,3/0,05 v/v) as mobile phase. The experiments were performed using a single column and were divided in two sets using dilute and concentrated solutions.

Pulse experiments with dilute solutions of inert compounds and the bupivacaine enantiomers were accomplished at different flow rates (1.0 to 4.0 mL/min) and temperatures (25, 35 and 45 °C). The peak responses were monitored at 270 nm. The integration of the responses gave information about the porosities, linear equilibrium adsorption constants (Henry constants), axial dispersion and mass transfer coefficients. The chromatograms showed low dispersion and high separation efficiency with 5000 plate number to the flow-rate of 1.0 mL/min. The more retained enantiomer, S-(-)-bupivacaine, has more affinity for the chiral column with higher values of Henry constants than the less retained enantiomer. Thermodynamics parameters confirm the major affinity of S-(-)-bupivacaine with high negative values of adsorption enthalpy (ΔH^0). The overall mass transfer coefficient increased with increase in temperature and achieved values of high order of magnitude about 150 min^{-1} at 25 °C. The high efficiency observed is probably due to the fast mass transfer which is dominating by convective effects.

Experiments in overloaded conditions were realized in order to obtain the competitive equilibrium adsorption isotherms by frontal analysis, as well overload elution profiles. The competitive isotherms shown a nonlinear behaviour to the range of concentration investigated and the Langmuir competitive model represent satisfactorily the adsorption data.

The linear equilibrium constants and mass transfer parameters were used to design the operating conditions in a SMB unit by separation volumes methodology. The separation regions were obtained concerning the resistances of mass transfer. It was observed a significant reduction in the separation region for different mass transfer coefficients and purity requirement. The prediction of the chromatographic SMB separation for linear conditions was performed using simulated moving bed approach and true moving bed approach (TMB). In SMB approach was used equilibrium dispersive mathematical model and for TMB approach the transport dispersive mathematical model. For these approaches, the performance parameters (purity, productivity and solvent consumption) showed practically the same values.

Key-words: high performance liquid chromatography; enantiomers; mass transfer; adsorption; simulated moving bed

Lista de Símbolos

a_p	Área da superfície externa das partículas (cm ²)
A	Área da seção transversal (cm)
A_s	Fator de assimetria
b	Constante de equilíbrio de adsorção do soluto
b_s	Constante de equilíbrio de adsorção do soluto nos sítios seletivos na Eq. (2.41)
b_{ns}	Constante de equilíbrio de adsorção do soluto nos sítios não-seletivos na Eq. (2.41)
c	Concentração do soluto na fase líquida (g L ⁻¹)
c_r	Resposta do detector nas Eqs. (2.32)e (2.33)
c_p	Concentração do soluto na fase fluida estagnada nos poros das partículas (g L ⁻¹)
c_0	Concentração inicial do soluto na fase líquida (g L ⁻¹)
C	Concentração do soluto na fase líquida na forma adimensionada
CS	Consumo de solvente (L g ⁻¹)
d_p	Diâmetro das partículas (cm)
D	Diâmetro da coluna (cm)
D_{ef}	Difusividade efetiva (cm ² min ⁻¹)
D_L	Coeficiente de dispersão axial (cm ² min ⁻¹)
D_{ap}	Coeficiente de dispersão axial aparente (cm ² min ⁻¹)
D_m	Difusividade molecular (cm ² min ⁻¹)
D_p	Difusividade no poro (cm ² min ⁻¹)
h	Constante de equilíbrio linear na Eq. (2.42)
H	Coeficiente de Henry
H	Altura equivalente a um prato (cm)
k_m	Coeficiente de transferência de massa global (min ⁻¹)
k_f	Coeficiente de transferência de massa externo (cm min ⁻¹)

k	Fator de retenção
K	Constante de equilíbrio nas Eqs. (2.34), (2.35), (2.36)
L	Comprimento da coluna (cm)
m	Razão entre as vazões de líquido e de sólido
M	Massa molar (g/gmol)
N	Número de pratos
P	Pureza (%)
PR	Produtividade (g dia ⁻¹ /L de FEQ)
Pe	Número de Peclet
Q	Vazão volumétrica (mL/min)
q	Concentração do soluto na fase estacionária (g·L ⁻¹)
q^*	q em equilíbrio com c (g L ⁻¹)
q_s	Capacidade de saturação (g L ⁻¹)
q_{ns}	Capacidade de saturação dos sítios não-seletivos na Eq. (2.41) (g L ⁻¹)
r_p	raio da partícula (cm)
r	coordenada radial
R	Constante universal dos gases (J mol ⁻¹ K ⁻¹)
R_S	Resolução
R_p	Raio da partícula (cm)
T	Temperatura (°C, K)
t	Tempo (min)
t_M	Tempo de retenção do componente não retido (min)
t_R	Tempo de retenção do componente retido (min)
t_{ext}	Tempo de retenção do soluto na ausência da coluna (min)
t_p	Tempo de injeção (min)
T_{iso}	Temperatura enantioseletiva (°C)
u	Velocidade superficial da fase móvel (cm min ⁻¹)
u_s	Velocidade superficial da fase sólida (cm min ⁻¹)
V_a	Volume do adsorvente (mL)
V_b	Volume molar à temperatura de ebulição (cm ³)

V_C	Volume da coluna (mL)
V_F	Volume de inflexão (mL)
V_{ext}	Volume extra-coluna do sistema cromatográfico (mL)
V^D	Volume morto entre as colunas na unidade LMS (mL)
V_0	Volume morto externo a coluna (mL)
z	Distância longitudinal da coluna (cm)
Z	Distância longitudinal adimensionada
w_b	Largura do pico na linha de base (cm)
w_h	Largura do pico a meia altura (cm)
ΔH^0	Variação de entalpia (KJ mol ⁻¹)
ΔS^0	Variação de entropia (J mol ⁻¹)
ΔG^0	Variação de energia livre (KJ mol ⁻¹)
Δp	Variação de pressão (bar)

Símbolos gregos

α	Fator de separação
β	Coeficiente de Kozeny na Eq. (2.45)
ε	Porosidade do leito
ε_T	Porosidade total do leito
ε_p	Porosidade da partícula
μ	Primeiro momento (min)
σ^2	Segundo momento (min ²)
τ	Adimensional de tempo
γ	Razão entre as fases líquida e sólida
δ	Concentração do soluto na fase sólida na forma adimensionada
φ	Adimensional de transferência de massa
η	Viscosidade (g cm ⁻¹ s ⁻¹)
κ	Permeabilidade do leito
ϕ	Razão entre as fases da coluna

ω Parâmetro nas Eqs. (2.56), (2.62), (2.63), (2.64), (2.65), (2.67) e (2.68)

Lista de Tabelas

Tabela 2.1. Fases estacionárias quirais baseadas em polissacarídeos atualmente mais utilizados para separações em escala preparativa.

Tabela 2.2. Relação de equivalência entre o LMS e o LMV

Tabela 3.1. Análise realizada pelo fabricante para a FEQ Kromasil® CHI-TBB

Tabela 3.2. Definição dos parâmetros de desempenho do processo LMS

Tabela 4.1. Parâmetros analíticos de separação da bupivacaína na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB a diferentes vazões e temperaturas

Tabela 4.2. Parâmetros termodinâmicos da separação dos enantiômeros da bupivacaína na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB

Tabela 4.3. Coeficientes de Henry para os enantiômeros da bupivacaína as temperaturas de 25, 35 e 45 °C

Tabela 4.4. Número de pratos para os enantiômeros da bupivacaína a diferentes vazões e temperaturas na coluna Kromasil® CHI-TBB

Tabela 4.5. Coeficientes de dispersão axial e parâmetros de transferência de massa para os enantiômeros da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB para as temperaturas de 25, 35 e 45 °C

Tabela 5.1. Condições operacionais e parâmetros do modelo utilizados na simulação do LMV

Tabela 5.2. Equivalência entre as vazões do LMV e do LMS

Tabela 5.3. Condições operacionais de separação da cetamina em MCTA com diferentes concentrações de alimentação e $t^* = 25$ min

Tabela 5.4. Parâmetros do modelo utilizados na simulação do LMV

Tabela 5.5. Purezas nas correntes de extrato (P_E) e refinado (P_R) dos perfis internos simulados com diferentes valores de k_m

Tabela 5.6. Tempos de retenção, coeficientes de Henry, seletividade e porosidade total nas oito colunas Kromasil® CHI-TBB à vazão de 1,0 mL/min

Tabela 5.7. Condições de operação de separação da bupivacaína na unidade LMS para isothermas lineares com $t^* = 25$ min e $c_F = 0,5$ g/L

Tabela 5.8. Purezas nas correntes extrato (P_E) e refinado (P_R) dos perfis internos obtidos pelas abordagens do LMS e LMV

Lista de Figuras

Figura 1.1. Representação esquemática de moléculas quirais.

Figura 2.1. Estrutura molecular da bupivacaína. O símbolo (★) representa o centro quiral da molécula.

Figura 2.2. Princípio básico do LMV e um típico perfil de concentrações (à direita). O componente *B* é adsorvido mais fortemente que o componente *A*.

Figura 2.3. Possíveis configurações de uma unidade LMS com quatro zonas (duas colunas por zona): (a) circuito aberto; (b) circuito fechado.

Figura 2.4. Cromatograma explicativo com medidas para cálculo de A_s .

Figura 2.5. Regiões do plano (m_{II} , m_{III}) com diferentes regimes de separação em termos de pureza nas linhas de saída, para um sistema descrito pela isoterma de adsorção linear onde as constantes de Henry hipotéticas possuem valores iguais a $H_A = 1$ e $H_B = 4$.

Figura 2.6. Separação de uma mistura binária usando um dessorvente não-adsorvido pela fase estacionária. Regiões do plano (m_{II} , m_{III}) com diferentes regimes de separação em termos de pureza das correntes de saída, para um sistema descrito por isotermas de Langmuir não-estequiométrica.

Figura 3.1. Estrutura molecular da FEQ *O,O'*-bis[4-*terc*-butil-benzoil]-*N,N'*-dialil-*L*-tartardiamida. R denota a repetição da unidade do seletor.

Figura 3.2. (a) Estrutura química do TTBB; (b) Estrutura química do poliestireno.

Figura 3.3. Sistema de CLAE utilizado na realização dos experimentos.

Figura 3.4. Seqüência de experimentos em uma única coluna para determinação de parâmetros utilizados para o cálculo das regiões de separação e determinação das condições operacionais pelo modelo do LMV e predição de separação utilizando os modelos do LMV e do LMS.

Figura 4.1. Cromatograma do poliestireno. Condições experimentais: fase móvel THF 100%; concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão: 3,0 mL/min; temperatura: 25°C; volume de injeção: 20 µL.

Figura 4.2. Cromatograma do TTBB. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25°C; volume de injeção: 20 µL.

Figura 4.3. Cromatograma da bupivacaína racêmica. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25°C; volume de injeção: 20 µL.

Figura 4.4. Cromatograma da *R*-(+)-bupivacaína. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,75 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25°C; volume de injeção: 20 µL.

Figura 4.5. Cromatograma da *S*-(-)-bupivacaína. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,75 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25°C; volume de injeção: 20 µL.

Figura 4.6. Cromatogramas da bupivacaína racêmica as temperaturas de 25, 35 e 45 °C. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; volume de injeção: 20 µL.

Figura 4.7. Efeito da vazão e temperatura na resolução dos enantiômeros da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB.

Figura 4.8. Gráficos de van't Hoff para a bupivacaína: (a) $\ln k$ versus $1/T$ para (□) *S*-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9997$ e (◇) *R*-(+)-bupivacaína com $R^2 = 0,9989$; (b) $\ln \alpha$ versus $1/T$ com $R^2 = 0,9929$.

Figura 4.9. Gráfico de van Deemter para o TTBB e para os enantiômeros da bupivacaína a 25 °C: (○) TTBB com $R^2 = 0,9946$; (□) R-(+)-bupivacaína com $R^2 = 0,9999$; (◇) S-(-)- bupivacaína com $R^2 = 0,9603$.

Figura 4.10. Gráfico de van Deemter para os enantiômeros da bupivacaína a 35 °C: (○) TTBB com $R^2 = 0,9855$; (□) R-(+)-bupivacaína com $R^2 = 0,9965$; (◇) S-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9983$.

Figura 4.11. Gráfico de van Deemter para os enantiômeros da bupivacaína a 45 °C: (○) TTBB com $R^2 = 0,9793$; (□) R-(+)-bupivacaína com $R^2 = 0,9827$; (◇) S-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9623$.

Figura 4.12. Curva de ruptura da bupivacaína racêmica a uma concentração total de alimentação igual a 6,0 g/L e vazão igual a 2,0 mL/min.

Figura 4.13. Isotermas de adsorção competitivas da bupivacaína obtidas por experimentos de análise frontal em um único degrau a vazão de 2,0 mL/min: (□) S-(-)-bupivacaína e (○) R-(+)-bupivacaína. Dados experimentais ajustados ao modelo de Langmuir competitivo.

Figure 4.14. Gráfico de Scatchard para os dados experimentais de adsorção dos enantiômeros da bupivacaína obtidos por análise frontal: (□) R-(+)-bupivacaína e (○) S-(-)-bupivacaína.

Figura 4.15. Cromatograma da bupivacaína racêmica a diferentes concentrações e volume de injeção constante igual a 20 µL. Vazão de alimentação 3,0 mL/min.

Figura 4.16. Cromatograma da bupivacaína racêmica a diferentes volumes de injeção e concentração constante igual a 10,0 g/L. Vazão de alimentação 3,0 mL/min.

Figura 5.1. Perfil interno de concentração no estado estacionário obtido pelo modelo do LMV para separação de glucose e frutose.

Figura 5.2. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da cetamina em MCTA.

Figura 5.3. Influência das resistências à transferência de massa no desempenho de separação no estado estacionário da cetamina em MCTA para condição 1 (Tabela

5.3). A linha (—) corresponde a $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,6 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$; e (—) a $k_m = 1,0 \text{ min}^{-1}$.

Figura 5.4. Influência das resistências à transferência de massa no desempenho de separação no estado estacionário da cetamina em MCTA para condição 2 (Tabela 5.3). A linha (—) corresponde a $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,6 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$; e (—) a $k_m = 1,0 \text{ min}^{-1}$.

Figura 5.5. Influência das resistências à transferência de massa no desempenho de separação no estado estacionário da cetamina em MCTA para condição 3 (Tabela 5.3). A linha (—) corresponde a $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,6 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$; e (—) a $k_m = 1,0 \text{ min}^{-1}$.

Figura 5.6. Perfis de concentração internos no estado estacionário experimentais e calculados pelo modelo do LMV na separação da cetamina em MCTA, para a condição 1 descrita na Tabela 5.3. Os perfis internos foram calculados pelo modelo com valor de $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$. O ponto experimental (Δ) corresponde ao enantiômero mais retido (*R*-cetamina) na corrente de extrato e (\circ) ao enantiômero menos retido (*S*-cetamina) na corrente de refinado. A linha (—) corresponde a corrente de extrato e (—) a corrente de refinado.

Figura 5.7. Perfis de concentração experimentais e calculados para BT em MCTA: (a) simulação com $Pe = 10$; (b) simulação com $Pe = 20$. Os pontos experimentais correspondem a (\circ) (-)-BT e (\square) (+)-BT (**Zenoni et al., 2000**). As linhas correspondem as médias dos perfis de concentração calculados pela estratégia do LMS ao longo dos ciclos.

Figura 5.8. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da bupivacaína em Kromasil[®] CHI-TBB para pureza mínima de 90% nas correntes de extrato e de refinado.

Figura 5.9. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da bupivacaína em Kromasil[®] CHI-TBB para pureza mínima de 95% nas correntes de extrato e de refinado.

Figura 5.10. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da bupivacaína em Kromasil[®] CHI-TBB para pureza mínima de 98% nas correntes de extrato e de refinado.

Figura 5.11. (a) Influência de γ_I na região de separação para $\gamma_{IV} = 0,59$; (b) Influência de γ_{IV} na região de separação para $\gamma_I = 2,37$.

Figura 5.12. Região de separação da bupivacaína em Kromasil[®] CHI-TBB para pureza mínima de 98% nas correntes de extrato e de refinado, $k_m = 2,0 \text{ min}^{-1}$, e valores de $\gamma_{II} = 2,77$ e $\gamma_{IV} = 1,07$.

Figura 5.13. Efeito da vazão de alimentação na produtividade (\square) e consumo de solvente (\circ) para a corrente de extrato (a) e de refinado (b).

Figura 5.14. Região de separação da bupivacaína em Kromasil[®] CHI-TBB para pureza mínima de 98% nas correntes de extrato e de refinado, $k_m = 2,0 \text{ min}^{-1}$, e valores de $\gamma_{II} = 2,77$ e $\gamma_{IV} = 1,07$. Os pontos operacionais (\diamond) identificados por 1, 2 e 3 correspondem às condições de operação descritas na Tabela 5.7.

Figura 5.15 Perfis de concentração transientes para as correntes de extrato e refinado para condição 1 descrita na Tabela 5.7.

Figura 5.16. Perfis de concentração transientes para as correntes de extrato e refinado para condição 2 descrita na Tabela 5.7.

Figura 5.17. Perfis de concentração transientes para as correntes de extrato e refinado para condição 3 descrita na Tabela 5.7.

Figura 5.18. Perfis de concentração nas correntes de extrato (a) e refinado (b) no estado estacionário durante um ciclo completo, para a condição 1 descrita na Tabela 5.7.

Figura 5.19. Comparação entre os perfis internos de concentração no estado estacionário obtidos pelas abordagens do LMS e LMV, para condição 1 descrita na Tabela 5.7.

Figura 5.20. Comparação entre os perfis internos de concentração no estado estacionário obtidos pelas abordagens do LMS e LMV, para condição 2 descrita na Tabela 5.7.

Figura 5.21. Comparação entre os perfis internos de concentração no estado estacionário obtidos pelas abordagens do LMS e LMV, para condição 3 descrita na Tabela 5.7.

Figura 5.22. Efeito da vazão de alimentação na produtividade da unidade LMS.

Figura 5.23. Efeito da vazão de alimentação no consumo de solvente da unidade LMS.

Lista de Publicações

- Silva Jr., I. J.,** Veredas, V., Santos, M. A. G., Santana, C. C., Carpes, M. J. S., Correia, C. R. D. (2006). Cromatografia em leito móvel simulado na produção de substâncias enantiomericamente puras ou enriquecidas em larga escala. *Química Nova*, 29, pp. 1027-1037.
- Silva Jr., I. J.,** Veredas, V., Carpes, M. J. S., Santana, C. C. (2005). Chromatographic separation of bupivacaine enantiomers by HPLC: Parameters estimation of equilibrium and mass transfer under linear conditions. *Adsorption*, 11, pp. 123-129.
- Silva Jr., I. J.,** Santos, M. A. G., Veredas, V., Santana, C. C. (2005). Effect of temperature on chiral separation of ketamine enantiomers by high-performance liquid chromatography. *Separation Science and Technology*, 40, pp. 2593-2611.
- Silva Jr., I. J.,** Santos, M. A. G., Veredas, V., Santana, C. C. (2005). Experimental determination of chromatographic separation parameters of ketamine enantiomers on MCTA. *Separation and Purification Technology*, 43, pp. 103-110.
- Santos, M.A. G., Veredas, V., **Silva Jr., I. J.,** Correia, C. R. D., Furlan, L. T., Santana, C. C. (2004) Simulated Moving-Bed Adsorption for Separation of Racemic Mixtures. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21, 127 - 136.

Índice

Agradecimentos	vii
Resumo	ix
Abstract	x
Lista de Símbolos	xi
Lista de Tabelas	xv
Lista de Figuras	xvii
Lista de Publicações	xxiii
Capítulo 1. Introdução	1
1.1. Os enantiômeros e os fármacos quirais	1
1.2. Aspectos econômicos de fármacos quirais	4
1.3. Separação enantiomérica em larga escala	4
1.4. Objetivos	8
Capítulo 2. Revisão Bibliográfica	9
2.1. A bupivacaína e sua atividade biológica	9
2.2. Adsorção em leitos móveis	12
2.3. Utilização do LMS para separações enantioméricas de fármacos quirais	17
2.4. Modelagem matemática do LMS	23
2.4.1. Modelagem matemática de colunas cromatográficas	25
Modelo geral da cromatografia (MG)	26
Modelo do equilíbrio-dispersivo (MED)	28
Modelo do transporte-dispersivo (MTD)	29
Modelo ideal (MI)	29
2.4.2. Modelagem matemática para o processo LMS e LMS	29
Modelo matemático para o LMS	30
Modelo matemático para o LMV	33
2.5. Determinação de parâmetros em leito fixo	35
2.5.1. Parâmetros analíticos de separação	37
2.5.2. Parâmetros termodinâmicos e mecanismo de retenção	39
2.5.3. Método dos momentos e altura equivalente a um prato teórico	42
2.5.4. Isotermas de equilíbrio de adsorção	45
Modelo de Langmuir competitivo	47
Modelo bi-Langmuir competitivo	48
Modelo Langmuir competitivo modificado	49

Determinação de isotermas de adsorção por análise frontal	49
2.5.5. Estimativa da queda de pressão	50
2.6. Condições de operação para unidades LMS	51
2.6.1. Método dos triângulos	54
Método do triângulo para isotermas lineares	55
Método do triângulo para isotermas não-lineares	57
2.6.2. Método dos volumes de separação	61
Capítulo 3. Materiais e Métodos	64
3.1. Materiais	64
3.1.1. A bupivacaína e seus enantiômeros puros	64
3.1.2. O adsorvente	65
3.1.3. Os compostos inertes	67
3.1.4. As fases móveis	68
3.1.5. Aparelhagem experimental	69
Unidade de CLAE	69
3.2. Métodos	70
3.2.1. Experimentos com soluções diluídas	71
3.2.2. Experimentos com soluções concentradas	72
Determinação das isotermas de adsorção competitivas	72
Determinação dos perfis de eluição em condições de sobrecarga	73
3.2.3. Obtenção das regiões de separação, condições operacionais e predição de separação	74
Estratégia do LMV	74
Estratégia do LMS	76
Desempenho de separação	78
Capítulo 4. Resultados e Discussão I	79
Experimentos com soluções diluídas	79
4.1. Determinação dos perfis de eluição e parâmetros analíticos de separação da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB	79
4.2. Análise termodinâmica e determinação do mecanismo de retenção da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB	86
4.3. Determinação da porosidade total, do leito, das partículas e dos coeficientes de Henry	90
4.4. Determinação dos parâmetros de transferência de massa	92
Experimentos com soluções concentradas	97
4.5. Determinação das isotermas competitivas de adsorção	97

4.6. Perfis de eluição em condições de sobrecarga	101
Capítulo 5. Resultados e Discussão II	105
Avaliação das estratégias do LMV e LMS	105
5.1. Avaliação da estratégia do LMV – comparação com resultados reportados na literatura	105
5.2. Avaliação da estratégia do LMS – comparação com resultados reportados na literatura	115
Caracterização das colunas cromatográficas Kromasil® CHI-TBB, obtenção das regiões de separação, projeto das condições operacionais da unidade LMS e predição de separação da bupivacaína para isothermas lineares	117
5.3. Caracterização das colunas Kromasil® CHI-TBB	117
5.4. Determinação das regiões de separação – avaliação da influência das resistências à transferência de massa e requerimento de pureza para isoterma linear	119
5.5. Determinação dos volumes de separação e dos parâmetros de desempenho – avaliação da influência de γ_I e γ_{IV} na presença das resistências à transferência de massa para isothermas lineares	124
5.6. Predição de separação da bupivacaína pelos modelos do LMV e LMS para isothermas lineares	128
Capítulo 6. Conclusões e sugestões para trabalhos futuros	137
Bibliografia	140

Capítulo 1

1. Introdução

1.1. Os enantiômeros e os fármacos quirais

Enantiômeros são isômeros que diferem entre si apenas pela maneira como os átomos estão dispostos no espaço, mas que são idênticos no que diz respeito às ligações atômicas e à sua ordenação nas respectivas moléculas. Os enantiômeros pertencem à classe de isômeros também conhecidos como *estereoisômeros*, cujas moléculas são imagens especulares umas das outras, mas que não se superpõem. Isômeros cujas moléculas não são imagens especulares são chamados de *diastereoisômeros*. A não-sobreponibilidade de um objeto à sua imagem num espelho plano determina a existência de enantiômeros e também é a causa de tais moléculas possuírem atividade óptica; os enantiômeros designam-se, por isso, freqüentemente, *isômeros ópticos*. A mistura entre dois enantiômeros é conhecida como *racemato* ou *mistura racêmica* e é opticamente inativa.

As moléculas que não são sobreponíveis às respectivas imagens num espelho plano chamam-se *quirais* (Figura 1.1). Quiralidade é a condição necessária e suficiente para a existência de enantiômeros. Todas as moléculas quirais têm enantiômeros e todas as moléculas ou objetos opticamente ativos são quirais. Por

outro lado, uma molécula que se superpõe à sua imagem especular é dita *aquiral*, isto é, é uma molécula opticamente inativa e não possui enantiômero.

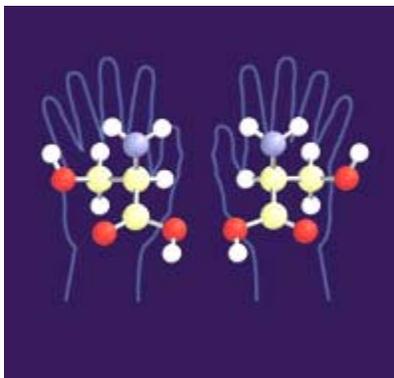


Figura 1.1. Representação esquemática de moléculas quirais.

A quiralidade é uma propriedade intrínseca dos “blocos estruturais da vida”, tais como aminoácidos e açúcares e, conseqüentemente, peptídeos, proteínas e polissacarídeos. Como resultado da natureza quiral dos sistemas biológicos, enzimas e receptores de membrana são sensíveis à estereoquímica de seus substratos e ligantes, realizando um reconhecimento seletivo dos isômeros configuracionais e interagindo diferentemente com cada um dos enantiômeros, provocando, na maioria das vezes, diferentes respostas biológicas (**Maier *et al.*, 2001**).

A separação de isômeros ópticos é importante para o desenvolvimento e manufatura de numerosos terapêuticos. No intuito de conferir a composição dos fármacos, bem como estudos farmacocinéticos e estudos clínicos mais elaborados, a habilidade para obter quantidades destes isômeros ópticos separadamente se tornou de essencial importância. Muitos fármacos são administrados como uma mistura racêmica. No organismo, a maioria dos enantiômeros se comporta como duas entidades diferentes; processos controlados pela estereosseletividade, tais

como a absorção do fármaco, distribuição, metabolismo e eliminação, podem diferir substancialmente entre os enantiômeros (Sioni *et al.*, 1992).

Como exemplo clássico da importância da quiralidade na indústria farmacêutica, podemos citar o caso da talidomida. Na década de 60, a talidomida foi comercializada na sua forma racêmica como um sedativo, para aliviar náuseas matinais em gestantes. Esse medicamento foi retirado do mercado após ter sido constatado apresentar sérios efeitos colaterais. Estudos posteriores confirmaram que apenas o *R*-enantiômero possui atividade sedativa desejada, enquanto que o *S*-enantiômero apresenta propriedades teratogênicas, levando a deformações congênitas em fetos, quando administrado em gestantes (Juza *et al.*, 2000). O caso da talidomida foi um marco trágico para a indústria farmacêutica acarretando mudanças profundas na legislação e no controle de fármacos e medicamentos. Em decorrência disso, enantiômeros individuais de fármacos precisam ter suas propriedades farmacológicas (qualitativa e quantitativamente), farmacocinéticas (absorção, distribuição, biotransformação e excreção) e efeitos toxicológicos bem estabelecidos antes de sua comercialização.

Devido às diferentes propriedades biológicas que cada enantiômero pode exercer nos processos bioquímicos, a obtenção de substâncias opticamente puras tornou-se um grande desafio para os pesquisadores e para a indústria farmacêutica. A experiência acumulada ao longo dos anos levou os órgãos regulamentadores internacionais a introduzir legislações mais rígidas no controle clínico dos medicamentos e a exigir da indústria farmacêutica a comercialização de medicamentos na sua forma enantiomericamente pura. As autoridades reguladoras da saúde nos Estados Unidos, o FDA (Food and Drug Administration), têm colocado exigências mais rigorosas quanto à concessão de novas patentes de drogas racêmicas, exigindo documentação completa quanto ao perfil farmacológico e farmacocinético dos enantiômeros individuais e de suas combinações.

1.2. Aspectos econômicos de fármacos quirais

Durante a última década, houve grande interesse quanto à obtenção de enantiômeros em sua forma opticamente pura, devido a razões científicas e econômicas, sendo a indústria farmacêutica o principal interessado (**Maier et al., 2001**). Entre 1992 e 2000, o mercado mundial para compostos químicos opticamente puros aumentou de US\$ 30 bilhões para uma estimativa de US\$ 100 bilhões, com quase duas dúzias de companhias que se especializaram em separações quirais (**Rekoske, 2001**).

Em 2002, a venda mundial de medicamentos contendo um único enantiômero ultrapassou os US\$ 159 bilhões, sendo que as duas drogas mais vendidas nesse mesmo ano, o Liptor e Zocor, renderam juntas US\$ 14 bilhões (**Rouhi, 2003**). **Rekoske (2001)** relatou que entre as 500 drogas mais vendidas no mundo, 269 já estavam sendo comercializadas como um único enantiômero.

1.3. Separação enantiomérica em larga escala

Devido à grande semelhança estrutural entre dois enantiômeros, métodos tradicionais de separação, tais como cristalização fracionada, destilação fracionada ou cromatografia, não são capazes de separar com eficiência uma mistura enantiomérica. Dentro deste contexto, duas rotas são freqüentemente utilizadas para a obtenção de enantiômeros opticamente puros: a síntese estereoseletiva e a resolução de uma mistura racêmica por *cromatografia líquida de alta eficiência* (CLAE) em *fase estacionária quiral* (FEQ).

Embora a síntese estereosseletiva seja útil para a preparação de grandes quantidades de material, o tempo requerido no seu desenvolvimento pode torná-la impraticável e não-atrativa, especialmente quando se necessita de apenas pequenas quantidades do enantiômero. Nesse caso, a resolução de uma mistura racêmica é preferível e tem-se ainda, como vantagem, a produção dos dois enantiômeros com

elevado grau de pureza óptica, essencial para testes farmacocinéticos, farmacológicos e farmacodinâmicos, enquanto que a síntese assimétrica produz apenas um dos enantiômeros. Mesmo quando a síntese assimétrica é a opção, faz-se necessário um método cromatográfico analítico exato e preciso para a determinação do excesso enantiomérico obtido.

A cromatografia é um processo de separação baseado no equilíbrio de distribuição dos componentes entre duas diferentes fases: a fase estacionária e a fase móvel. O transporte seletivo é o resultado da tendência do sistema para evoluir a um estado de equilíbrio que é caracterizado pela igualdade dos potenciais químicos de cada componente nestas duas fases **(Guiochon e Lin, 2003)**. A cromatografia líquida tradicional em batelada tem sido amplamente utilizada pelas indústrias farmacêuticas, de química fina, de bioprodutos, entre outras, seja para fins analíticos ou também como uma técnica preparativa.

A cromatografia preparativa pode servir para o isolamento de poucos miligramas, para elucidação estrutural ou para o isolamento de gramas ou quilogramas, requerendo, neste último caso, diferentes perspectivas no desenvolvimento da separação. Enquanto que na cromatografia analítica o que importa é a eficiência da separação, na cromatografia preparativa o importante é a quantidade de material isolado por tempo de trabalho **(Cass e Degani, 2001)**.

A separação enantiomérica através da cromatografia tem evoluído bastante nos últimos anos. Essa evolução é principalmente devido ao desenvolvimento de novas FEQs com elevado poder de resolução. Entretanto, a cromatografia convencional em batelada se torna inviável em termos econômicos, pois, para produção em larga escala, faz-se necessário o emprego de uma grande quantidade da FEQ e um alto consumo de solvente (fase móvel) ocasionando altas condições de diluição do produto final. Além disso, outros inconvenientes são as dificuldades associadas ao reciclo, operações descontínuas e utilização de adsorventes não-seletivos **(Haag et al., 2001; Schulte e Strube, 2001; Francotte e Richert, 1997)**.

No intuito de superar as desvantagens apresentadas pela cromatografia em batelada, foram desenvolvidos métodos cromatográficos contínuos contra-corrente, os quais apresentam uma elevada produtividade e menor consumo de solvente, quando comparado com sistemas convencionais de cromatografia. Dentre os processos contínuos, a técnica conhecida como *leito móvel simulado* (LMS), primeiramente introduzida pela Universal Oil Products (UOP) para purificação na indústria petroquímica na década de 60 do século passado, tem sido a mais recentemente utilizada para separação de enantiômeros.

A tecnologia do LMS é um importante processo de separação cromatográfica contínua cujo princípio da operação baseia-se no leito móvel verdadeiro (LMV). No LMV, há um escoamento real da fase sólida adsorvente no sentido contra-corrente ao escoamento da fase líquida. No LMS, uma série de colunas contendo uma fase sólida (fase estacionária) são conectadas de modo a formar um circuito que é dividido em quatro zonas, possuindo duas correntes de entrada (alimentação e dessorvente) e podendo conter duas correntes de saída (retirada do extrato e do refinado) para uma configuração fechada, ou podendo conter três correntes de saída (retirada do extrato, de refinado e de dessorvente) para uma configuração aberta. As correntes de entrada e de saída na unidade são periodicamente avançadas na direção do fluxo da fase fluída, provocando assim um movimento contra-corrente aparente entre as fases líquida e sólida, dando origem ao termo leito móvel simulado. Essa tecnologia tem sido amplamente estudada em laboratórios de pesquisa ao redor do mundo e tem gerado um grande número de publicações em revistas especializadas. Essas publicações têm evidenciado o potencial de separação da tecnologia LMS quanto aos elevados valores de pureza obtidos para ambos enantiômeros, elevada produtividade e redução do consumo de solvente.

A utilização da tecnologia do LMS pelas indústrias farmacêuticas para obtenção em larga escala de enantiômeros a partir de compostos racêmicos teve início somente após 1990, quando cientistas da UOP e da firma francesa de

separação, hoje conhecida como Novasep, iniciaram a exploração do potencial do LMS para este fim (Rouhi, 2004). Desde então, diversas empresas espalhadas pelo mundo têm focalizado seus trabalhos ou na produção de fases estacionárias quirais com elevado poder de resolução de misturas racêmicas, ou até mesmo na montagem e comercialização de unidades LMS.

Como relatado por Rouhi (2004), um processo desenvolvido pela empresa americana Aerojet Fine Chemicals, que operava satisfatoriamente com colunas de 50 mm de diâmetro em outubro de 2003, passou a operar com colunas de 200 mm de diâmetro em dezembro do mesmo ano. Em alguns meses, a produção passou de alguns quilogramas para 250 kg. Sendo o processo LMS uma separação física, esta produção poderia alcançar quantidades em toneladas, uma vez que a unidade LMS pode operar em qualquer escala. Em Lexington (EUA), a Universal Pharma Technologies (UPT) - um empreendimento conjunto da UOP e da firma de desenvolvimento químico farmacêutico Pharma Eco - operou uma unidade LMS com capacidade de produção de 10 a 20 toneladas por ano de enantiômeros puros. A UPT tem operado com capacidade de 2 toneladas desde 1998 (McCoy, 2000). No ano de 2001, a Bayer inaugurou uma unidade piloto em Leverkusen (Alemanha). A unidade possui capacidade de operação em torno de 5 toneladas por ano. A indústria farmacêutica Belga UCB Pharma foi a primeira companhia a adotar uma unidade LMS em larga escala. A unidade foi instalada na Bélgica em 1997, para produção de um fármaco não mencionado e que ainda deve alcançar produção comercial. Fora da lista de companhias operando em larga escala, estão a companhia japonesa Daicel - companhia especializada em prover colunas cromatográficas empacotadas utilizadas no sistema LMS - e a Novasep. Essas companhias operam unidades menores, de cerca de 1 tonelada a poucas toneladas por ano, respectivamente (Rouhi, 2004).

A grande vantagem da tecnologia LMS é, sem dúvida, o tempo necessário para realização de uma determinada separação desde a determinação das condições ótimas de operação até a sua realização. A grande desvantagem ainda é

o elevado custo de aquisição da tecnologia que pode chegar a 15 milhões de dólares desde a efetivação da compra de uma unidade até o seu pleno funcionamento (Rouhi, 2004).

1.4. Objetivos

O presente texto tem por objetivo principal estudar a separação cromatográfica dos enantiômeros do anestésico bupivacaína em batelada e projetar condições operacionais em uma unidade cromatográfica contínua do tipo leito móvel simulado (LMS), levando-se em conta os efeitos de transferência de massa, utilizando colunas empacotadas com a fase estacionária baseada em dialil-L-tartardiamida (DATD) com seletor quiral tri-butilbenzoato (TBB), comercialmente conhecida como Kromasil® CHI-TBB.

Como objetivos específicos tem-se:

Experimentos com soluções diluídas

- (1) Determinação das porosidades total e do leito;
- (2) Determinação dos parâmetros analíticos de separação;
- (3) Determinação dos coeficientes de Henry;
- (4) Avaliação da eficiência de separação a partir do gráfico de van Deemter e determinação dos parâmetros de transferência de massa.

Experimentos com soluções concentradas

- (1) Determinação das isotermas competitivas de adsorção;
- (2) Determinação dos perfis de eluição em condições de sobrecarga.

Projeto das regiões de separação, condições operacionais ótimas e predição de separação da unidade LMS

- (1) Determinação das regiões de separação na presença dos efeitos de transferência de massa;
- (2) Determinação das condições operacionais e predição de separação na unidade LMS.

Capítulo 2

2. Revisão bibliográfica

Este capítulo tem o intuito de apresentar uma revisão da literatura referente à atividade biológica da bupivacaína, da separação cromatográfica contínua de fármacos quirais utilizando a tecnologia de leito móvel simulado (LMS), bem como informações detalhadas sobre a modelagem matemática do LMS e a determinação dos parâmetros necessários para o projeto das condições operacionais da unidade.

2.1. A bupivacaína e sua atividade biológica

Os anestésicos locais, quando aplicados ao tecido nervoso em concentrações adequadas, bloqueiam, de forma reversível, os potenciais de ação responsáveis pela condução nervosa, reduzindo ou evitando o grande aumento transitório na permeabilidade das membranas excitáveis ao Na^+ , normalmente produzido por uma discreta despolarização da membrana. Essa ação dos anestésicos locais é decorrente de sua interação direta com os canais Na^+ sensíveis à voltagem. À medida que a ação anestésica se desenvolve de forma progressiva em um nervo, o limiar para excitabilidade elétrica aumenta gradualmente; a velocidade da

elevação do potencial de ação, o impulso de condução e o fator de segurança para condução diminuem; esses fatores reduzem a probabilidade de propagação do potencial de ação, e a condução nervosa falha (**Catterall e Mackie, 1997**).

A *bupivacaína*, (\pm)-1-butil-N-(2,6-dimetilfenil)-2-piperidinacarboxamida, é um anestésico local do tipo amida, que tem sido amplamente utilizado há décadas em anestesia peridural para procedimentos de longa duração, proporcionando excelente anestesia sensitiva. Sua longa duração de ação, aliada à sua tendência para fornecer um bloqueio mais sensorial do que motor tornou-a de uso popular para promover analgesia prolongada durante o trabalho de parto ou no período pós-operatório. No entanto, alguns acidentes inesperados com o uso da bupivacaína estimularam a buscar por alternativas mais seguras, no que diz respeito a complicações cardiovasculares, bem como toxicidade no sistema nervoso central (SNC) (**Sato et al., 2005; Soares et al., 2005; Gonçalves et al., 2003; Côrtes et al., 2003; Tanaka et al., 2003; Fawcett et al., 2002**).

A bupivacaína é mais cardiotoxica do que doses eficazes da lidocaína, por exemplo. Clinicamente, a cardiotoxicidade da bupivacaína manifesta-se por arritmias ventriculares graves e depressão miocárdica após administração intravascular inadvertida de grandes doses. É provável que este efeito da bupivacaína seja devido a vários fatores. A lidocaína e a bupivacaína bloqueiam os canais Na^+ cardíacos, rapidamente durante a sístole. Entretanto, a bupivacaína dissocia-se muito mais lentamente que a lidocaína durante a diástole, de forma que uma fração significativa de canais Na^+ permanece bloqueada no final da diástole (em frequências cardíacas fisiológicas). Portanto, o bloqueio com a bupivacaína é cumulativo e substancialmente maior do que seria previsível por sua potência anestésica local. Pelo menos uma porção da toxicidade cardíaca da bupivacaína é mediada centralmente, pois a injeção direta de pequenos volumes de bupivacaína no bulbo pode produzir arritmias ventriculares malignas. A toxicidade cardíaca induzida pela bupivacaína pode ser muito difícil de tratar, e a sua gravidade aumenta com acidose, hipercabia e hipoxemia (**Catterall e Mackie, 1997**).

A bupivacaína possui um único centro quiral (Figura 2.1) e é comercializada como racemato (mistura equimolar entre os dois enantiômeros: *R*-(+)- e *S*-(-)-bupivacaína). Ambos os enantiômeros são ativos, mas o isômero levógiro *S*-(-)-bupivacaína produz uma maior duração do bloqueio neural bem como uma menor tendência para toxicidade no SNC e cardiovascular (Sah *et al.*, 2005; Soares *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2003; Côrtes *et al.*, 2003; Tanaka *et al.*, 2003; Fawcett *et al.*, 2002). Além disso, os enantiômeros da bupivacaína também apresentam diferenças em sua farmacocinética. Foi descoberto em ovelhas e humanos que a liberação do *S*-(-)-bupivacaína é cerca de 20 a 40% maior que a *R*-(+)-bupivacaína e que o coeficiente de distribuição no tecido sanguíneo e para muitos outros tecidos é maior para *S*-(-)-bupivacaína que para *R*-(+)-bupivacaína.

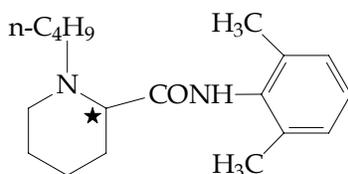


Figura 2.1. Estrutura molecular da bupivacaína. O símbolo (★) representa o centro quiral da molécula.

Apesar do conhecimento de que os enantiômeros da bupivacaína apresentam diferenças em suas atividades biológicas, sendo os efeitos colaterais atribuídos a *R*-(+)-bupivacaína, alguns trabalhos têm sido reportados utilizando a mistura enantiomérica entre os enantiômeros *S* e *R* a 75 e 25% , respectivamente (Sato *et al.*, 2005; Soares *et al.*, 2005; Côrtes *et al.*, 2003). Esses trabalhos não só comprovaram a eficácia da utilização da mistura enantiomérica da bupivacaína (*S*75/*R*25) como também uma redução nos seus efeitos colaterais.

Conseqüentemente, fica evidente que o entendimento a fundo da farmacologia da bupivacaína não é possível sem um estudo completo de seus enantiômeros individualmente (Gu *et al.*, 1998). Partindo-se dos enantiômeros

purificados desse anestésico local, pode-se manipular a relação enantiomérica entre os dois isômeros. Com esse artifício, pode-se estudar a composição com maior eficácia e com diminuição de sua toxicidade potencial, com elevação do índice terapêutico (Sato *et al.*, 2005).

Embora alguns trabalhos tenham sido publicados apresentando a separação da bupivacaína por CLAE (Silva Jr. *et al.*, 2005a; Gross *et al.*, 1999; Gu *et al.*, 1998), não foram encontrados registros na literatura referente a separação cromatográfica preparativa deste anestésico.

2.2. Adsorção em leitos móveis

Adsorção utilizando leito móvel é um processo que permite a separação de misturas quando a fase sólida adsorvente escoar numa direção oposta (contracorrente) ao escoamento da fase líquida dentro de uma ou várias colunas. Um leito móvel é dito *verdadeiro* quando há um escoamento real do adsorvente dentro da coluna e é dito *simulado* quando há um escoamento aparente da fase adsorvente.

O leito móvel verdadeiro (LMV) é um sistema cromatográfico contínuo tradicional no qual há um escoamento real da fase sólida adsorvente que é efetuado numa direção oposta ao escoamento da fase líquida (Lucena, 1999). O LMV não é um processo eficiente devido à dificuldade causada pelo movimento da fase sólida. Na tecnologia do leito móvel simulado (LMS), válvulas rotatórias ou de multi-posições são utilizadas para, periodicamente, mudar as posições das linhas de alimentação, de extrato e de refinado, ao longo do leito, no sentido do fluxo da fase líquida (Yu e Ching, 2002; Mazzotti *et al.*, 1997a). Essas trocas são efetuadas em intervalos regulares e, dessa forma, acabam por promover um movimento relativo contracorrente dando origem ao LMS. O uso de válvulas rotatórias especiais permite fazer as trocas das correntes de forma simultânea e eficiente, controladas por meio de computador (Lucena, 1999).

No LMV as fases sólida e líquida escoam em direções opostas (sentido contracorrente). Contudo que as afinidades dos componentes A e B com relação a fase sólida sejam diferentes ($A < B$), é possível escolher vazões para fazer A movimentar-se para cima e B movimentar-se para baixo, conduzindo a uma separação espacial, conforme apresentado na Figura 2.2. Esse sistema requer duas linhas de entrada (uma para a alimentação e outra para o dessorvente) e duas linhas de retirada (uma para o refinado A e outra para o extrato B) (Silva Jr. *et al.*, 2006).

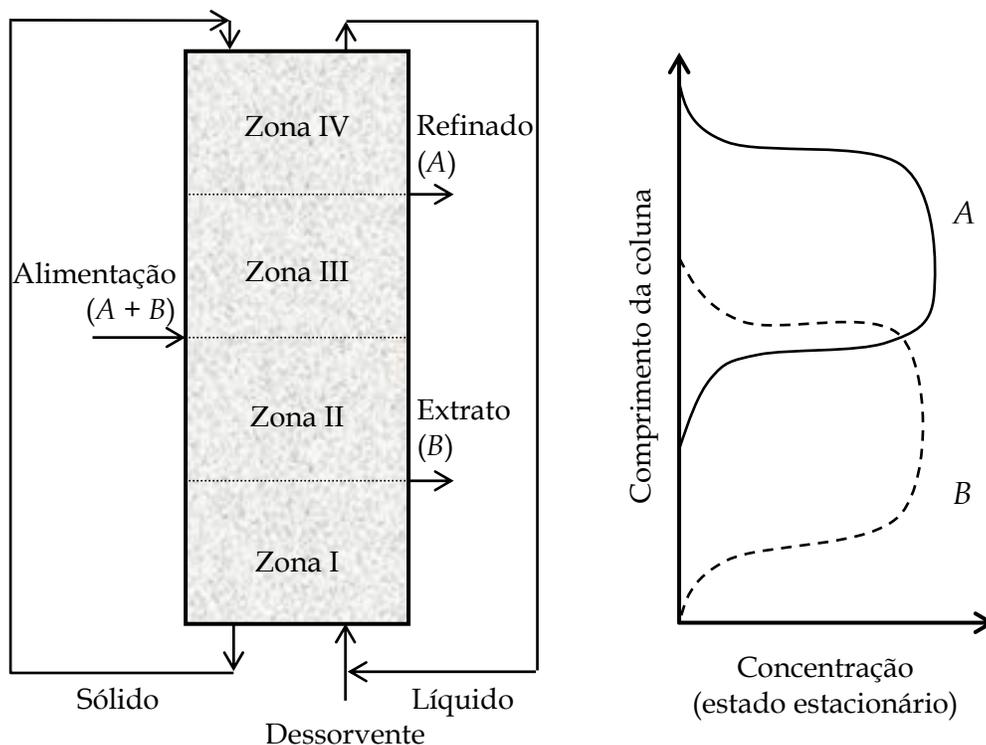


Figura 2.2. Princípio básico do LMV e um perfil típico de concentrações (à direita). O componente B é adsorvido mais fortemente que o componente A .

A configuração clássica de uma unidade LMV (Figura 2.2) possui quatro zonas diferentes. O líquido saindo da zona IV é reciclado na zona I, enquanto que o sólido saindo da zona I é reciclado na zona IV. A zona I está localizada entre a

entrada de dessorvente e saída de extrato, a zona II está entre a saída de extrato e entrada de alimentação, a zona III separa a alimentação e retirada de refinado e a zona IV está localizada entre a retirada de refinado e saída de dessorvente (**Pais et al., 1997**).

Cada zona do LMV possui um papel específico na separação (**Silva Jr. et al., 2006; Nicoud, 2000**):

(1) Zona I (entre a entrada de dessorvente e a saída de extrato) – o produto mais retido (B) deve ser completamente dessorvido.

(2) Zona II (entre o ponto de alimentação e saída de extrato) – o produto menos retido (A) deve ser completamente dessorvido.

(3) Zona III (entre o ponto de alimentação e saída do refinado) – o produto mais retido (B) deve ser completamente adsorvido.

(4) Zona IV (entre a saída de refinado e saída de dessorvente) – o produto menos retido (A) deve ser completamente adsorvido.

Uma unidade LMS clássica consiste em um circuito de colunas cromatográficas empacotadas com um adsorvente apropriado (fase estacionária) que é dividido em quatro zonas e pode conter duas ou mais colunas por zonas. Existem duas possíveis configurações para a unidade LMS: (1) circuito aberto (Figura 2.3a) e (2) circuito fechado (Figura 2.3b). A diferença básica entre essas duas configurações reside no fato de que no circuito aberto não há reciclo do eluente (dessorvente), portanto existem duas correntes de entrada (corrente de entrada da alimentação e dessorvente) e três correntes de saída (correntes de saída de extrato, de refinado e de dessorvente). Para o circuito fechado há reciclo de eluente e, portanto, duas correntes de entrada (correntes de entrada alimentação e dessorvente) e duas correntes de saída (correntes de saída de extrato e de refinado). Em ambas configurações, o soluto (A) com menor afinidade pelo adsorvente é removido na corrente de saída do refinado, enquanto o soluto (B) com maior afinidade pelo adsorvente é removido na corrente de extrato. As linhas

de entrada e de saída são periodicamente deslocadas na direção do fluxo do dessorvente por válvulas de multi-posição (ou rotatórias), causando um movimento contracorrente aparente entre a fase líquida e a fase sólida. Assim como na cromatografia em batelada, o soluto *A* migra mais rápido que o soluto *B* na direção do fluxo da fase líquida. Em um sistema de LMS com quatro zonas, o soluto *A* é adsorvido na zona IV e dessorvido na zona II. A adsorção do componente *B* ocorre na zona III, e a sua dessorção ocorre na zona I (**Silva Jr. et al., 2006**).

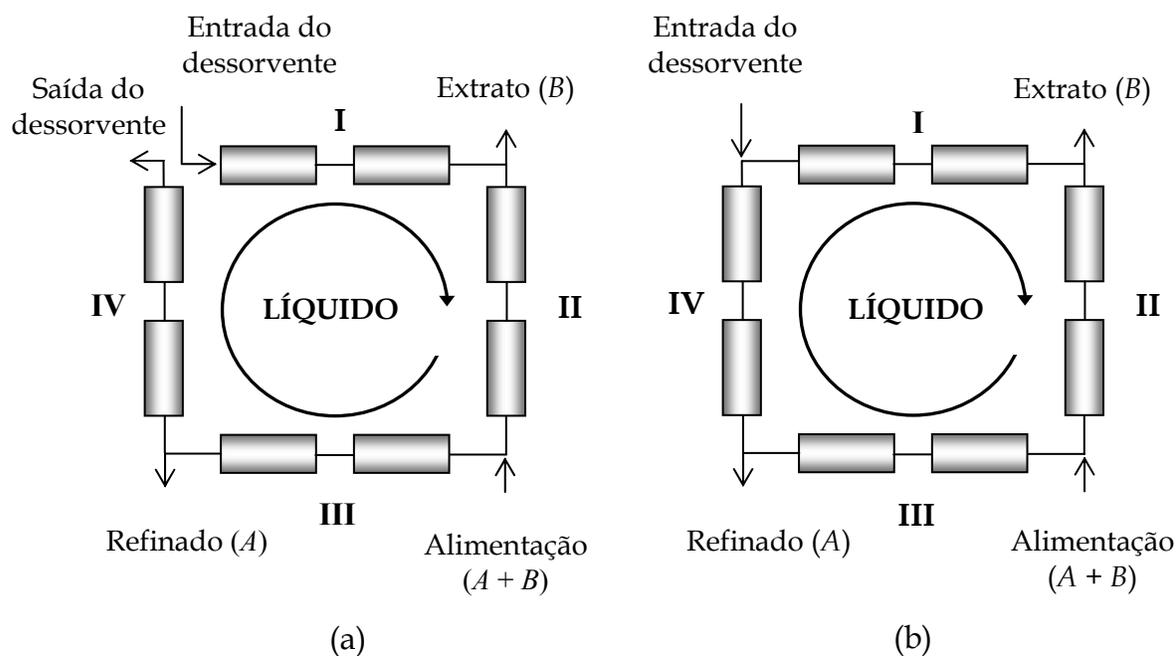


Figura 2.3. Possíveis configurações de uma unidade LMS com quatro zonas (duas colunas por zona): (a) circuito aberto; (b) circuito fechado.

O contato contracorrente entre a fase sólida e a fase líquida utilizada na cromatografia LMS minimiza os efeitos de transferência de massa entre as fases, resultando em uma elevada produtividade, um menor consumo de solvente e de adsorvente, quando comparado com sistemas convencionais de cromatografia, o

que produz um aumento no desempenho de separação, na qual gera uma elevada recuperação do produto com elevado grau de pureza, até mesmo quando a seletividade é próxima da unidade ou a eficiência da fase estacionária é baixa (Migliorini *et al.*, 2002; Pais *et al.*, 1998a; Charton e Nicoud, 1995; Chu e Hashim, 1995).

A completa separação pode acontecer após um certo número de ciclos (um ciclo é o tempo que uma coluna leva para retornar à mesma posição, sendo dado pelo número de colunas do sistema multiplicado pelo tempo de troca). O projeto do LMS é relativamente complexo e envolve pelo menos uma dezena de variáveis de operação como diâmetro das colunas, os comprimentos das 4 zonas de separação e respectivas vazões, o tempo de troca das posições das colunas (ou das entradas e retiradas), além de parâmetros físico-químicos relevantes, tais como isoterms de equilíbrio de adsorção competitivas, eficiência da coluna e estimativa da queda de pressão no sistema (Lucena, 1999; Nicoud, 1999).

O conceito da tecnologia do LMS é conhecido desde 1961, quando a primeira patente foi depositada por Broughton (Yu e Ching, 2002). O surgimento do LMS superou as inconveniências da cromatografia líquida convencional em batelada e proporcionou a aplicação industrial das técnicas cromatográficas. Recentemente, a sua aplicação tem sido estendida para purificação de vários produtos em química fina, na indústria farmacêutica e biotecnologia. Exemplos de estudos recentes incluem a separação de enantiômeros (Veredas *et al.*, 2006; Wongso *et al.*, 2005; Rajendran *et al.*, 2005; Wang e Ching, 2005; Santos *et al.*, 2004; Grill *et al.*, 2004; Rodrigues e Pais, 2004; Mihlbachler *et al.*, 2004; Wang e Ching, 2004; Miller *et al.*, 2003; Minceva *et al.*, 2003; Xie *et al.*, 2003a), processamento de açúcares (Bubnik *et al.*, 2004; Lee, 2003; Azevedo e Rodrigues, 2001; Azevedo e Rodrigues, 2000; Mallmann *et al.*, 1998), purificação de aminoácidos e proteínas (Molnár *et al.*, 2005; Molnár *et al.*, 2004; Xie *et al.*, 2003b; Mun *et al.*, 2003a; Mun *et al.*, 2003b; Cremasco e Wang, 2003; Houwing *et al.*, 2003a; Houwing *et al.*, 2003b; Lucena *et al.*, 2001; Xie *et al.*, 2000), separação de ácidos orgânicos (Lee *et al.*, 2004) e

separação de isômeros ópticos derivados de petróleo (Kurup *et al.*, 2005; Bae *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2004).

2.3. Utilização do LMS para separações enantioméricas de fármacos quirais

A chave para o sucesso na obtenção de compostos opticamente puros deve-se, em grande parte, às FEQ utilizadas. A viabilidade econômica do processo LMS será ditada pelas propriedades fundamentais da FEQ. Isso corresponde à sua seletividade, capacidade de saturação e eficiência, as quais controlam a dimensão da unidade e a produtividade específica realizável do processo por unidade de massa da FEQ. Outros aspectos importantes são a (Juza *et al.*, 2000):

(1) estabilidade química, a qual limita um número de fases móveis e, indiretamente, a solubilidade máxima do soluto;

(2) estabilidade mecânica, a qual é particularmente importante em aplicações em CLAE, onde pequenas partículas são utilizadas, e elevadas quedas de pressão são impostas;

(3) tempo de vida.

Todos esses parâmetros devem ser levados em consideração ao se selecionar uma FEQ específica para separação no LMS.

Atualmente, grande parte das separações enantioméricas em escalas preparativas e semi-preparativas têm sido executadas em FEQ baseadas em polissacarídeos, tais como a celulose e a amilose. O primeiro derivado de celulose utilizado para esta finalidade foi o triacetato de celulose microcristalina (MCTA) o qual tem sido satisfatoriamente empregado (Santos *et al.*, 2004; Migliorini *et al.*, 2002; Migliorini *et al.*, 2000; Pedferri *et al.*, 1999; Pais *et al.*, 1998a). Entretanto, assim como em cromatografia analítica quiral, a celulose tris(3,5-dimetilfenil carbamato) (Chiracel OD) e a amilose tris(3,5-dimetilfenil carbamato) (Chiralpak

AD) têm sido as FEQ mais utilizadas em escala preparativa. A capacidade de saturação deste tipo de FEQ foi reconhecida por ser um importante recurso na obtenção de elevados valores de produtividade variando desde 10 g até 1.500 g de racemato por quilograma de FEQ por dia (Schulte e Strube, 2001; Francotte, 2001). A Tabela 2.1 apresenta algumas FEQ baseadas em polissacarídeos atualmente mais utilizadas em cromatografia preparativa.

Tabela 2.1. Fases estacionárias quirais baseadas em polissacarídeos atualmente mais utilizados para separações em escala preparativa.

<i>Nome</i>	<i>Nome comercial</i>
Triacetato de celulose microcristalina	MCTA
Tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose	Chiralcel OD
Tris(4-metilbenzoato) de celulose	Chiralcel OJ
Tribenzoato de celulose	Chiralcel OB
Tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de amilose	Chiralpak AD
Tris[(S)-feniletilcarbamato] de amilose	Chiralpak AS

Tabela adaptada de Francotte (2001).

Diversas outras FEQ têm sido utilizadas com sucesso para separação de enantiômeros em escala preparativa ou semi-preparativa. Essas incluem as fases baseadas em dialil-*L*-tartardiamida com ligações cruzadas (Kromasil® CHI-DMB e Kromasil® CHI-TBB) (Silva Jr. *et al.*, 2005a; Skogsberg *et al.*, 2004; Peper *et al.*, 2002; Andersson e Allenmark, 2002; Skogsberg e Allenmark, 2001; Johannsen, 2001; Andersson *et al.*, 1999; Löwendhal e Allenmark, 1997; Andersson *et al.*, 1996), e as fases baseadas em ciclodextrinas (Wang e Ching, 2005; Wang e Ching, 2004; Yu e Ching, 2003; Yu e Ching, 2002; Biressi *et al.*, 2002a; Biressi *et al.*, 2002b; Lorenz *et al.*, 2001).

Em 1992, a primeira separação enantiomérica realizada com sucesso aplicando o princípio do LMS foi publicada por Negawa e Shoji (1992). Esses

autores separaram uma mistura racêmica do feniletanol utilizando Chiracel OD como FEQ. Essa primeira publicação mostrou a superioridade de LMS frente à cromatografia em batelada no que diz respeito ao aumento da produtividade (61:1 LMS:batelada) e redução no consumo de dessorvente (1:87 LMS:batelada).

No ano de 1997, **Francotte e Richert (1997)** publicaram um trabalho relatando a separação de três fármacos quirais (formoterol, guaifenesina e aminoglutemida) em duas fases estacionárias (Chiralcel OD e Chiralcel OJ). Nesse trabalho, também foi reportado um estudo comparativo entre a separação cromatográfica em batelada e no LMS para o formoterol e guaifenesina, atingindo uma redução no consumo de solvente de 81 e 84%, respectivamente. Para todos os racematos, ambos enantiômeros, foram obtidos com grau de pureza na faixa entre 99 e 99,9%. **Cavoy et al. (1997)**, no mesmo ano, publicaram um trabalho no qual é descrito o projeto de uma unidade LMS em escala de laboratório para separação dos enantiômeros do tramadol utilizando Chiralpak AD como FEQ. Um novo estudo comparativo entre as técnicas batelada e LMS foi realizado, no qual novamente foi verificado a superioridade do LMS.

Recentemente, novos estudos comparativos entre as técnicas cromatográficas para separação de enantiômeros foram realizados. **Miller et al. (2003)** reportaram um novo estudo comparativo entre CLAE em batelada e LMS para separação de racematos farmacêuticos com a FEQ Chiralpak AD. Esses autores processaram um total de 1070 kg de racemato em seis experimentos (um experimento em CLAE e cinco em LMS) nos quais também ficou constatado que a tecnologia LMS apresentou as mais altas produtividades e menor consumo de solvente. Em 2004, **Grill et al. (2004)** publicaram um estudo comparativo entre três técnicas cromatográficas preparativas, utilizando Chiralpak AS como FEQ, para resolução de compostos farmacêuticos intermediários. As três técnicas utilizadas foram CLAE em batelada, reciclo em estado estacionário e LMS. Esses autores constataram que a técnica do LMS foi a que apresentou melhores resultados, sendo capaz de processar 247 kg de racemato com uma produtividade de 4100 g de

racemato/kg de FEQ por dia, com 98,4% de excesso enantiomérico e com um consumo de solvente de apenas 0,11 L/g de racemato.

No Brasil, a primeira tese de doutorado desenvolvida experimentalmente utilizando a tecnologia do LMS foi apresentada por **Santos (2004)**. Esse trabalho descreveu a separação dos enantiômeros da cetamina em colunas de MCTA. Foi utilizado um monitoramento on-line das correntes de extrato e refinado, por um sistema de análise constituído de um detector UV e um polarímetro, em uma unidade LMS semi-preparativa. Os resultados foram comparados com um método analítico “off-line” (CLAE). Essas análises mostraram que houve uma completa separação, com valores de pureza em torno de 100%, para as correntes de extrato e refinado em uma das condições operacionais estudadas.

Normalmente, elevando-se as exigências de pureza enantiomérica em experimentos no LMS, há uma queda significativa de produtividade. A extensão dessa queda depende fortemente dos parâmetros termodinâmicos e cinéticos da separação sob investigação. Alternativamente, a cristalização tem sido utilizada com uma técnica auxiliar para o enriquecimento enantiomérico (**Kaspereit et al., 2005; Ströhlein et al., 2003; Kaspereit et al., 2002b; Lorenz et al., 2001**). Essa técnica baseia-se no conhecimento de que os dois isômeros constituintes da mistura racêmica possuem as mesmas propriedades físico-químicas e a cristalização deverá ser praticamente a mesma para ambos enantiômeros. Entretanto, um dos isômeros poderá cristalizar atingindo elevada pureza quando o outro isômero estiver presente a uma baixa concentração (**Pynnonen, 1998**).

Recentes desenvolvimentos no campo do LMS têm destacado a possibilidade de melhorar o desempenho de separação aplicando modos de operação não convencionais, bem como reduzir os custos de produção. Essas rotas não convencionais objetivam a melhoria das unidades de separação através da otimização da adsorvidade dos solutos nas diferentes seções da unidade (**Zhang et al., 2004a**), operando em vazões constantes durante cada troca de período (troca

das posições de entrada e de saída na unidade). Esses modos incluem LMS com fluido supercrítico (Rajendran *et al.*, 2005; Pepper *et al.*, 2002; Mazzotti *et al.*, 1997b), LMS com gradiente de temperatura (Migliorini *et al.*, 2001), LMS com gradiente de solvente (Abel *et al.*, 2004b; Beltscheva *et al.*, 2003; Abel *et al.*, 2002; Antos e Seidel-Morgenstern, 2002a; Antos e Seidel-Morgenstern, 2002b) e LMS com configuração multifracionada (Nicolaos *et al.*, 2001a; Nicolaos *et al.*, 2001b). A idéia básica é de variar a força de adsorção dos solutos na fase estacionária nas diferentes seções, pela criação, ao longo da unidade, de um gradiente das condições operacionais, isto é, temperatura, pressão ou força do solvente (Zhang *et al.*, 2004b).

Em contraste aos conceitos clássicos pelos quais o processo do LMS é operado (com vazões de entrada, de saída e de alimentação constantes), recentemente a operação do processo LMS foi melhorada por variações de parâmetros operacionais durante os intervalos de troca. O primeiro processo desenvolvido nessa rota foi à unidade denominada VariCol, em que as correntes de entrada e de saída são trocadas de modo assíncrono (Schramm *et al.*, 2003). Isso significa que a unidade não mais é completamente equivalente ao LMV, mas que agora tem mais parâmetros a serem aperfeiçoados, ou seja, os tempos de troca das correntes de entrada e de saída (Ludemann-Hombourger *et al.*, 2000a; Ludemann-Hombourger *et al.*, 2002; Pais e Rodrigues, 2003, Toumi *et al.*, 2003).

Estudos comparativos teóricos e experimentais comprovaram que a produtividade e consumo de eluente são mais favoráveis para o processo VariCol que para o LMS, e a melhoria na produtividade pode ser alcançada com um menor número de colunas (Ludemann-Hombourger *et al.*, 2000b; Ludemann-Hombourger *et al.*, 2002; Pais e Rodrigues, 2003).

Recentemente, Zang e Wankat (2002) propuseram a possibilidade das vazões da fase fluída variarem com o tempo durante o período de troca das posições de entrada e saída na unidade cromatográfica. Esse processo refere-se a uma variante

do processo LMS conhecida como operação PowerFeed. Para processos com trocas assincronicamente, complicados algoritmos de controle para as válvulas são necessários.

Zhang et al. (2003) demonstraram que os processos PowerFeed e VariCol promovem melhores desempenhos com relação ao processo LMS, e que a extensão dessa melhoria é maior para separações mais difíceis. Isso é devido ao aumento da complexidade destes dois modos de operação, o qual, em essência, permite a mudança das vazões dentro da unidade durante o período de troca para melhorar o desempenho de separação.

Para superar as desvantagens apresentadas devido às dificuldades no controle dos processos VariCol e PowerFeed, um novo modo de operação foi reportada por **Schramm et al. (2003)**, em que a concentração de alimentação é variada dentro de cada ciclo de troca. Esse processo foi denominado ModiCon (modificação periódica da concentração de alimentação). Esses autores concluíram que a produtividade e a concentração do produto podem ser aumentadas enquanto simultaneamente o consumo de solvente pode ser diminuído, em relação aos processos convencionais que operam com concentração de alimentação constante.

Zhang et al. (2004a) publicaram um trabalho comparativo entre os processos LMS e as suas variantes: os processos VariCol, PowerFeed e ModiCon. O desempenho de separação foi investigado numericamente e os resultados apresentados por esses autores demonstram que uma melhoria no desempenho de separação pode ser alcançada utilizando estas operações não convencionais com um menor número de colunas. Ainda em 2004, **Zhang et al. (2004b)** apresentaram um trabalho experimental comparativo entre os processos LMS e PowerFeed para a separação da α -ionona em colunas baseadas em ciclodextrinas. Foi demonstrado que o processo PowerFeed apresenta melhor desempenho de separação que o processo LMS, com grau de pureza nas correntes de saída mais elevados,

confirmando resultados teóricos apresentados anteriormente por **Zhang et al. (2003)**. Além disto, os experimentos demonstraram que a operação PowerFeed não foi afetada pelas dificuldades relatada à variação periódica das vazões nas bombas da unidade. Foi ainda concluído que o processo PowerFeed pode ser considerado como uma das possíveis implementações da cromatografia contínua multi-colunas, o qual parece ser particularmente atrativo para separações quirais e de bioprodutos.

2.4. Modelagem matemática do LMS

Devido à natureza contracorrente do processo, após o início de uma operação a unidade LMV requer um tempo até atingir o estado estacionário. No estado estacionário, cada variável do processo permanece constante em cada local da unidade. Na unidade LMS, a operação é caracterizada por um estado estacionário cíclico, devido as trocas periódicas entre as posições das correntes de entrada e retirada ao longo do leito e exibe o mesmo comportamento dependente do tempo durante cada período entre duas trocas sucessivas (**Azevedo, 2001**).

Em geral, a modelagem de um processo LMS pode ser realizada seguindo uma das estratégias descritas abaixo (**Azevedo, 2001; Xie et al., 2001**):

(1) a estratégia do LMV (no estado estacionário). Nessa estratégia o movimento contracorrente do sólido é de fato levado em conta e as relações de equivalência são usadas para relacionar o comportamento no estado estacionário com o LMS.

(2) a estratégia do LMS. Nessa estratégia cada leito é analisado individualmente, mas o sistema de equações é resolvido simultaneamente. Além disso, as condições de contorno são atualizadas a cada troca das posições das correntes de entrada e de retirada.

A estratégia do LMV no estado estacionário possui a vantagem de analisar apenas os perfis internos de concentração ao longo do leito no estado estacionário. Por outro lado, a estratégia do LMS examina cada seção do leito ou subseção individualmente. A cada tempo de troca as condições de contorno em todas as colunas são atualizadas e o estado estacionário não exatamente é atingido. Em vez disso, um movimento axial dos perfis ocorre repetindo-se a cada período, caracterizando um estado estacionário cíclico. Todavia, a análise pela estratégia do LMV no estado estacionário tem ainda a vantagem de permitir o cálculo direto da performance da unidade no estado estacionário, pelo simples fato de considerar os termos diferenciais em relação ao tempo no modelo matemático iguais a zero. A análise pela estratégia do LMS possui o cálculo da resposta transiente com a finalidade de alcançar a solução do estado estacionário, sendo realizado ao longo dos ciclos.

No estado estacionário, as duas unidades devem alcançar o mesmo desempenho de separação, desde que as regras de conversão geométricas e cinemáticas apresentadas na Tabela 2.2 sejam cumpridas e a unidade LMS possua um certo número de colunas por zona (Azevedo, 2001; Mazzotti *et al.*, 1997a).

Tabela 2.2. Relação de equivalência entre o LMS e o LMV

	LMS ^a	LMV
Fase sólida		
Velocidade	0	$v_s = L/t^*$
Vazão	0	$Q_s = v_s(1 - \varepsilon)A$
Fase líquida		
Velocidade	u^{LMS_k}	$u^{LMV_j} = u^{LMS_k} - v_s^a$
Vazão	Q^{LMS_k}	$Q^{LMV_j} = Q^{LMS_k} - (\varepsilon V_c/t^*)^a$

^aEquivalência para o a coluna k da unidade LMS na seção j

Tabela adaptada de Azevedo (2001).

Na Tabela acima v_s é a velocidade intersticial da fase sólida no LMV, Q_s é a vazão volumétrica da fase sólida no LMV, t^* o tempo de troca, L o comprimento da coluna, V_c o volume da coluna, ε_T a porosidade total, A a área da seção transversal da coluna no LMS, u^{LMS} é a velocidade intersticial da fase fluida no LMS, u^{LMV} é a velocidade intersticial da fase fluida no LMV, Q^{LMS} a vazão volumétrica da fase fluida no LMS e Q^{LMV} a vazão volumétrica da fase fluida no LMV.

2.4.1. Modelagem matemática de colunas cromatográficas

Uma coluna cromatográfica acoplada ao LMS opera como um leito fixo até o momento da troca de posição dos pontos de entrada e de saída do sistema, na direção do escoamento do líquido, o que é equivalente ao movimento do leito, simulando um movimento contracorrente entre as fases sólida e líquida.

O comportamento de um sistema cromatográfico é governado por três fenômenos básicos, e a modelagem da cromatografia de multicomponentes significa associar equações matemáticas a cada fenômeno. Os três fenômenos que governam um sistema cromatográfico são (Schulte e Epping, 2005; Schulte *et al.*, 1997):

(1) a *termodinâmica de adsorção*, descrita pelas isotermas de equilíbrio de adsorção, as quais fornecem a concentração do soluto presente na fase estacionária com relação à concentração do soluto na fase móvel, quando o equilíbrio é atingido, a uma dada temperatura. Para cada FEQ diferente, a capacidade de saturação enantioesletiva individual pode ser obtida da isoterma;

(2) a *hidrodinâmica da coluna*, isto é, as propriedades do escoamento através do meio poroso. A hidrodinâmica da coluna pode ser descrita por uma relação entre vazão e pressão em que todas as propriedades do escoamento dependem da vazão;

(3) a *transferência de massa*. Os diferentes mecanismos de transferência de massa em um sistema cromatográfico podem contribuir para o alargamento dos picos cromatográficos reduzindo assim a eficiência de separação.

Os processos cromatográficos podem ser descritos por vários modelos matemáticos representados por meio de balanços de massa, os quais têm sido extensivamente discutidos na literatura (Michel *et al.*, 2005; Guiochon e Lin, 2003; Guiochon, 2002; Katti e Guiochon, 1991; Ruthven e Ching, 1989). O número de parâmetros exigidos num determinado modelo aumenta de acordo com a complexidade do mesmo.

Para sistemas não-ideais, isto é, sistemas nos quais os efeitos de transferência de massa são considerados, existem três modelos comumente empregados. Por ordem de complexidade, tem-se o modelo geral (MG), modelo do transporte-dispersivo (MTD) e o modelo do equilíbrio-dispersivo (MED). O MG é um modelo mais rigoroso, pois distingue entre a transferência de massa no filme, a difusão intra-partícula e efeitos de dispersão axial. O MTD considera a dispersão axial e o coeficiente de transferência de massa global como sendo um coeficiente que agrupa todos os mecanismos de transferência de massa. Finalmente, o MED que assume uma rápida transferência de massa em que a dispersão axial e os efeitos de transferência de massa são agrupados em um coeficiente de dispersão aparente.

Para sistemas com isothermas lineares e sem efeitos de dispersão axial, esses modelos podem ser resolvidos analiticamente considerando o estado estacionário do processo LMS, enquanto que, para isothermas não-lineares, esse modelo só pode ser resolvido numericamente (Xie *et al.*, 2001).

Modelo Geral

O MG corresponde aos balanços de massa do soluto i tanto na fase fluída quanto na fase sólida, em uma dada coluna empacotada. De acordo com

Piatkowski *et al.* (2003), Kaczmarski *et al.* (2003) e Cremasco *et al.* (2001), para descrever as equações do MG, assume-se que:

- (1) o processo cromatográfico é isotérmico;
- (2) não ocorre reação química;
- (3) a velocidade da fase móvel é constante (sua compressibilidade é negligenciada);
- (4) o leito é empacotado com partículas porosas esféricas e de tamanho uniforme;
- (5) o gradiente de concentração na direção radial do leito é negligenciado;
- (6) existe um equilíbrio local para cada componente entre a superfície do poro e a fase fluida estagnada no seio da fase líquida;
- (7) a transferência de massa intrapartícula é descrita pelo mecanismo de difusão no poro;
- (8) a transferência de massa externa do seio da fase líquida até os poros das partículas adsorventes é descrita pelo mecanismo de transferência de massa no filme;
- (7) o coeficiente de dispersão axial é constante.

Baseado nessas hipóteses, o balanço de massa diferencial do componente i ($i = 1,2$) na seção j ($j = I, II, III, IV$) é descrito da seguinte forma:

a) Balanço de massa do componente i na fase móvel

$$\varepsilon \frac{\partial c_{i,j}}{\partial t} + u \frac{\partial c_{i,j}}{\partial z} = \varepsilon D_L \frac{\partial^2 c_{i,j}}{\partial z^2} - (1 - \varepsilon) k_{f,i,j} a_p \left(c_{i,j} - c_{p,i,j} \Big|_{r=R_p} \right) \quad (2.1)$$

em que c e c_p são as concentrações do componente i na fase líquida e na fase fluida estagnada nos poros das partículas na coluna j , ε é a porosidade leito; D_L corresponde ao coeficiente de dispersão axial; u é a velocidade superficial da fase

móvel; k_f é o coeficiente de transferência de massa externo; a_p é a área da superfície externa das partículas adsorventes; r é a coordenada radial e R_p é o raio da partícula; z e t são as coordenadas espaciais e de tempo, respectivamente.

b) Balanço de massa do componente i na fase sólida

$$\varepsilon_p \frac{\partial c_{p,i,j}}{\partial t} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial q_i}{\partial t} = D_p \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial c_{p,i,j}}{\partial r} \right) \quad (2.2)$$

em que ε_p é a porosidade das partículas; q é a concentração do componente i na fase sólida, e D_p é o coeficiente de difusão no poro.

Modelo do transporte-dispersivo

O MTD consiste em uma equação diferencial parcial para a fase líquida acoplada a uma equação diferenciada ordinária que descreve a transferência de massa na partícula, usando o conceito de *força motriz linear no sólido*. Esse modelo é utilizado nos casos em que a transferência de massa não pode ser negligenciada e todos mecanismos de transferência de massa no interior das partículas são agrupados no coeficiente global k_m :

$$\frac{\partial c_{i,j}}{\partial t} + \left(\frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \right) \frac{\partial q_{i,j}}{\partial t} + u \frac{\partial c_{i,j}}{\partial z} = D_{L,i,j} \frac{\partial^2 c_{i,j}}{\partial z^2} \quad (2.3)$$

$$\frac{\partial q_{i,j}}{\partial t} = k_m (q_{i,j}^* - q_{i,j}) \quad (2.4)$$

em que q^* é a quantidade adsorvida do componente i na coluna j em equilíbrio com a concentração c na fase móvel (fornecido pela equação do equilíbrio de isotermas de adsorção) e q é a concentração média nas partículas.

Modelo do equilíbrio-dispersivo

O MED assume que a resistência à transferência de massa entre a fase móvel que escoia através do leito e as partículas é infinitamente pequena. O MED, por assumir que a transferência de massa ocorre de forma instantânea e que as resistências à transferência de massa podem ser representadas em um único coeficiente de dispersão aparente (D_{ap}), não é indicado em sistemas nos quais a eficiência da coluna é baixa.

$$\frac{\partial c_{i,j}}{\partial t} + \left(\frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \right) \frac{\partial q_{i,j}}{\partial t} + u \frac{\partial c_{i,j}}{\partial z} = D_{ap} \frac{\partial^2 c_{i,j}}{\partial z^2} \quad (2.5)$$

$$D_{ap} = \frac{Lu}{2N_p} \quad (2.6)$$

Modelo ideal

O modelo ideal (MI) é uma simplificação do modelo geral da cromatografia. Esse modelo assume que a coluna cromatográfica tem uma eficiência infinita, isto é, a taxa de transferência de massa entre a fase estacionária e a fase móvel é alta e não há efeitos de dispersão axial. Dessa forma, o balanço de massa tem a seguinte forma:

$$\frac{\partial c_{i,j}}{\partial t} + \left(\frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \right) \frac{\partial q_{i,j}}{\partial t} + u \frac{\partial c_{i,j}}{\partial z} = 0 \quad (2.7)$$

2.4.2. Modelagem matemática para o processo LMS e LMV

Azevedo (2001) relatou as vantagens e desvantagens da modelagem seguindo as estratégias do LMS e LMV. A estratégia do LMV requer um esforço computacional muito menor e o estado estacionário é calculado diretamente. A estratégia do LMS é mais precisa que a do LMV, uma vez que gera uma visualização do movimento axial do perfil de concentração com o tempo para as correntes de extrato e refinado. Entretanto, demanda um alto esforço computacional, principalmente quando é utilizado um grande número de colunas.

Modelo matemático para o LMS

Matematicamente, o modelo do LMS é descrito pela conexão dos modelos descritos na Seção 2.4.1 com as condições de contorno para cada coluna, incluindo os nós de ligação entre as zonas representadas por meio de balanços de massa.

As condições de contorno no LMS dependem de cada coluna e de sua atualização no começo de cada novo ciclo. Para cada coluna, essas condições são derivadas dos perfis de concentração dos dois componentes presentes na alimentação em uma coluna anterior (na direção do fluxo líquido), ao término do ciclo anterior (Guiochon e Lin, 2003). Para os modelos descritos na Seção 2.4.1, com exceção para o MI, as condições iniciais e de contorno (condição de Danckwerts), na entrada de cada coluna, correspondem à:

$$c_{i,j}(z, t = 0) = q_{i,j}(z, t = 0) = 0 \quad (2.8a)$$

$$\left[u_j c_{i,j} - D_L \frac{dc_{i,j}}{dz} \right]_{z=0} = u_j c_{i,j}^0 \quad (2.8b)$$

$$\left. \frac{dc_{i,j}}{dz} \right|_{z=L} = 0 \quad (2.8c)$$

Na prática, em cromatografia bem como na Engenharia Química, as condições de contorno de Danckwerts são as mais freqüentemente utilizadas para sistemas convectivos/difusivos. Essa condição diz que o fluxo de massa no ponto de injeção, $u_j c_{i,j}(0,t) - D_L \left(\partial c_{i,j} / \partial z \Big|_{z=0} \right)$, é igual ao fluxo de injeção na coluna equivalente, $u_j c_{i,j}^0(t)$. Essa condição de contorno é recomendada, quando a eficiência da coluna é baixa, situação típica encontrada em cálculos numéricos realizados para separação em leito móvel simulado (**Guiochon e Lin, 2003**).

Para o MI, as condições iniciais e de contorno são:

$$c_{i,j}(z, t = 0) = q_{i,j}(z, t = 0) = 0 \quad (2.9a)$$

$$c_{i,j}(z = 0, t) = c_{i,j}^0 \quad (2.9b)$$

As equações do balanço de massa em cada nó para uma configuração aberta (ver Fig. 2.3a) e para uma configuração fechada (ver Fig. 2.3b) são dadas pelas equações abaixo, nas quais Q_I , Q_{II} , Q_{III} e Q_{IV} são as vazões volumétricas nas correspondentes zonas do LMS, Q_F é a vazão de alimentação, Q_D é a vazão de dessorvente, Q_E é a vazão do extrato e Q_R é a vazão de refinado.

Para sistema com configuração aberta, os balanços de massa em cada nó são:

(a) *Nó da saída do extrato:*

$$Q_I = Q_{II} + Q_E \quad (2.10a)$$

$$c_i Q_I = c_i Q_{II} + c_i Q_E \quad (2.10b)$$

(b) *Nó da alimentação:*

$$Q_F = Q_{III} - Q_{II} \quad (2.11a)$$

$$c_i Q_F = c_i Q_{III} - c_i Q_{II} \quad (2.11b)$$

(c) *Nó da saída do refinado:*

$$Q_{IV} = Q_{III} - Q_R \quad (2.12a)$$

$$c_i Q_{IV} = c_i Q_{III} - c_i Q_R \quad (2.12b)$$

O balanço de massa de entrada e de saída é representado pela Eq. 2.13.

$$Q_I + Q_F = Q_E + Q_R + Q_{IV} \quad (2.13a)$$

$$c_i Q_I + c_i Q_F = c_i Q_E + c_i Q_R + c_i Q_{IV} \quad (2.13b)$$

Para sistema com configuração fechada, os balanços de massa em cada nó são:

(a) *Nó da saída do extrato:*

$$Q_I = Q_{II} + Q_E \quad (2.14a)$$

$$c_i Q_I = c_i Q_{II} + c_i Q_E \quad (2.14b)$$

(b) *Nó da alimentação:*

$$Q_F = Q_{III} - Q_{II} \quad (2.15a)$$

$$c_i Q_F = c_i Q_{III} - c_i Q_{II} \quad (2.15b)$$

(c) *Nó da saída do refinado:*

$$Q_{IV} = Q_{III} - Q_R \quad (2.16a)$$

$$c_i Q_{IV} = c_i Q_{III} - c_i Q_R \quad (2.16b)$$

(d) *Nó de entrada de dessorvente:*

$$Q_{IV} = Q_I - Q_D \quad (2.17a)$$

$$c_i Q_{IV} = c_i Q_I - c_i Q_D \quad (2.17b)$$

O balanço de massa de entrada e de saída é representado pela Eq. 2.18.

$$Q_{IV} + Q_F = Q_E + Q_R \quad (2.18a)$$

$$c_i Q_{IV} + c_i Q_F = c_i Q_E + c_i Q_R \quad (2.18b)$$

Nas equações acima, c_i representa a concentração do componente i nas respectivas zonas do LMS.

Modelo matemático para o LMV estacionário

Como descrito anteriormente, devido à analogia entre o escoamento contracorrente simulado e verdadeiro, o modelo do LMV no estado estacionário também pode ser utilizado para descrever o processo LMS. Assumindo que o

escoamento da fase sólida comporta-se com fluxo pistonado, o MTD para uma coluna pode ser estendido a cada seção do LMV pela adição da vazão de escoamento da fase sólida que resulta em um termo de convecção no balanço de massa com a velocidade da fase sólida v_s (Tabela 2.2). Nessa estratégia, a dispersão da fase sólida é negligenciada e os termos diferenciais em relação ao tempo no modelo matemático são iguais a zero, pois o objetivo é descrever o escoamento fictício no estado estacionário e transferir o resultado para o processo LMS. Pela mesma razão, k_m e D_L são os mesmos para um leito fixo (Michel *et al.*, 2005; Pais *et al.*, 1998a).

O balanço de massa para o componente i na seção j na fase líquida é:

$$D_{L,j} \frac{d^2 c_{i,j}}{dz^2} - u_j^{\text{LMV}} \frac{dc_{i,j}}{dz} - \frac{1-\varepsilon_T}{\varepsilon_T} k_{m,i,j} (q_{i,j}^* - q_{i,j}) = 0 \quad (2.19)$$

e na fase sólida

$$v_s \frac{dq_{i,j}}{dz} + k_m (q_{i,j}^* - q_{i,j}) = 0 \quad (2.20)$$

As condições de contorno para as variáveis c e q na seção j são:

$$z = 0, \left. \frac{dc_{i,j}}{dz} \right|_{z=0} = \frac{u_j^{\text{LMV}}}{D_L} (c_{i,j} - c_{i,j}^0) \quad (2.21a)$$

$$z = L, \left. \frac{dc_{i,j}}{dz} \right|_{z=L} = 0 \quad (2.21b)$$

$$z = L, q_{i,j} \Big|_{z=L} = q_{i,j+1} \Big|_{z=0} \quad (2.21c)$$

Os balanços de massa nos nós, para configuração aberta, são dados por:

$$c_{i,1}^0 = 0 \text{ para o nó de dessorvente} \quad (2.22a)$$

$$c_{i,j} = \frac{u_{\text{III}}^{\text{LMV}}}{u_{\text{II}}^{\text{LMV}}} c_{i,j+1} - \frac{u_{\text{F}}^{\text{LMV}}}{u_{\text{II}}^{\text{LMV}}} c_i^{\text{F}} \text{ para o nó de alimentação} \quad (2.22b)$$

$$c_{i,j} \Big|_{z=L} = c_{i,j+1} \Big|_{z=0} \text{ para os nós de extrato e refinado} \quad (2.22c)$$

O balanço nos nós de ligação, em termos da velocidade intersticial da fase sólida, são mostrados abaixo:

(a) *Nó da alimentação:*

$$u_{\text{III}}^{\text{LMV}} = u_{\text{II}}^{\text{LMV}} + u_{\text{F}}^{\text{LMV}} \quad (2.23a)$$

(b) *Nó da saída do refinado:*

$$u_{\text{IV}}^{\text{LMV}} = u_{\text{III}}^{\text{LMV}} - u_{\text{R}}^{\text{LMV}} \quad (2.23b)$$

(c) *Nó de saída de extrato:*

$$u_{\text{II}}^{\text{LMV}} = u_{\text{I}}^{\text{LMV}} - u_{\text{E}}^{\text{LMV}} \quad (2.23c)$$

2.5. Determinação de parâmetros em leito fixo

A determinação dos parâmetros dos modelos matemáticos para o LMS e LMV, descritos na Seção 2.4.1, requer uma seqüência de experimentos em leito fixo que empregam tanto soluções diluídas quanto soluções concentradas.

Para sistemas que utilizam soluções diluídas, usualmente empregadas em separações analíticas, tem-se por objetivo obter a melhor condição de separação. A qualidade e eficiência de separação são avaliadas, por exemplo, em termos de seletividade, resolução e número de pratos. Entretanto, sob estas condições também é possível determinar com precisão os parâmetros de equilíbrio de adsorção para isothermas lineares (constante de equilíbrio de adsorção ou coeficiente de Henry) e parâmetros de transferência de massa. Para sistemas que utilizam soluções concentradas, comumente utilizadas em separações preparativas, o objetivo é obter o máximo de material possível com elevado grau de pureza no menor tempo possível. Nestas condições são determinados os parâmetros de equilíbrio de adsorção não-lineares que tanto podem ser utilizados para o projeto das condições operacionais de unidades preparativas em batelada como para uma ampliação de escala para unidades contínuas, como o caso do LMS.

A seqüência de experimentos para a obtenção dos parâmetros dos modelos é descrita abaixo:

Experimentos com soluções diluídas

- (1) Determinação das porosidades total e do leito com o uso de traçadores que penetram e que não penetram nos poros das partículas, respectivamente;
- (2) Determinação dos coeficientes de Henry (parâmetros de equilíbrio de adsorção para isothermas lineares) a partir de injeções com a mistura racêmica;
- (3) Avaliação da eficiência de separação a partir do gráfico de van Deemter e determinação dos parâmetros de transferência de massa.

Embora os parâmetros analíticos de separação (obtidos com soluções diluídas) não sejam utilizados na modelagem matemática de colunas cromatográficas, estes fornecem informações acerca da qualidade de separação. Além disso, uma análise sistemática do efeito da temperatura pode ainda ser útil na determinação dos tipos de mecanismos de retenção a partir do gráfico de van't Hoff.

Experimentos com soluções concentradas

(1) Determinação dos parâmetros das isothermas competitivas de adsorção não-lineares. A Análise Frontal (AF) tem sido o método mais empregado para determinação desses parâmetros;

(2) Determinação dos perfis de eluição em condições de sobrecarga. Sob estas condições é possível avaliar o comportamento da separação quando soluções muito concentradas são injetadas na coluna. Além disso, a estimativa dos parâmetros das isothermas de adsorção também podem ser realizadas a partir de uma regressão não-linear envolvendo métodos numéricos - esse método é conhecido como Método Inverso (MInv).

2.5.1. Parâmetros analíticos de separação

Os parâmetros analíticos de separação são úteis para a avaliação e verificação da eficiência de separação na coluna cromatográfica (Sewell e Clarke, 1987). Esses parâmetros fornecem informações acerca do comportamento do composto entre a fase estacionária e a fase móvel.

O fator de retenção (k) é uma medida adimensional e de fundamental importância em separações cromatográficas, pois associa a retenção do composto em estudo com a retenção de um composto não-retido na fase estacionária, conforme equação abaixo:

$$k_i = \frac{t_{R,i} - t_M}{t_M} \quad (2.24)$$

em que t_R é o tempo de retenção do composto em estudo e t_M é o tempo de retenção de um composto não-retido.

A relação entre os fatores de retenção do componente mais retido pelo do componente menos retido corresponde a um outro parâmetro de fundamental importância em cromatografia, e é chamado de fator de separação (α). O valor de α é dependente da fase estacionária e/ou da fase móvel, podendo assumir valores maiores ou iguais à unidade a temperaturas diferentes.

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} \quad (2.25)$$

O fator de assimetria (A_{S10}) é obtido a partir da medida da proporção entre as duas partes do pico cromatográfico, calculado horizontalmente a 10% da altura total do pico. Esse parâmetro determina se o pico de eluição possui ou não um desvio do comportamento gaussiano, ou seja, se há efeitos de cauda. Geralmente, para soluções diluídas, os efeitos de caudas são reduzidos e os valores de A_s aproximam-se da unidade. Porém, efeitos de dispersão extra-coluna, solventes inadequados ou um mal empacotamento da coluna também podem contribuir para o desvio do comportamento gaussiano, ocasionando um baixo desempenho de separação. A **USP 27 (2004)** propõe um critério aceitável de A_s entre 0,8 e 2,0. A Figura 2.4 apresenta o posicionamento das medidas do pico cromatográfico para o cálculo do fator de assimetria, conforme a Eq. (2.26):

$$A_{S10} = \frac{B}{A} \quad (2.26)$$

Um outro parâmetro importante é a resolução (R_s). Esse parâmetro avalia a qualidade da separação e está associado ao tempo de retenção e à largura das bandas cromatográficas dos dois compostos adjacentes (Cass e Dagani, 2001). Altos valores de R_s significam que as substâncias estão mais separadas. Valores de resolução acima de 1,5 significam que a separação entre os dois compostos ocorre na linha de base (Waters, 2002; EP, 2002; USP 27, 2004). O critério de aceitação da farmacopéia americana para resolução entre dois picos adjacentes são valores acima de 2,0 (Dantus e Wells, 2004; USP 27, 2004). Esse valor considera a completa integração entre dois picos para que não haja sobreposição de áreas. A R_s é calculada a partir da relação entre as diferenças dos tempos de retenção de cada composto e a largura de base dos picos de eluição (w_b), de acordo com a seguinte equação:

$$R_s = 2 \frac{(t_{R,2} - t_{R,1})}{(w_{b,1} + w_{b,2})} \quad (2.27)$$

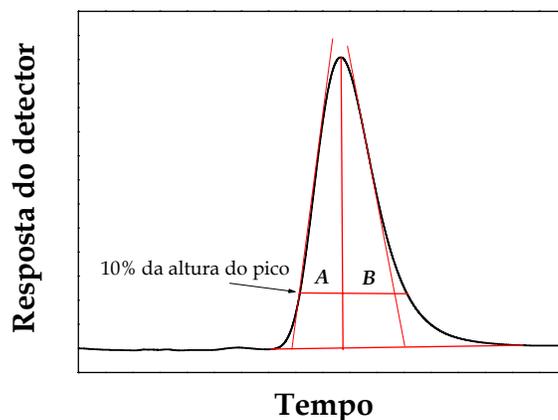


Figura 2.4. Cromatograma explicativo com medidas para cálculo de A_s .

2.5.2. Determinação dos parâmetros termodinâmicos e mecanismo de retenção

O estudo termodinâmico é uma estratégia que tem sido amplamente empregada para explicar o mecanismo de reconhecimento quiral (Weng *et al.*, 2005a; Weng *et al.*, 2005b; Danel *et al.*, 2005; Haroun *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005; Ding *et al.*, 2004; He *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2004; Rojkovičová *et al.*, 2004; Schlauch e Frahm, 2001; Küsters *et al.*, 1996).

A separação de enantiômeros por cromatografia é baseada na formação de complexos disateoisoméricos transitórios (reversíveis), que são criados por interações intermoleculares entre os enantiômeros com o seletor quiral da fase estacionária. O processo de formação para os enantiômeros *S* e *R* pode ser caracterizado por parâmetros termodinâmicos (ΔG^0 , ΔH^0 e ΔS^0) (Rojkovičová *et al.*, 2004).

Em cromatografia, a dependência da temperatura com relação ao fator de retenção *k* pode ser descrita pela equação de van't Hoff (Schlauch e Frahm, 2001):

$$\ln k = -\frac{\Delta H^0}{R} \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^0}{R} + \ln \phi \quad (2.28)$$

em que *R* é a constante universal dos gases, *T* a temperatura absoluta, e ϕ é a razão entre as fases da coluna (volume de fase estacionária dividida pelo volume de vazios da coluna).

Assumindo que a entalpia molar padrão de adsorção ΔH^0 e a entropia de adsorção ΔS^0 são constantes dentro de uma faixa de temperatura relevante, que é usualmente o caso em cromatografia líquida, o gráfico de $\ln k$ versus $1/T$ é capaz de fornecer os valores de ΔH^0 e ΔS^0 a partir da inclinação e da interseção com o eixo da ordenada. Em cromatografia quiral, entretanto, os gráficos de van't Hoff podem apresentar desvios da linearidade devido a não-homogeneidade da superfície da

FEQ causada por mecanismos de retenção distintos. Como consequência, os cálculos dos parâmetros termodinâmicos podem ser realizados de forma errada.

Para obter mais informações sobre o processo de discriminação quiral, é importante examinar os parâmetros de Gibbs-Helmholtz ($\Delta\Delta H^0$ e $\Delta\Delta S^0$). Separações cromatográficas quirais são determinadas pela diferença de energia livre de adsorção $\Delta\Delta G^0$ dos enantiômeros. As diferenças entre as energias livres podem ser calculadas a partir da seletividade, de acordo com a seguinte equação (He *et al.*, 2004; Rojkovičová *et al.*, 2004; Schlauch e Frahm, 2001):

$$\Delta\Delta G^0 = \Delta\Delta H^0 - T\Delta\Delta S^0 = -RT \ln \alpha = -RT \ln \frac{k_2}{k_1} \quad (2.29)$$

A combinação da Eq. (2.28) com a relação de Gibbs-Helmholtz fornece a seguinte equação:

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta\Delta H^0}{R} \frac{1}{T} + \frac{\Delta\Delta S^0}{R} \quad (2.30)$$

Nas Equações acima, ΔG^0 , ΔH^0 e ΔS^0 representam as diferenças de energia livre, entalpia e entropia de um enantiômero na FEQ e fase móvel, respectivamente. $\Delta\Delta G^0$, $\Delta\Delta H^0$ e $\Delta\Delta S^0$ representam as diferenças de ΔG^0 , ΔH^0 e ΔS^0 para um dado par de enantiômeros, respectivamente.

A baixas temperaturas, a separação é controlada pelo termo entálpico, $\Delta\Delta H^0$. Este é o caso mais comum em cromatografia líquida e é expresso pelo decréscimo na seletividade com o aumento na temperatura. Se a dependência de $\ln k$ e $\ln \alpha$ *versus* $1/T$ (gráficos de van't Hoff) é uma relação linear, então pode ser assumido que (Rojkovičová *et al.*, 2004):

- (1) ΔH^0 e ΔS^0 são independentes da temperatura;

(2) Os enantiômeros interagem com o seletor quiral por um mecanismo de associação simples;

(3) O equilíbrio solvatação-dessolvatação não interfere no processo de associação dos enantiômeros com a FEQ.

Como relatado acima, a enantiosseletividade, expressa pela Eq. (2.30) por $\Delta\Delta G^0$, é principalmente influenciada por $\Delta\Delta H^0$ a baixas temperaturas. A altas temperaturas o termo entálpico irá ser cada vez mais compensado pelo termo entrópico $T\Delta\Delta S^0$. A uma certa temperatura, a temperatura enantiosseletiva T_{iso} , o termo entálpico é compensado pelo termo entrópico $T\Delta\Delta S^0$, conduzindo uma completa perda de separação quiral ($\Delta\Delta G^0 = 0$) (Weng *et al.*, 2005a; He *et al.*, 2004; Rojkovičová *et al.*, 2004; Schlauch e Frahm., 2001; Ahuja, 2000):

$$T_{iso} = \frac{\Delta\Delta H^0}{\Delta\Delta S^0} \quad (2.31)$$

À temperatura T_{iso} , nenhuma separação irá acontecer. A temperaturas maiores que T_{iso} , a ordem de eluição dos enantiômeros deve ser invertida. Entretanto, para a maioria dos enantiômeros, T_{iso} é muito maior que a faixa de temperatura de trabalho.

2.5.3. Método dos momentos e altura de um prato

Análise dos momentos é uma ferramenta usual para determinação de coeficientes de dispersão axial e parâmetros de transferência de massa a partir de experimentos de pulsos cromatográficos com soluções diluídas (Miyabe e Suzuki, 1992).

O primeiro momento absoluto μ corresponde ao tempo de retenção do pico, e está relacionado com a força de ligação (isto é, com a constante de equilíbrio). O segundo momento central corresponde ao alargamento dos picos, causado pelos

efeitos de transferência de massa, podendo estar associado a efeitos de não-linearidade das isotermas. Quando o pico cromatográfico possui um formato Gaussiano, o segundo momento é igual à variância σ^2 (Arnold *et al.*, 1985a; Arnold *et al.*, 1985b). O primeiro e segundo momentos são expressos da seguinte forma (Michel *et al.*, 2005; Guiochon *et al.*, 1994; Ruthven, 1984):

$$\mu = \frac{\int_0^{\infty} c_r(t, z=L) t dt}{\int_0^{\infty} c_r(t, z=L) dt} \approx \frac{\sum_{j=1}^{n_p} t_j c_{r,j} \Delta t}{\sum_{j=1}^{n_p} c_{r,j} \Delta t} \quad (2.32)$$

$$\sigma^2 = \frac{\int_0^{\infty} c_r(t, z=L) (t-\mu)^2 dt}{\int_0^{\infty} c_r(t, z=L) dt} \approx \frac{\sum_{j=1}^{n_p} (t_j - \mu)^2 c_{r,j} \Delta t}{\sum_{j=1}^{n_p} c_{r,j} \Delta t} \quad (2.33)$$

Nas Equações acima, c_r representa a resposta do detector. Se o sinal do detector é uma função linear da concentração, a análise pode ser realizada sem a necessidade de uma curva de calibração analítica.

Para o MTD, assumindo isoterma de adsorção linear, as expressões para o primeiro e para o segundo momento são descritas da seguinte forma (Ruthven, 1984):

$$\mu_{\text{MTD}} = \frac{L}{u} \left[1 + \left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) K_i \right] + \frac{t_p}{2} \quad (2.34)$$

$$\sigma_{\text{MTD}}^2 = \frac{2L}{u} \left\{ \frac{D_{L,i}}{u^2} \left[1 + \left(\frac{\varepsilon}{1-\varepsilon} \right) \frac{1}{K_i} \right]^2 + \left(\frac{\varepsilon}{1-\varepsilon} \right) \frac{1}{K_i k_{m,i}} \right\} + \frac{t_p^2}{12} \quad (2.35)$$

em que

$$K_i = \varepsilon_p + (1 - \varepsilon_p)H_i \quad (2.36)$$

Nas equações acima que t_p é o tempo de injeção.

Michel *et al.* (2005) reportaram que, para todos os modelos da cromatografia as equações para o primeiro momento são idênticas à equação para o modelo ideal e pode ser escrita da seguinte forma:

$$t_{R,i} = t_M \left(1 + \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} H_i \right) \quad (2.37)$$

As Eqs. (2.34) a (2.35) podem ser utilizados para calcular os parâmetros dos modelos a partir dos momentos μ e σ^2 medidos experimentalmente. Esse cálculo pode ser realizado a partir da análise detalhada da altura de prato teórico (H) (**Ruthven, 1984**):

$$H_{\text{MTD}} = \frac{L}{N_{p,i}} = \frac{\sigma_i^2}{\mu_i^2} = \frac{2D_{L,i}}{u} + 2u \left(\frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} \right) \frac{1}{K_i k_{m,i}} \left[1 + \left(\frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} \right) \frac{1}{K_i} \right]^{-2} \quad (2.38)$$

$$N_i = 5,54 \left(\frac{t_{R,i}}{w_{h,i}} \right)^2 \quad (2.39)$$

A Eq. (2.38) possui dois parâmetros de interesse: os coeficientes de dispersão axial (D_L) e de transferência de massa global (k_m).

O conceito da H é estritamente válido somente quando a transferência de massa é relativamente alta e os perfis dos picos de eluição são Gaussianos. Esse conceito não é válido em cromatografia não-linear (**Guiochon e Lin, 2003**).

A grandeza H mede a eficiência das condições cromatográficas a partir dos tempos de retenção e do alargamento das bandas. Esse parâmetro é normalmente utilizado para avaliar o desempenho da coluna, admitindo-se uma escolha adequada das condições (**Cass e Degani, 2001**). Um pequeno valor de H significa uma maior eficiência da coluna e altos valores de número de pratos teóricos (N). A meta principal em cromatografia líquida é o alcance de pequenos valores de H para maximizar N e elevar a eficiência da coluna. Em geral, tem-se que (**Snyder e Kirkland, 1979**):

- ✓ H é menor em colunas empacotadas com partículas pequenas, e para baixas taxas de velocidade da fase móvel;
- ✓ H é menor para fases móveis menos viscosas e para altas temperaturas de separação;
- ✓ H é menor para amostras de moléculas pequenas.

2.5.4. Isotermas de equilíbrio de adsorção

A isoterma de equilíbrio é a informação mais importante para modelar processos de separação em cromatografia líquida (**Seidel-Morgenstern e Guiochon, 1993a**) e descreve quantitativamente a distribuição de equilíbrio de um soluto entre as duas fases envolvidas no processo cromatográfico sob uma larga faixa de concentração (**Lim et al., 1995; Jacobson et al., 1984**).

Sob condições de sobrecarga, as isotermas de adsorção não são lineares. Esse desvio da linearidade deve-se a várias razões, principalmente relacionados à saturação e/ou à heterogeneidade da superfície ou às interações adsorbato-adsorbato na camada líquida e/ou próximo à superfície do adsorvente (**James et al., 1999**). As conseqüências do comportamento não-linear para os perfis dos picos

cromatográficos são bem conhecidas (**Seidel-Morgenstern e Guiochon, 1993a, Seidel-Morgenstern e Guiochon, 1993b; Guiochon et al., 1994**). Sob fortes condições de sobrecarga, as posições dos picos de eluição dependem essencialmente da termodinâmica do equilíbrio de fases, especialmente a altas concentrações, na qual há uma forte assimetria dos picos de eluição que é influenciado pela curvatura da isoterma de equilíbrio não-linear (**Miyabe e Guiochon, 2000**). Em cromatografia linear, efeitos de dispersão axial e os processos de transferência de massa são os principais responsáveis pelo grande alargamento dos picos cromatográficos (**Miyabe e Guiochon, 1999**). Em cromatografia preparativa, efeitos de transferência de massa e dispersão geralmente são menos importantes (**Seidel-Morgenstern, 2004**). Assim, o conhecimento do comportamento da isoterma freqüentemente contribui para explicar o mecanismo de retenção e pode ajudar a propor rotas para melhorar a separação, e conseqüentemente, a taxa de produção. Isso é de interesse particular para separações enantioméricas (**Mihlbachler et al., 2002a**).

Diversos métodos experimentais para a determinação de isotermas de adsorção para um único componente e para multicomponentes (isotermas competitivas) têm sido reportados na literatura (**Seidel-Morgenstern, 2004**). Esses métodos podem ser classificados em estáticos ou dinâmicos (**Seidel-Morgenstern, 2004; Lenz et al., 2002; Jacobson et al., 1984**). Os métodos estáticos para determinação de isotermas não analisam a curva concentração-tempo, apenas utilizam informações no estado de equilíbrio. Os métodos dinâmicos são baseados em uma análise matemática da curva resposta que correspondem às mudanças bem definidas das concentrações na entrada da coluna cromatográfica ao longo do tempo (**Seidel-Morgenstern, 2004**).

As principais desvantagens dos métodos estáticos são a lentidão, a incerteza para se atingir o equilíbrio e a grande quantidade de soluto e adsorvente requerida para medidas precisas (**Jacobson et al., 1984**). Métodos dinâmicos são implementações dedicadas à cromatografia e que foram desenvolvidos durante os

últimos 50 anos. Esses métodos incluem a *análise frontal* (AF), *análise frontal por pontos característicos* (AFPC), *eluição por pontos característicos* (EPC), *métodos de perturbação* (MP) e *método inverso* (MInv) (James *et al.*, 1999). Os mais convencionais são AF, AFPC e EPC. Entretanto, EPC e AFPC somente são usadas para determinação de isothermas de um único componente. Apenas os métodos da AF e MP podem ser utilizados para a determinação de isothermas de um único componente (monocomponente) e isothermas competitivas, nas quais a AF tem sido o método mais amplamente utilizado para obtenção dos dados de equilíbrio de adsorção competitiva (Felinger *et al.*, 2003; Piatkowski *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2003a; Gritti e Guiochon, 2003a; Gritti e Guiochon, 2003b; Khattabi *et al.*, 2000a; Guiochon *et al.*, 1994; Jacobson *et al.*, 1987). Esse método tem sido aplicado para determinação de um grande número de isothermas de equilíbrio, em muitos modos cromatográficos (Jacobson *et al.*, 1984; Guiochon *et al.*, 1994). Apesar de recentes estudos terem sido realizados aplicando esta metodologia para obtenção de dados de equilíbrio de adsorção multicomponente (Götmar *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2003a; Zhou *et al.*, 2003b; Cavazzini *et al.*, 2002; Mihlbachler *et al.*, 2002a; Lisec *et al.*, 2001; Khattabi *et al.*, 2000a; Cherrak *et al.*, 2000) pouco tem sido feito até agora explorando esse conceito de medição de isothermas competitiva (Seidel-Morgenstern, 2004).

Modelo de Langmuir competitivo

O modelo de Langmuir competitivo considera que o processo de adsorção acontece em uma superfície composta de um número fixo de sítios de adsorção de igual energia; uma molécula é adsorvida por sítio até que a cobertura da monocamada seja alcançada (James *et al.*, 1999). Esse modelo é o mais freqüentemente utilizado para descrever adsorção não-linear, embora seja assumido que é um modelo muito simples para informar a adsorção em fases estacionárias quírais (Felinger *et al.*, 2003, Gritti e Guiochon, 2003a),

principalmente devido a sua restrição à superfícies homogêneas e cobertura da monocamada. Todavia, a isoterma de Langmuir é conveniente para análise quantitativa de processos de adsorção e tem uma base física, distintamente das equações empíricas como o modelo de Freundlich que não tem nenhuma justificativa teórica (Jacobson *et al.*, 1984). A isoterma de Langmuir pode ser expressa da seguinte forma:

$$q_i^* = q_s \frac{b_i c_i}{1 + b_1 c_1 + b_2 c_2} = \frac{H_i c_i}{1 + b_1 c_1 + b_2 c_2}; \quad i = 1, 2 \quad (2.40)$$

em que q^* é a quantidade adsorvida do componente i na fase sólida, q_s é a capacidade de saturação da monocamada do adsorvente e b_i é a constante de equilíbrio de adsorção. A constante de Henry (H) para o componente i é dada pelo produto $q_s \cdot b_i$.

A grande vantagem desse modelo é o pequeno número de parâmetros requeridos e a simplicidade de sua dedução. De fato, somente três parâmetros são necessários para descrever a adsorção competitiva: duas constantes de equilíbrio e a capacidade de saturação (Cavazzini *et al.*, 2002).

Modelo bi-Langmuir competitivo

Quando enantiômeros são separados em uma FEQ, é esperado que a fase estacionária seja heterogênea, com uma distribuição de energia bimodal. Isso significa que a superfície da FEQ contém dois diferentes tipos de sítios. Sítios não-seletivos retêm ambos os enantiômeros com a mesma energia de adsorção, enquanto que os sítios enantiosseletivos interagem diferentemente com estes dois enantiômeros, ligando-se a eles com diferentes energias (com igual ou diferente capacidade de saturação). Assim, as constantes de equilíbrio dos dois enantiômeros nos sítios não-seletivos são iguais e o modelo bi-Langmuir possui

apenas cinco parâmetros. Esse modelo é uma extensão do modelo competitivo de Langmuir quando esses dois tipos de sítios coexistem na superfície da fase estacionária (Felingner *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2003a; Cavazzini *et al.*, 2002; Cherrak *et al.*, 2000), e é escrito como:

$$q_i^* = q_{ns} \frac{b_{ns,i}c_i}{1 + b_{ns,i}(c_1 + c_2)} + q_s \frac{b_{s,i}c_i}{1 + b_{s,1}c_1 + b_{s,2}c_2}; i = 1,2 \quad (2.41)$$

em que $b_{ns,i}$ é a constante de equilíbrio do componente i para a adsorção nos sítios não-seletivos, $b_{s,i}$ é a constante de equilíbrio do componente i para a adsorção nos sítios enantioseletivos, q_{ns} é a capacidade de saturação dos sítios não-seletivos e q_s é a capacidade de saturação dos sítios enantiosseletivos.

Modelo Langmuir competitivo modificado

Este modelo é um caso particular do modelo de Langmuir competitivo e tem se mostrado adequado para descrever a adsorção em fases estacionárias quirais. Nesta expressão, h é a constante de equilíbrio linear para o componente i , q_s é a capacidade de saturação da monocamada do adsorvente e b_i é a constante de equilíbrio de adsorção (Zhang *et al.*, 2003; Haag *et al.*, 2001; Nicoud, 2000; Pais *et al.*, 1998a,b; Rodrigues *et al.*, 1995).

$$q_i^* = h_i c_i + q_s \frac{b_i c_i}{1 + b_1 c_1 + b_2 c_2}; i = 1,2 \quad (2.42)$$

Determinação de isotermas de adsorção por análise frontal

Na metodologia da AF para determinação de isotermas competitivas, a coluna inicialmente equilibrada com a fase móvel é alimentada por uma solução, contendo uma concentração conhecida da mistura em estudo até que a coluna seja

completamente saturada. Ao atingir a saturação (condição de equilíbrio), uma nova solução de concentração mais elevada e de valor conhecido é alimentada na coluna até que seja atingido um novo equilíbrio. Esse procedimento é repetido sucessivas vezes gerando sucessivas curvas de ruptura (em forma de degraus sucessivos). Cada curva de ruptura fornecerá um ponto na isoterma de adsorção competitiva (**Jacobson *et al.*, 1987; Guiochon *et al.*, 1994**).

Para mistura binária, a curva de ruptura possui um platô intermediário na etapa de adsorção. Se a condição inicial para a curva de ruptura é que a coluna esteja em equilíbrio com a fase móvel, apenas o enantiômero menos retido é eluído durante este platô intermediário. Geralmente, a concentração do componente menos retido no platô intermediário é maior que a sua concentração na alimentação. Na etapa de dessorção da curva de ruptura, também pode ser possível a observação de um platô característico intermediário correspondente ao enantiômero mais retido (**Mihlbachler *et al.*, 2002a; Lisec *et al.*, 2001**).

Os dados experimentais da isoterma de adsorção podem ser determinados tanto para a etapa de adsorção da curva de ruptura quanto para a etapa de dessorção, de acordo com os balanços de massa representados pelas Equações (2.43) e (2.44) (**Mihlbachler *et al.*, 2002a**):

$$q_i^* = \frac{c_i(V_{F,1+2} - V_M) - c_{i,pi}(V_{F,1+2} - V_{F,1})}{V_a} \quad (2.43)$$

$$q_i^* = \frac{c_i(V_{F,1+2} - V_M) + c_{i,pi}(V_{F,1+2} - V_{F,2})}{V_a} \quad (2.44)$$

em que c e c_{pi} são as concentrações do componente i na alimentação e no platô intermediário, respectivamente; $V_{F,1}$ e $V_{F,1+2}$ são os volume de retenção no primeiro e no segundo ponto de inflexão na etapa de adsorção da curva de ruptura; V_M é o

volume morto do sistema cromatográfico; e V_a é o volume de adsorvente na coluna.

2.5.5. Estimativa da queda de pressão

É bem conhecido que as condições ótimas de operação em cromatografia, com propósitos preparativos, geralmente são atingidas quando são utilizadas as vazões mais altas possíveis, limitadas pela queda de pressão e pelo desempenho das bombas (Kaspereit *et al.*, 2002a). Como a unidade do LMS é projetada para trabalhar a uma dada pressão, é necessário estabelecer uma relação entre a queda de pressão na coluna (por unidade de comprimento) e a velocidade intersticial fase móvel (equação de Darcy). A equação de Kozeny-Carman é satisfatória para fluxos laminares utilizados em cromatografia (Nicoud, 2000, Nicoud, 1999):

$$\frac{\Delta p}{L} = \frac{\eta}{\kappa} u = \frac{\eta}{\left(\frac{d_p^2 \varepsilon^3}{36\beta(1-\varepsilon)^2} \right)} u \quad (2.45)$$

em que o parâmetro κ representa a permeabilidade do leito e β (coeficiente de Kozeny) possui um valor de aproximadamente 4,5.

2.6. Condições de operação para unidades LMS

O projeto de uma unidade LMS requer a escolha das condições operacionais (tempo de troca e vazões em cada seção da unidade). Considerando a complexidade dinâmica de operação no LMS, a escolha de condições operacionais não é uma tarefa simples ou direta (Silva *et al.*, 2004). Diversos grupos de pesquisa têm dedicado esforços visando a otimização das condições operacionais de uma unidade LMS, e diferentes metodologias para a determinação destes parâmetros de

projeto têm sido reportadas, dentre as quais se pode destacar o *método do triângulo*, baseado na teoria do equilíbrio, primeiramente idealizado por **Storti et al. (1993)**, o *conceito das ondas estacionárias* o qual foi desenvolvido por **Ma e Wang (1997)** e o *método dos volumes de separação*, introduzido por **Azevedo e Rodrigues (1999)**.

O método do triângulo é aplicado tanto para sistemas que apresentam isotermas de adsorção lineares quanto para sistemas descritos por modelos de Langmuir estequiométrico ou não estequiométrico, em que a mistura axial e as resistências à transferência de massa são negligenciadas e assume-se que o equilíbrio de adsorção é estabelecido instantaneamente na coluna. Nesta metodologia apenas os parâmetros de equilíbrio de adsorção são considerados na determinação da região de completa separação (teoria do triângulo) (**Migliorini et al., 2002**).

A teoria do triângulo, por não levar em conta efeitos de dispersão e de transferência de massa, não é capaz de unir, nas condições de operação, a pureza do produto desejado com as vazões nas zonas, com os comprimentos das zonas, e com os parâmetros de transferência de massa. Dessa forma, o projeto resultante serve como uma suposição inicial para a otimização do LMS (**Storti et al., 1993**). A otimização das condições operacionais pode ser obtida pelo uso de um modelo completo que inclui efeitos de transferência de massa (**Silva et al., 2004**).

Com o intuito de superar as desvantagens apresentadas pelo método do triângulo, uma metodologia mais robusta foi apresentada em 1997 por **Ma e Wang (1997)**. Esses autores introduziram o conceito das ondas estacionárias, o qual gera soluções analíticas, no estado estacionário, para sistemas com isotermas de adsorção lineares. Equações algébricas explícitas são derivadas para unir a pureza e recuperação dos produtos à (1) dispersão axial e outros coeficientes de transferência de massa, (2) aos comprimentos das quatro zonas, (3) à velocidade linear nas quatro zonas, (4) e a velocidade do leito móvel. Essas velocidades

forneem bom desempenho e menor consumo de solvente, quando as purezas dos produtos e vazões são especificadas para um dado sistema.

No trabalho apresentado por **Ma e Wang (1997)**, uma avaliação computacional da unidade LMS foi validada com resultados experimentais da separação de açúcares. Em 1998, **Mallmann et al. (1998)** estenderam o conceito das ondas estacionárias para sistemas não-lineares, no processo de purificação da frutose. Apenas no ano de 2003, essa metodologia foi aplicada para separação enantiomérica (**Xie et al., 2003a**), sendo realizado sob condições não-lineares.

Em 1999, uma nova metodologia para determinação das condições operacionais de uma unidade LMS foi apresentada por **Azevedo e Rodrigues (1999)**. Essa nova rota, chamada metodologia dos volumes de separação, é baseada na teoria do equilíbrio, porém os efeitos das vazões nas seções I e IV da unidade LMS são levados em conta na determinação da região de completa separação, na presença das resistências à transferência de massa. Isso é feito por meio de uma simulação numérica cuja finalidade é obter um *volume* de separação (em três dimensões), ao invés de uma *área* de separação (em duas dimensões). A partir desse novo conceito foi demonstrada uma significativa redução na região de completa separação, quando são considerados os efeitos de transferência de massa na unidade, efeitos estes negligenciados na teoria do equilíbrio.

Essa nova rota foi inicialmente aplicada na separação de açúcares (frutose e glicose) sob condições lineares (**Azevedo e Rodrigues, 2001**), e posteriormente para separação de *p*-xilenos em condições não-lineares (**Minceva e Rodrigues, 2002**). Em 2004, foi apresentado um trabalho no qual é mencionada uma solução analítica para uma unidade LMS, operando em condições lineares de separação de glicose e frutose, em que a metodologia dos volumes de separação foi aplicada na determinação das condições operacionais (**Silva et al., 2004**). Somente no ano de 2004 essa metodologia foi aplicada na separação enantiomérica de fármacos quirais (**Rodrigues e Pais, 2004**).

Apesar das limitações apresentadas com relação ao método do triângulo, essa metodologia tem sido amplamente aplicada com sucesso para separações de misturas racêmicas tanto em condições lineares (Santos *et al.*, 2004; Abel *et al.*, 2004a; Erdem *et al.*, 2004a; Abel *et al.*, 2002; Khattabi *et al.*, 2000b; Pedefferri *et al.*, 1999) quanto sob condições não-lineares das isotermas de equilíbrio de adsorção (Erdem *et al.*, 2004b; Mihlbachler *et al.*, 2004; Wang e Ching, 2004; Yu e Ching, 2002; Kaspereit *et al.*, 2002a; Migliorini *et al.*, 2002; Migliorini *et al.*, 1999a,b; Mazzotti *et al.*, 1997a).

2.6.1. Método do triângulo

Storti *et al.* (1993) desenvolveram uma metodologia chamada método do triângulo, o qual fornece as condições operacionais do processo LMS, que produzem 100% de separação para equilíbrio de adsorção linear, modelo de Langmuir estequiométrico e não-estequiométrico, em que a mistura axial e a resistência ao transporte de massa forem negligenciáveis, isto é, assumindo um modelo ideal.

Nessa metodologia, o desempenho de separação depende da razão entre as vazões de fluido e sólido, m_j , nas quatro seções da unidade do LMS. Esses parâmetros são definidos como as relações entre as vazões da fase fluída pelas vazões da fase sólida de um LMV equivalente em cada zona da unidade:

$$m_j = \frac{Q_j^{\text{LMS}} t^* - V \varepsilon_T}{V(1 - \varepsilon_T)} \quad (2.46)$$

Em uma unidade de LMS, o volume extra-coluna nas tubulações e conexões entre as colunas deve ser corretamente considerado no projeto das condições operacionais. Em particular, esse problema cresce em unidades de pequena escala em que o volume morto extra-coluna chega a ser similar ao próprio volume da

coluna. Para uma única coluna, é reconhecido que o volume morto extra-coluna gera um alargamento dos picos, reduzindo a eficiência da coluna e a performance de separação (Migliorini *et al.*, 2002; Migliorini *et al.*, 1999a; Pedferri *et al.*, 1999).

Levando-se em consideração o volume morto extra-coluna V_j^D , o qual pode ser diferente em cada seção da unidade do LMS, tem-se que:

$$m_j = \frac{Q_j^{\text{LMS}} t^* - V \varepsilon_T - V_j^D}{V(1 - \varepsilon_T)} \quad (2.47)$$

Método do triângulo para isotermas lineares

Considerando uma unidade de separação contracorrente de quatro seções, a região de completa separação pode ser facilmente expressa em termos de vazões em cada seção da unidade. A região de completa separação, definida pelo plano (m_{II} , m_{III}), pode ser determinada teoricamente pelas restrições das vazões em cada zona da unidade LMS (Storti *et al.*, 1993):

$$\text{Zona I: } H_B \leq m_{\text{I}} \quad (2.48)$$

$$\text{Zona II: } H_A \leq m_{\text{II}} \leq H_B \quad (2.49)$$

$$\text{Zona III: } H_A \leq m_{\text{III}} \leq H_B \quad (2.50)$$

$$\text{Zona IV: } m_{\text{IV}} \leq H_A \quad (2.51)$$

Essas restrições definem a região espacial de quatro dimensões cujas coordenadas são os parâmetros operacionais m_{I} , m_{II} , m_{III} e m_{IV} e cujos pontos representam condições de operação correspondentes à região de completa

separação. Essas restrições não dependem da concentração de alimentação, mas apenas dos coeficientes de Henry, desde que as isotermas sejam lineares. Considerando as zonas II e III de uma unidade LMS, os quais têm um papel fundamental no desempenho de separação, sendo $m_{II} < m_{III}$, as restrições (2.49) e (2.50) podem ser reescritas como se segue (Mazzotti *et al.*, 1997a):

$$H_A < m_{II} < m_{III} < H_B \quad (2.52)$$

Essas inequações definem a projeção da região de completa separação em quatro dimensões em um plano (m_{II}, m_{III}) , mostrado na Figura 2.5. Essa região corresponde ao triângulo awb . As coordenadas dos pontos a e b ao longo da diagonal são determinados pelas constantes de Henry dos enantiômeros menos retido (A) e mais retido (B), respectivamente (Migliorini *et al.*, 2002).

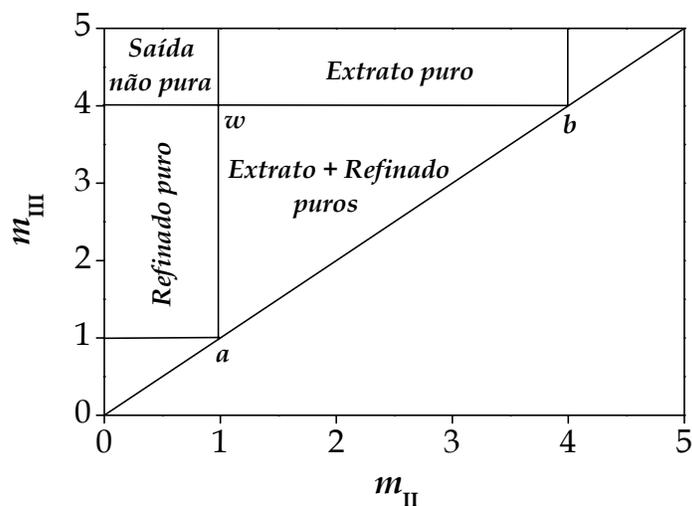


Figura 2.5. Regiões do plano (m_{II}, m_{III}) com diferentes regimes de separação em termos de pureza nas linhas de saída, para um sistema descrito pela isoterma de adsorção linear em que as constantes de Henry hipotéticas possuem valores iguais a $H_A = 1$ e $H_B = 4$.

Analisando a Figura 2.5, nota-se que a região onde a separação pode ser alcançada é restringida pela inequação $m_{II} < H_B$ e $m_{III} > H_A$; se tanto a primeira quanto a segunda desigualdade não forem cumpridas, a saída de extrato ou de refinado, respectivamente, serão inundadas com solvente e nenhuma separação será obtida. Além disso, a região do plano (m_{II}, m_{III}) , onde a separação pode acontecer, possui limites com três outras regiões. A região onde $m_{III} > H_B$ e $H_A < m_{II} < H_B$ é constituída por pontos operacionais correspondente a condição na qual a restrição (2.50) não é cumprida, conseqüentemente o componente mais fortemente adsorvido B é transportado para cima, contaminando a corrente de refinado, cuja pureza (P_R) cai abaixo de 100%, enquanto que a pureza do extrato (P_E) é mantida em 100%. Por razões semelhantes à região onde $m_{II} < H_A$ e $H_A < m_{III} < H_B$ corresponde à operação em que $P_R = 100\%$ enquanto que $P_E < 100\%$. A região onde tanto $m_{III} > H_B$ e $m_{II} < H_A$ correspondem à condição operacional para a qual ambos os componentes se distribuem nas duas correntes de produto e ambos valores de pureza caem abaixo de 100% (**Mazzotti et al., 1997a**).

Método do triângulo para isotermas não-lineares

Sob condições não-lineares, o formato da região de separação depende da concentração de alimentação e do equilíbrio de adsorção multicomponente. Conseqüentemente, diferentes modelos de isotermas conduzem a regiões de separação com diferentes formatos, embora sob condições de diluição essas regiões convergem à mesma isoterma de adsorção linear (**Migliorini et al., 2002**).

Combinando o requerimento do processo para completa separação com o balanço de massa nos nós da unidade do LMS e utilizando os resultados da teoria do equilíbrio (gráfico do triângulo) para sistemas que possuem isotermas de adsorção do tipo Langmuir, as seguintes condições que as razões entre as vazões devem cumprir para alcançar a completa separação são:

$$H_B \leq m_{I,\min} \leq \infty \quad (2.53)$$

$$m_{II,\min}(m_{II}, m_{III}) < m_{II} < m_{III,\max}(m_{II}, m_{III}) \quad (2.54)$$

$$\begin{aligned} -\frac{\varepsilon_p}{1-\varepsilon_p} < m_{IV} < m_{IV,\max}(m_{II}, m_{III}) = \\ = \frac{1}{2} \left\{ H_A + m_{III} + b_A c_{A,F}(m_{III} - m_{II}) - \sqrt{[H_A + m_{III} + b_A c_{A,F}(m_{III} - m_{II})]^2 - 4H_A m_{III}} \right\} \end{aligned} \quad (2.55)$$

As restrições em m_I e m_{IV} são explícitas. Porém, o limite inferior em m_I não depende das outras relações entre as vazões, enquanto que o limite superior em m_{IV} é uma função explícita das relações entre vazões m_{II} e m_{III} . Embora implícitas, as restrições (Eq. 2.54) em m_{II} e m_{III} não dependem de m_I e m_{IV} . Então, elas definem uma única região de completa separação *abw* na Figura 2.6. Os limites dessa região podem ser calculados explicitamente em termos dos parâmetros de equilíbrio de adsorção e da composição de alimentação, como se segue (**Migliorini et al., 1998; Mazzotti et al., 1997a; Mazzotti et al., 1996**):

Reta *wt*:

$$(H_B - \omega_G(1 + b_B c_{B,F}))m_{II} + b_B c_{B,F} \omega_G m_{III} = \omega_G (H_B - \omega_G) \quad (2.56)$$

Reta *wa*:

$$(H_B - H_A(1 + b_B c_{B,F}))m_{II} + b_B c_{B,F} H_A m_{III} = H_A (H_B - H_A) \quad (2.57)$$

Curva *rb*:

$$m_{III} = m_{II} + \frac{(\sqrt{H_B} - \sqrt{m_{II}})^2}{b_B c_{B,F}} \quad (2.58)$$

Reta *ab*:

$$m_{II} = m_{III} \quad (2.59)$$

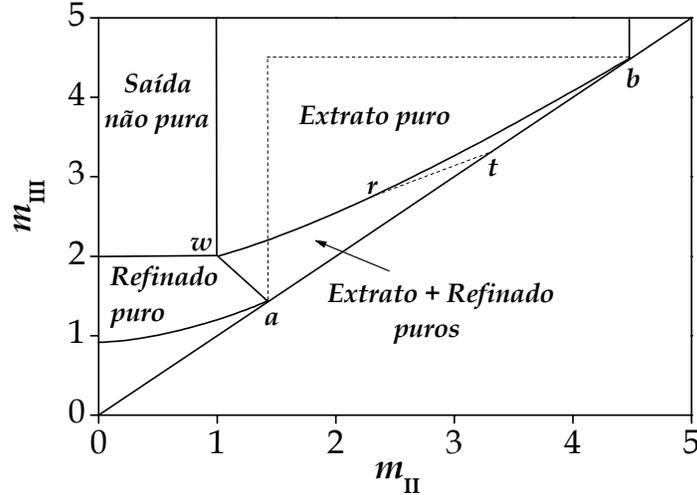


Figura 2.6. Separação de uma mistura binária usando um dessorvente não-adsorvido pela fase estacionária. Regiões do plano (m_{II}, m_{III}) com diferentes regimes de separação em termos de pureza das correntes de saída, para um sistema descrito por isotermas de Langmuir não-estequiométrica.

As coordenadas dos pontos de interseção são dadas por:

$$\text{ponto } a \ (H_A, H_A) \quad (2.60)$$

$$\text{ponto } b \ (H_B, H_B) \quad (2.61)$$

$$\text{ponto } t \ (\omega_G, \omega_G) \quad (2.62)$$

$$\text{ponto } r \ \left(\frac{\omega_G^2}{H_B}, \frac{\omega_G [\omega_F (H_B - \omega_G) (H_B - H_A) + H_A \omega_G (H_B - \omega_F)]}{H_B H_A (H_B - \omega_F)} \right) \quad (2.63)$$

$$\text{ponto } w \left(\frac{H_A \omega_G}{H_B}, \frac{\omega_G [\omega_F (H_B - H_A) + H_A (H_A - \omega_F)]}{H_A (H_B - \omega_F)} \right) \quad (2.64)$$

Nas equações acima, ω_G e ω_F dependem da composição da alimentação. Esses parâmetros são as raízes da seguinte equação quadrática ($\omega_G > \omega_F > 0$) (Migliorini *et al.*, 1998):

$$(1 + b_B c_{B,F} + b_A c_{A,F}) \omega^2 - [H_B (1 + b_A c_{A,F}) + H_A (1 + H_B c_{B,F})] \omega + H_A H_B = 0 \quad (2.65)$$

Como ilustrado na Figura 2.6, a região de completa separação é circundada por três regiões correspondentes a três diferentes regimes de operação, isto é, região de refinado puro, onde a corrente de refinado está pura, mas o extrato está poluído com o componente B , a região de extrato puro, onde somente o extrato está puro, mas não o refinado, e a região de saída não pura, onde os componentes A e B distribuem-se nas correntes de saída. A informação dada pela representação geométrica das regiões de separação no plano (m_{II} , m_{III}) da Figura 2.6 só está correta, se as restrições pertinentes em m_I e m_{IV} , isto é, as inequações 2.53 e 2.55, são cumpridas (Migliorini *et al.*, 1998).

Quando a unidade do LMS opera sob condições ótimas de operação, a pureza do extrato e a pureza do refinado devem ser elevadas. Isso requer que o ponto ótimo de operação esteja na região de completa separação (Yu e Ching, 2002). Para uma dada composição de alimentação, as coordenadas do ponto ótimo são (Kaspereit *et al.*, 2002a; Yu e Ching, 2002; Mazzotti *et al.*, 1997a):

$$m_{I,\text{ótimo}} = m_{I,\text{min}} = H_B \quad (2.66)$$

$$m_{II,\text{ótimo}} = \frac{\omega_G H_A}{H_B} \quad (2.67)$$

$$m_{III,\acute{o}timo} = \frac{\omega_G [\omega_F (H_B - H_A) + H_A (H_A - \omega_F)]}{H_A (H_B - \omega_F)} \quad (2.68)$$

$$m_{IV,\acute{o}timo} = m_{IV,max} = \frac{1}{2} \left\{ H_A + m_{III} + b_{AC_{A,F}} (m_{III} - m_{II}) - \sqrt{[H_A + m_{III} + b_{AC_{A,F}} (m_{III} - m_{II})]^2 - 4H_A m_{III}} \right\} \quad (2.69)$$

Para sistemas lineares, as mesmas considerações sobre os parâmetros de desempenho conduzem às seguintes relações ótimas entre as vazões: $m_{I,\acute{o}timo} = m_{III,\acute{o}timo} = H_B$; $m_{II,\acute{o}timo} = m_{IV,\acute{o}timo} = H_A$. Para sistemas caracterizados por isotermas de Langmuir modificada (Equação 2.42), os valores ótimos das razões entre as vazões são obtidos pela adição do termo linear (h) ao lado direito das Equações (2.66 - 2.69) (Mazzotti *et al.*, 1997a).

2.6.2. Método dos volumes de separação

Baseado na teoria do equilíbrio, Azevedo e Rodrigues (1999) propuseram uma nova metodologia, conhecido como volumes de separação, para otimização das condições de operação da unidade LMS. Este conceito é baseado na teoria do equilíbrio, porém considerando as resistências à transferência de massa não só nas zonas II e III, mas também nas zonas I e IV (Rodrigues e Pais, 2004). Esta metodologia consiste na determinação dos volumes de separação e requer uma solução numérica das equações do modelo do LMV para um determinado conjunto de condições operacionais (Silva *et al.*, 2004).

Tanto pela teoria do equilíbrio quanto pela metodologia dos volumes de separação as condições são expressas em termos de razão entre as velocidades intersticiais das fases líquida e sólida em cada zona. Definindo o parâmetro adimensional γ_j como sendo a razão entre as velocidades intersticiais do fluido e do sólido na zona j ($\gamma_j = u_j/v_s$), a região de completa separação em termos de razão

entre as velocidades pode ser obtida a partir das restrições definidas pelas Equações. (2.70) a (2.73), que são descritas de forma análoga às restrições para a teoria do triângulo, em que o parâmetro $m_j = \gamma_j \varepsilon_T / (1 - \varepsilon_T)$.

$$\text{Zona I: } \gamma_I > \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \frac{q_{A,I}}{c_{A,I}} \quad (2.70)$$

$$\text{Zona II: } \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \frac{q_{B,II}}{c_{B,II}} < \gamma_{II} < \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \frac{q_{A,II}}{c_{A,II}} \quad (2.71)$$

$$\text{Zona III: } \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \frac{q_{B,III}}{c_{B,III}} < \gamma_{II} < \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \frac{q_{A,III}}{c_{A,III}} \quad (2.72)$$

$$\text{Zona IV: } \gamma_{IV} < \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \frac{q_{B,IV}}{c_{B,IV}} \quad (2.73)$$

Para sistemas binários em que as isotermas de adsorção são lineares, $q_i/c_i = H_i$ é constante, e a determinação das vazões internas de uma unidade LMV podem ser facilmente determinadas a partir do plano γ_{II} - γ_{III} . No entanto, para sistemas nos quais as isotermas são não-lineares, a obtenção das vazões a partir do plano γ_{II} - γ_{III} não é direta e podem ser determinadas de acordo com a teoria do equilíbrio de acordo com as Equações (2.56) a (2.58). Como demonstrado por diversos autores (Pais *et al.*, 1997; Pais *et al.*, 1998*a,b*; Miglorini *et al.*, 1999*b*; Azevedo e Rodrigues, 1999; Minceva e Rodrigues, 2002; Kaspereit *et al.*, 2002; Beltscheva *et al.*, 2003; Rodrigues e Pais *et al.*, 2004) há um desvio significativo do equilíbrio quando efeitos não-ideias devido às resistências à transferência de massa e efeitos de dispersão axial são impostos à unidade LMS, comprometendo as purezas nas correntes de saída da unidade.

A determinação dos volumes de separação consiste em uma análise da influência dos efeitos de transferência de massa nas restrições das seções I e IV que gera um volume de separação tri-dimensional, ao invés de uma área de separação bi-dimensional. Duas estratégias são utilizadas para a determinação do volume de separação. O objetivo das duas estratégias é de encontrar o conjunto de γ_j em um espaço tri-dimensional que resulte em uma pureza pré-estabelecida para ambas correntes de extrato e de refinado. A primeira estratégia consiste na fixação dos valores de γ_{IV} e para o cálculo das regiões de separação para diferentes valores de γ_I , desde que o valor mínimo de γ_{IV} esteja de acordo com a restrição imposta pela teoria do equilíbrio. A segunda estratégia consiste na fixação dos valores de γ_I para o cálculo das regiões de separação para diferentes valores de γ_{IV} . Da mesma forma, as restrições impostas pelo equilíbrio para γ_I devem ser obedecidas (**Azevedo e Rodrigues, 1999**). As regiões de separação são apresentadas em um sistema de coordenadas tri-dimensionais representadas ou pelos polígonos $(\gamma_I, \gamma_{II}, \gamma_{III})$ ou $(\gamma_{IV}, \gamma_{II}, \gamma_{III})$ que correspondem a cada valor de γ_I ou γ_{IV} examinados, respectivamente (**Minceva e Rodrigues, 2002**).

Capítulo 3

3. Materiais e Métodos

Neste capítulo são apresentadas as descrições dos materiais e a metodologia empregada para a realização dos experimentos em leito fixo destinados a construção das regiões de separação, projeto das condições operacionais e predição de separação da unidade LMS, por meio de simulações computacionais utilizando os modelos matemáticos do LMV e do LMS.

3.1. Materiais

3.1.1. A bupivacaína e seus enantiômeros puros

A bupivacaína utilizada neste trabalho foi gentilmente cedida pela Cristália Indústrias Farmacêuticas (Itapira, SP), tanto na forma de mistura racêmica (bupivacaína base) quanto na forma pura de seus enantiômeros (cloridrato).

Os enantiômeros sob a forma cloridrato foram convertidos para a forma base por precipitação usando solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) a 1,0 mol/L e, em seguida extraídos com hexano. Em frascos Erlenmeyer distintos

foram adicionados o cloridrato de *S*-(-)-bupivacaína e o cloridrato de *R*-(+)-bupivacaína. Em seguida, foram adicionados, a cada frasco, a solução de NaOH e colocados sob agitação por um certo período. Como os enantiômeros da bupivacaína em sua forma base são pouco solúveis em água esses precipitaram nos frascos Erlenmeyer. Cada enantiômero na sua forma individual foi recuperado por filtração. Para recuperação dos enantiômeros residuais presentes na fase aquosa o líquido resultante da filtração foi transferido para funis de separação. A esses funis foram adicionados volumes iguais de hexano. Após agitação essas misturas foram deixadas em repouso por 1 hora para completa separação das fases. A fase orgânica foi coletada e transferida para balões volumétricos. As fases sólidas (enantiômeros puros) foram obtidas em sistema de rota-evaporador. Os balões contendo os enantiômeros recuperados tanto no sistema de rota-vapor quanto na precipitação foram deixados por 6 horas em sistema de ultra-vácuo para eliminação de traços de água ou solvente.

3.1.2. A fase estacionária quiral

Oito colunas cromatográficas empacotadas com a FEQ O,O'-bis[4-*terc*-butilbenzoil]-*N,N'*-dialil-*L*-tartardiamida covalentemente imobilizada à sílica Kromasil® por ligações cruzadas, comercialmente conhecida como Kromasil® CHI-TBB, foram gentilmente cedidas pela Eka Chemicals (Suécia). As colunas quirais de aço inoxidável (25 cm X 1 cm D.I.) foram empacotadas com a FEQ com tamanho de partículas de 16 µm de diâmetro e com 100 Å (10 nm) de diâmetro interno de poro. Essa fase estacionária é obtida a partir do precursor *N,N'*-dialil-*L*-tartardiamida (DATD) pela derivatização de grupos hidroxilas e posterior imobilização em sílica (Figura 3.1). A imobilização em um polímero multifuncional, com é o caso da sílica, fornece à FEQ uma maior eficiência da coluna e uma maior capacidade de saturação.

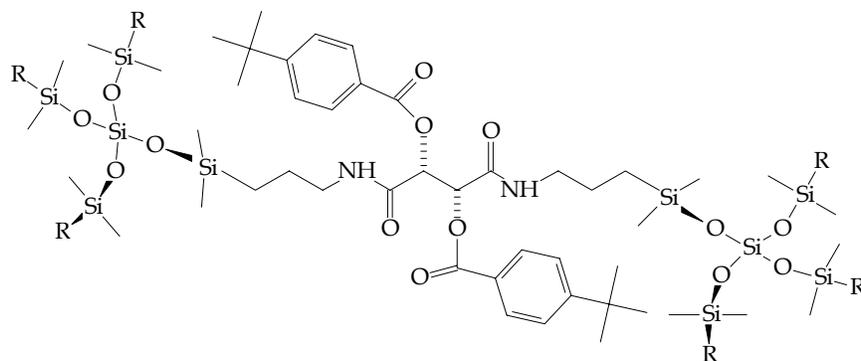


Figura 3.1. Estrutura molecular da FEQ O,O'-bis[4-*tert*-butil-benzoil]-N,N'-dialil-L-tartardiamida. R denota a repetição da unidade do seletor.

Informações acerca das características físicas da FEQ foram fornecidas pelo fabricante e são apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Análise realizada pelo fabricante para a FEQ Kromasil® CHI-TBB

Análise	Resultado
Sílica não-derivatizada	
Volume de poro	0,90 mL/g
Área superficial	322 m ² /g
Densidade da partícula	0,66 g/mL
Pureza química	
Al	< 10 mg/L
Fe	< 10 mg/L
Na	15 mg/L
Tamanho de partícula, d _{V50}	16 µm
Distribuição do tamanho de partícula, d _{V90/10}	1,36
Sílica derivatizada	
Carbono	15,0 %
Nitrogênio	0,6 %
Cobertura quiral	0,21 mmol/g

3.1.4. As fases móveis

Conforme informações fornecidas no catálogo do fabricante das colunas Kromasil® CHI-TBB, a retenção e seletividade são principalmente dependentes da capacidade do racemato em proporcionar ligações de hidrogênio com as fases móveis não-aquosas, que são reguladas pela adição de modificadores (éters, ésteres, cetonas e álcoois). A combinação de aditivos, tais como ácido acético e trietilamina, confere a racematos básicos, como é o caso da bupivacaína, maior seletividade e picos bem mais definidos.

O catálogo do fabricante das colunas Kromasil® CHI-TBB apresenta uma separação da bupivacaína em uma coluna analítica (25 x 0,46 cm D.I.) com a mistura *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (99/1/0,3/0,05 v/v) como fase móvel (FM). Testes iniciais foram realizados nas colunas preparativas variando a proporção entre o *n*-hexano e o 2-propanol e mantendo constantes as proporções entre os modificadores (ácido acético e trietilamina). Os melhores resultados de separação (não apresentados), em termos de seletividade foram alcançados com a proporção *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v). Essa FM foi empregada em todos experimentos de separação da bupivacaína bem como na determinação da porosidade total. A fase móvel empregada na obtenção da porosidade do leito foi o tetrahidrofurano (THF 100%), conforme procedimento sugerido pelo fabricante das colunas.

O *n*-hexano e 2-propanol (grau CLAE) foram adquiridos da J. T. Baker (USA). O ácido acético e trietilamina (grau P.A.) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (USA). O THF (grau CLAE) também foi adquirido da Sigma-Aldrich (USA). Tanto as soluções quanto as fases móveis foram previamente filtradas em sistema de filtração Millipore (membranas 0,45 µm) e desgaseificadas em banho ultra-sônico da Cole Parmer 8892 simultaneamente.

3.1.5. Aparelhagem experimental

Unidade de CLAE

Os experimentos para caracterização das colunas e determinação dos parâmetros cromatográficos foram realizados utilizando um sistema de CLAE Waters modelo 1252 com duas bombas, equipado com detector UV Waters modelo 2487 que é capaz de realizar análises simultâneas em dois comprimentos de onda diferentes, controlador de temperatura, injetor manual e sistema de aquisição de dados computadorizado (software BREEZE). A Figura 3.3 apresenta o sistema de CLAE utilizado na realização dos experimentos.

O equipamento de CLAE encontra-se instalado no Laboratório de Engenharia de Bioprocessos, situado nas dependências do Departamento de Processos Biotecnológicos (DPB) da Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP.



Figura 3.3. Sistema de CLAE utilizado na realização dos experimentos.

3.2. Métodos

A Figura 3.4 mostra o diagrama esquemático da seqüência de experimentos realizados em uma única coluna. Esses experimentos foram divididos em duas etapas: a primeira etapa corresponde a experimentos com soluções diluídas, enquanto que a segunda corresponde a experimentos com soluções concentradas. As informações obtidas nesses dois conjuntos de experimentos foram úteis para o cálculo das regiões de separação, projeto de condições operacionais pelo modelo do LMV e predição de separação utilizando os modelos do LMV e do LMS.

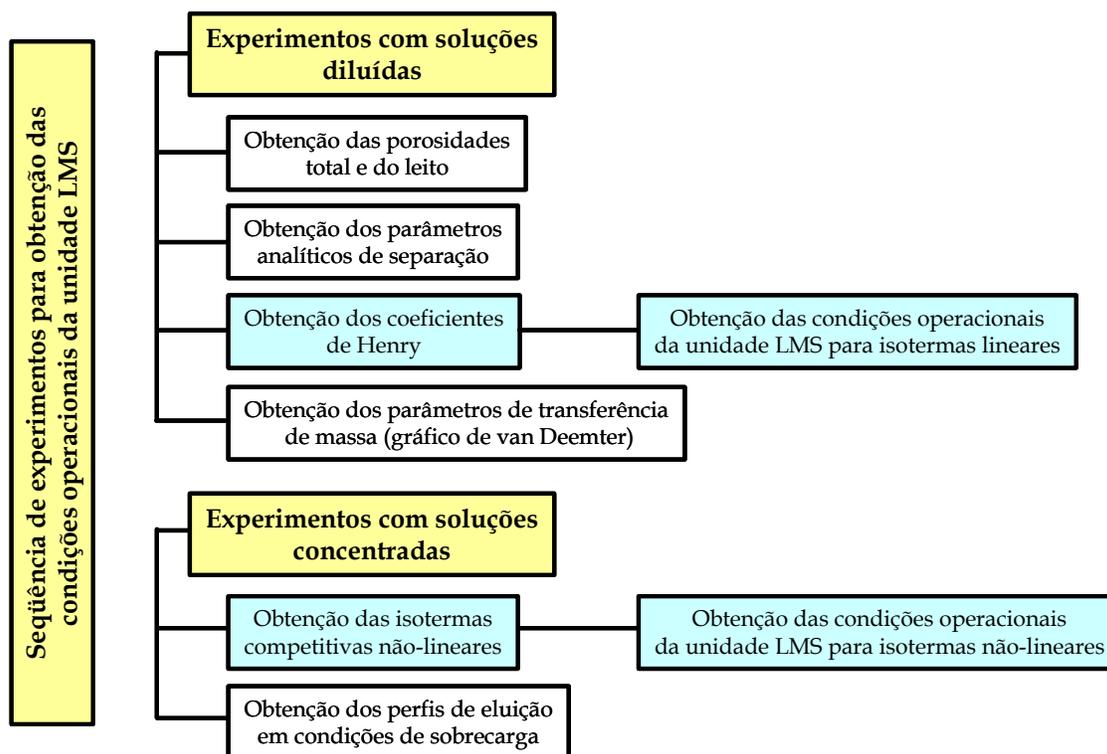


Figura 3.4. Seqüência de experimentos em uma única coluna para determinação de parâmetros utilizados para o cálculo das regiões de separação e determinação das condições operacionais pelo modelo do LMV e predição de separação utilizando os modelos do LMV e do LMS.

3.2.1. Experimentos com soluções diluídas

Inicialmente, o volume extra-coluna (V_{ext}) do sistema cromatográfico foi medido por injeção do TTBB (20 μ L) na ausência da coluna cromatográfica. O volume extra-coluna corresponde a todas as tubulações e conexões do sistema cromatográfico, na ausência da coluna, desde o injetor até o detector e contribui para o alargamento dos picos cromatográficos. O V_{ext} foi determinado pela Eq. (3.1) e o seu valor foi igual a 0,073 mL.

$$V_{ext} = t_{ext} \cdot Q \quad (3.1)$$

Na equação acima, Q é a vazão volumétrica e t_{ext} é o tempo de retenção dos pulsos introduzidos no sistema na ausência da coluna. O t_{ext} foi utilizado para correção nos experimentos posteriores, descontando-o dos tempos de retenção de cada composto (poliestireno, TTBB e enantiômeros da bupivacaína).

Os experimentos de pulsos cromatográficos com soluções diluídas do TTBB (0,5 g/L), da mistura racêmica da bupivacaína (0,5 g/L) e de seus enantiômeros puros (0,75 g/L) foram realizados variando a vazão da fase móvel (1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mL/min) e a temperatura (25, 35 e 45 °C \pm 1 °C). Nesses experimentos foi utilizado um “loop” (alça de amostragem) de 20 μ L. Essas soluções foram preparadas utilizando como solvente a própria FM. As injeções foram realizadas após um intervalo de tempo necessário para a estabilização do sistema cromatográfico com a fase móvel em modo isocrático. As respostas dos pulsos na saída da coluna foram monitoradas pelo detector UV em um comprimento de onda igual a 270 nm. Essas respostas forneceram dados suficientes para a determinação dos parâmetros analíticos de separação (fatores de retenção, fatores de separação, assimetria de picos, resolução e número de pratos), parâmetros termodinâmicos de adsorção a partir do gráfico de van't Hoff, porosidade total, constantes de equilíbrio linear (coeficientes de Henry), coeficientes de dispersão axial e parâmetros de

transferência de massa, conforme equacionamento descrito no Capítulo 2 (Seções 5.1 a 5.3).

Para determinação da porosidade do leito, a mesma metodologia foi utilizada. Pequenos pulsos cromatográficos (20 μ L) foram realizados com solução diluída (0,5 g/L) de poliestireno dissolvido em THF variando a vazão da fase móvel (1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mL/min) e à temperatura (25, 35 e 45 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C). Nesses experimentos, o THF também foi utilizado como fase móvel.

3.2.2. Experimentos com soluções concentradas

Com o intuito de avaliar a capacidade de saturação e o comportamento da eluição da mistura racêmica da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB, foram realizados experimentos a altas concentrações. Esses experimentos foram realizados de duas formas diferentes:

(1) Curvas de ruptura em um único degrau foram obtidas pela completa saturação da coluna com uma concentração conhecida da mistura racêmica. Nesse experimento a mistura é alimentada de forma contínua até a completa saturação da coluna (etapa de adsorção) e, em seguida, é realizado a eluição com a FM (etapa de dessorção). Esses resultados nos forneceram informações para obtenção das isotermas de adsorção competitiva não-lineares;

(2) Diversos pulsos cromatográficos foram obtidos variando-se a concentração e os volumes de injeção para um melhor entendimento do comportamento de eluição da coluna cromatográfica em condições de sobrecarga.

Determinação das isotermas de adsorção competitivas

Experimentos para determinação das isotermas de adsorção competitivas foram realizados pelo método dinâmico da AF em um único degrau. **Khatabi et**

al. (2000a) e Cherrak *et al.* (2000) reportaram que isotermas competitivas determinadas por curvas de rupturas em um único degrau em vez de curvas sucessivas, apesar de ser tediosa e de consumir muito tempo na realização dos experimentos, é menos propensa a erros de medidas experimentais.

As curvas de ruptura binárias em um único degrau foram obtidas a uma vazão total de alimentação igual a 2,0 mL/min. Uma bomba do equipamento de CLAE foi utilizada para impulsionar apenas a fase móvel e a segunda bomba, para impulsionar a solução contendo a mistura racêmica da bupivacaína. Inicialmente, a coluna equilibrada com a fase móvel (eluente) foi alimentada com uma quantidade da mistura de concentração conhecida, até o estabelecimento do equilíbrio (etapa de adsorção). A coluna foi então completamente dessorvida com o eluente (etapa de dessorção).

A concentração da mistura inicial foi de 10,0 g/L. A obtenção das curvas de ruptura para concentrações inferiores à concentração total da mistura foi obtida a partir da diluição dessa solução com a fase móvel, variando as frações entre as vazões das duas bombas, de forma que a vazão total permanecesse igual a 2,0 mL/min. Em todos os experimentos, apenas o enantiômero menos retido foi eluído no platô intermediário na etapa de adsorção. A sua concentração foi determinada a partir da calibração do detector UV a 270 nm. Os dados de equilíbrio foram calculados a partir dos volumes de retenção dos platôs observados na frente de adsorção para cada curva de ruptura, conforme a Eq. (2.43). Os experimentos foram realizados variando a concentração de alimentação de 1,0 a 10,0 g/L.

Determinação dos perfis de eluição em condições de sobrecarga

Experimentos de sobrecarga na coluna foram realizados com o intuito de avaliar o comportamento dos perfis de eluição em condições não-lineares. Pulsos cromatográficos com soluções concentradas da bupivacaína racêmica (1,5; 2,0 e

10,0 g/L) foram introduzidos na coluna a um volume constante de injeção igual a 20 µL. Perfis de eluição, variando-se o volume de injeção (20, 50 e 200 µL), também foram realizados a uma concentração total de alimentação igual a 10,0 g/L da mistura racêmica. Os experimentos de sobrecarga foram realizados a uma vazão de 3,0 mL/min.

3.2.3. Obtenção das regiões de separação, condições operacionais e predição de separação

Estratégia do LMV

A obtenção das regiões de separação, determinação das condições operacionais e predição de separação da unidade LMS foram realizadas pela resolução numérica do modelo do transporte dispersivo pela estratégia do LMV no estado estacionário. O modelo matemático proposto para representar o estado estacionário, inicialmente descrito na Seção 2.4.2 pelas Equações. (2.19) a (2.23), foram adimensionadas e são apresentadas abaixo:

Balanço de massa para a fase fluida:

$$\frac{1}{Pe_{i,j}} \frac{d^2 C_{i,j}}{dZ^2} - \frac{dC_{i,j}}{dZ} - \left(\frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \right) \frac{\varphi_{i,j}}{\gamma_{i,j}} (\delta_{i,j}^* - \delta_{i,j}) = 0 \quad (3.2)$$

Balanço de massa para a fase sólida:

$$\frac{\partial \delta_{i,j}}{\partial Z} + \varphi_{i,j} (\delta_{i,j}^* - \delta_{i,j}) = 0 \quad (3.3)$$

As condições de contorno são dadas por:

$$Z = 0, \left. \frac{dC_{i,j}}{dZ} \right|_{z=0} = Pe_{i,j} (C_{i,j} - C_{i,j}^0) \quad (3.4)$$

$$Z = 0, \delta_{i,j}|_{z=0} = \delta_{i,j-1}|_{z=1} \text{ e } \delta_{i,IV}|_{z=0} = \delta_{i,I}|_{z=1} \quad (3.5)$$

$$Z = 1, \left. \frac{dC_{i,j}}{dZ} \right|_{z=1} = 0 \quad (3.6)$$

Os balanços de massa nos nós, para configuração aberta, são dados por:

$$C_{i,I}^0 = 0 \text{ para o nó de dessorvente} \quad (3.7a)$$

$$C_{i,j}^0 = \frac{Q_F C_{F,i} + Q_{II} C_{i,j-1}}{Q_{III}} \text{ para o nó de alimentação} \quad (3.7b)$$

$$C_{i,j}^0|_{z=0} = C_{i,j-1}|_{z=1} \text{ para os nós de extrato e refinado} \quad (3.7c)$$

Nas Equações acima, Z é a coordenada axial adimensional ($Z = z/L$), Pe é o número de Peclet ($Pe = uL/D_L$), φ é um parâmetro adimensional chamado número de unidade de transferência de massa ($\varphi = k_m L/v_s$), C é a concentração adimensional do soluto i na fase líquida ($C = c/c_0$, em que c_0 é a concentração inicial), δ^* é a concentração adimensional do soluto i na fase sólida em equilíbrio com C ($\delta^* = q^*/c_0$, em que q_0 é a concentração inicial do soluto i no sólido) e δ é a concentração adimensional do soluto i na fase sólida ($\delta = q/c_0$).

O sistema de equações diferenciais parciais formados pelas Equações (3.2) e (3.3), juntamente com as condições de contorno e os balanços de massa descritos pelas Equações (3.4) a (3.7) foram resolvidos pelo método das linhas. O sistema de equações algébricas não-lineares resultantes foi resolvido utilizando o método de Newton, aplicando uma rotina do IMSL. A solução deste modelo matemático gerou perfis estacionários de concentração de cada substância no interior do LMV. Tais informações são fundamentais para a avaliação das influências de γ_I , γ_{II} , γ_{III} e γ_{IV} e concentração de alimentação no comportamento da produtividade, do consumo de solvente, atendendo restrições de pureza e limites físicos para as variáveis de decisão.

Estratégia do LMS

Uma vez definida as regiões de separação e as condições operacionais ótimas, o modelo do equilíbrio dispersivo foi utilizado para resolver numericamente a estratégia do LMS, com a finalidade de avaliar o comportamento transiente da unidade até o alcance do estado estacionário, bem como a comparação do desempenho de separação pelas estratégias do LMS e LMV no estado estacionário.

A escolha do MED foi baseada nos resultados obtidos previamente por **Silva Jr. et al. (2005a)**. Estes autores reportaram que a coluna Kromasil[®] CHI-TBB possui uma rápida transferência de massa com altos valores de k_m , bem como uma alta eficiência de separação para os enantiômeros da bupivacaína. Dessa forma, para altos valores de k_m o MTD tende a ter o mesmo comportamento do MED.

Como descrito na Seção 2.4.1, o MED é um modelo matemático mais simples contendo apenas um balanço de massa para a fase fluida por componente, justificando a sua utilização para representar o comportamento de separação da unidade LMS. Esse modelo, bem como suas condições iniciais e de contorno, sob a forma adimensional, são descritos pelas Equações (3.8) a (3.13).

Balanço de massa na fase fluida:

$$\frac{\partial C_{i,j}}{\partial \tau} = \frac{1}{Pe_{i,j}} \frac{\partial^2 C_{i,j}}{\partial Z^2} - \frac{\partial C_{i,j}}{\partial Z} - \left(\frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \right) (\delta_{i,j}^* - \delta_{i,j}) \quad (3.8)$$

em que τ é o tempo adimensional ($\tau = t/t^*$).

As condições iniciais são dadas por:

$$C_{i,j}(Z,0) = \delta_{i,j}(Z,0) = 0 \quad (3.9)$$

As condições de contorno são dadas por:

$$Z = 0, \left. \frac{\partial C_{i,j}}{\partial Z} \right|_{Z=0} = Pe_{i,j} (\delta_{i,j}^* - \delta_{i,j}) \quad (3.10)$$

$$Z = 0, \delta_{i,j} \Big|_{z=0} = \delta_{i,j-1} \Big|_{z=1} \text{ e } \delta_{i,IV} \Big|_{z=0} = \delta_{i,I} \Big|_{z=1} \quad (3.12)$$

$$Z = 1, \left. \frac{\partial C_{i,j}}{\partial Z} \right|_{Z=1} = 0 \quad (3.13)$$

O sistema de equações diferenciais parciais formados pelas Equações (3.4) a (3.13) juntamente com os balanços de massa dado pela Equação (3.7) foi resolvido pelo método das linhas. As equações foram discretizadas na variável axial (Z) e integradas na variável tempo (τ). Os métodos de discretização empregados neste texto correspondem ao método de volumes finitos com função de interpolação do tipo *upwind* quadrática (Barreto Jr., 2005) e função de interpolação adaptativa (Maliska, 2004). As equações algébrico-diferenciais resultantes foram integradas empregando o método *Backward Differentiation Formulae* (BDF), a partir da

utilização do pacote computacional *Dassl*. O sistema é iniciado empregando um método direto utilizando funções exponenciais de regularização, com parâmetro de regularização igual a 10^{-4} , de acordo com **Vieira e Biscaia (2001)**.

Desempenho de separação

A predição de separação da bupivacaína na unidade LMS, prevista pelos modelos do LMV e do LMS, foram avaliadas pelos parâmetros de desempenho definidos abaixo na Tabela 3.2 (**Silva Jr. et al., 2006**).

Tabela 3.2. Definição dos parâmetros de desempenho do processo LMS

Parâmetros do processo	Extrato	Refinado
Pureza (%)	$P_E = \frac{100c_B^E}{c_A^E + c_B^E}$	$P_R = \frac{100c_A^R}{c_A^R + c_B^R}$
Consumo de solvente (L/kg)	$CS_E = \frac{Q_I + Q_F - Q_{IV}}{c_B^E Q_E}$	$CS_R = \frac{Q_I + Q_F - Q_{IV}}{c_A^R Q_R}$
Produtividade (g-dia ⁻¹ /kg de FEQ)	$PR_E = \frac{Q_E c_B^E}{V_a}$	$PR_R = \frac{Q_R c_A^R}{V_a}$

Na Tabela 3.2, c_A^R e c_A^F são as concentrações de A (R-(+)-bupivacaína) no refinado e na alimentação, respectivamente; c_B^E e c_B^F são as concentrações de B (S-(-)-bupivacaína) no extrato e na alimentação, respectivamente; e V_a é o volume da fase sólida.

Os programas computacionais aplicados nessa etapa do trabalho foram desenvolvidos em Linguagem Fortran, durante o pós-doutorado do Dr. Amaro Gomes Barreto Júnior, que está diretamente ligado aos trabalhos em andamentos no grupo de pesquisa em biosseparações.

Capítulo 4

4. Resultados e discussão I

O projeto das condições operacionais da unidade LMS requer determinações precisas de parâmetros fundamentais, tais como as porosidades do leito empacotado, parâmetros de equilíbrio de adsorção e de transferência de massa. Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos na determinação dos parâmetros de projeto da unidade LMS em uma única coluna.

Experimentos com soluções diluídas

4.1. Determinação dos perfis de eluição e parâmetros analíticos de separação da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB

As Figuras 4.1 a 4.5 apresentam os perfis de eluição do poliestireno, do TTBB, da bupivacaína racêmica e dos seus enantiômeros puros, respectivamente, a uma vazão de escoamento da fase móvel igual a 3,0 mL/min e temperatura de 25 °C.

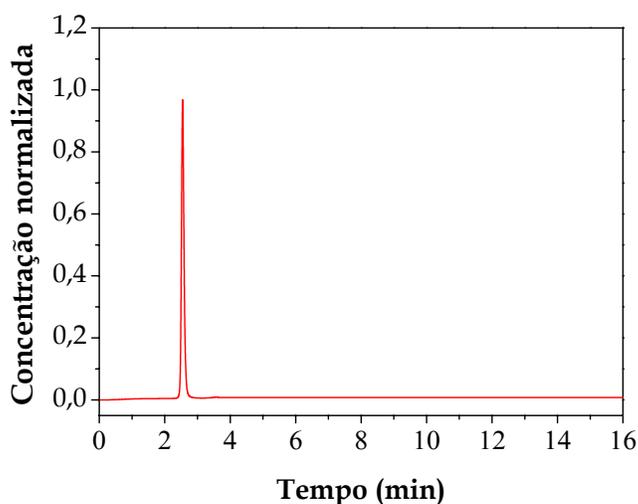


Figura 4.1. Cromatograma do poliestireno. Condições experimentais: fase móvel THF 100%; concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão: 3,0 mL/min; temperatura: 25 °C; volume de injeção: 20 μ L.

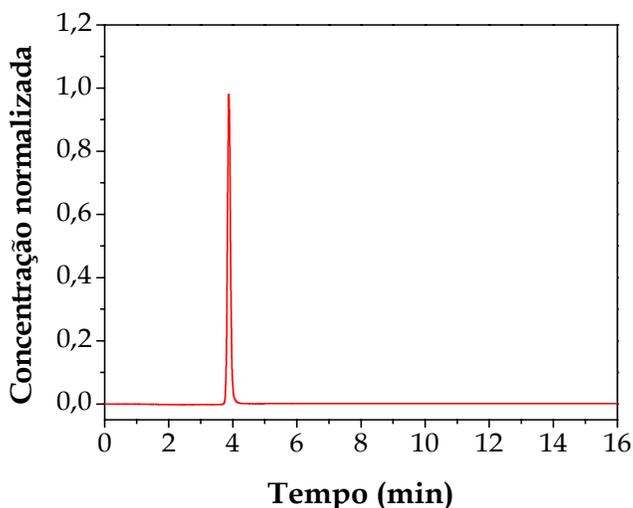


Figura 4.2. Cromatograma do TTBB. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25 °C; volume de injeção: 20 μ L.

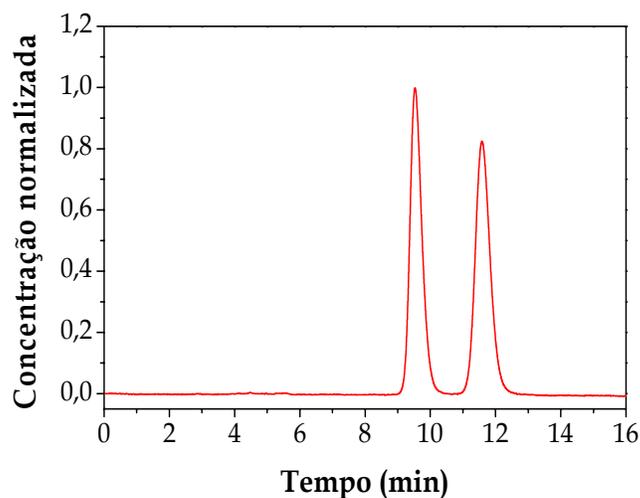


Figura 4.3. Cromatograma da bupivacaína racêmica. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25 °C; volume de injeção: 20 μ L.

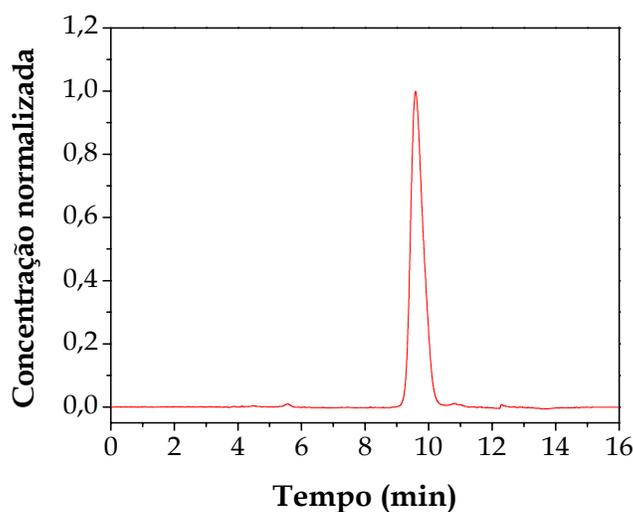


Figura 4.4. Cromatograma da R-(+)-bupivacaína. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,75 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25 °C; volume de injeção: 20 μ L.

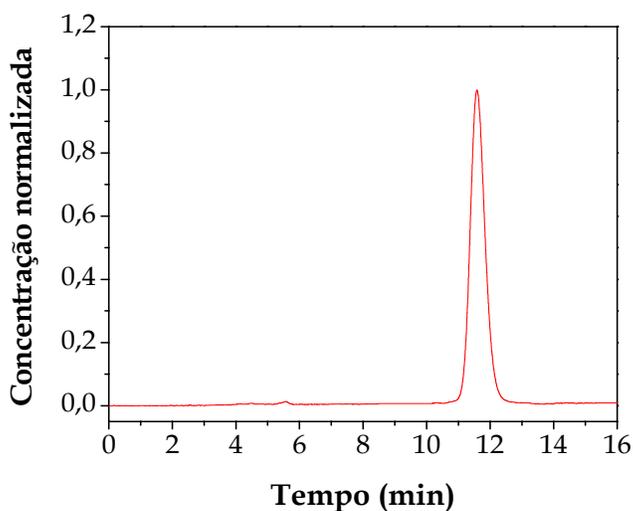


Figura 4.5. Cromatograma da *S*-(-)-bupivacaína. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,75 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; temperatura: 25 °C; volume de injeção: 20 µL.

Os cromatogramas do poliestireno e do TTBB, apresentados nas Figuras 4.1 e 4.2, possuem pequenas larguras de base e tempos de retenção relativamente curtos. Esse é um comportamento esperado, pois tanto o poliestireno quanto o TTBB, por serem componentes inertes, não sofrem nenhum tipo de interação com a coluna e as resistências à transferência de massa são desprezíveis, o que reduz os seus tempos de residência na coluna e também o alargamento dos cromatogramas. Nos cromatogramas da bupivacaína (Figura 4.3), pode-se observar uma completa separação dos seus enantiômeros ocorrendo até a linha de base. As diferentes interações estéricas existentes entre os enantiômeros da bupivacaína e a FEQ resultam em mecanismos de retenção que promovem a sua separação. Devido aos diferentes processos de transferência de massa que ocorrem externa e internamente as partículas desta FEQ, os enantiômeros apresentam picos mais alargados, se comparados com os perfis do poliestireno e do TTBB, porém com larguras de base

relativamente pequenas. Esse comportamento indica que a eficiência da coluna é alta e que a transferência de massa deve ser rápida. Os cromatogramas dos enantiômeros puros mostrados nas Figuras 4.4 e 4.5 apresentam comportamentos semelhantes aos perfis da bupivacaína racêmica, no que diz respeito à largura dos picos e aos tempos de retenção.

A Figura 4.6 apresenta os cromatogramas da bupivacaína a 25, 35 e 45 °C, para a vazão de 3,0 mL/min. Nota-se que, com o aumento da temperatura há uma diminuição nos tempos de retenção e a separação continua acontecendo até linha de base. Entretanto, há uma aproximação dos picos, principalmente para as temperaturas mais elevadas. Pode-se ainda observar que, com o aumento da temperatura, há um menor alargamento dos picos.

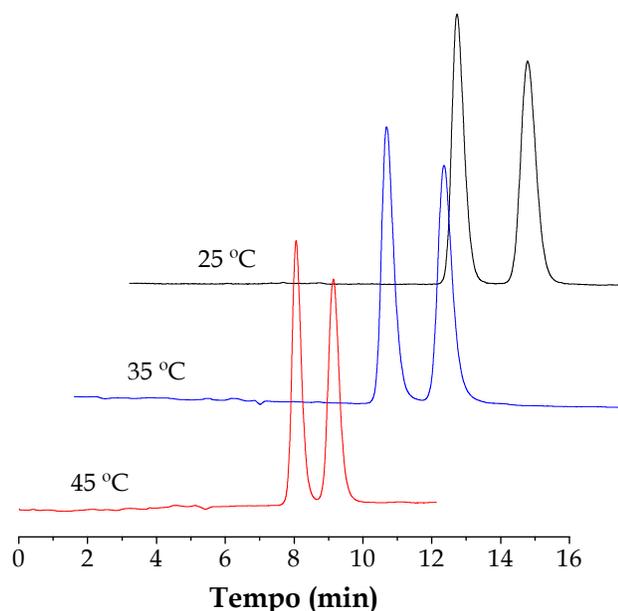


Figura 4.6. Cromatogramas da bupivacaína racêmica as temperaturas de 25, 35 e 45 °C. Condições experimentais: fase móvel *n*-hexano/2-propanol/ácido acético/trietilamina (98/2/0,3/0,05 v/v); concentração total de alimentação: 0,5 g/L; vazão da fase móvel: 3,0 mL/min; volume de injeção: 20 µL.

A Tabela 4.1 apresenta os parâmetros analíticos de separação da bupivacaína na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB, para cada vazão e temperatura empregadas nos experimentos de pulsos cromatográficos. Os valores de k foram maiores que 1,0 para ambos enantiômeros dentro da faixa de vazão e temperatura estudadas. Esses valores diminuíram com o aumento da temperatura. Como conseqüência, os valores de α , embora tenham permanecido praticamente constantes com o aumento da vazão, também diminuíram com o aumento da temperatura. **Okamoto e Kaida (1994)** reportaram que, em muitos casos separações cromatográficas com FEQ baseadas em polissacarídeos, a completa separação dos enantiômeros só será alcançada se α for maior que 1,20. Para a FEQ utilizada neste trabalho, a qual não é baseada em um polissacarídeo, os valores de α obtidos foram superiores a 1,25. Os valores de A_s diminuíram com o aumento da vazão e da temperatura para ambos os enantiômeros. Entretanto, em todos os casos, a *S*-(+)-bupivacaína apresentou menores valores de A_s . De acordo com esses resultados, nós podemos afirmar que, de um modo geral, os valores variaram dentro de uma faixa aceitável pela **USP 27**.

Apenas o fator de separação não é adequado para descrever a separação de enantiômeros, pois esse parâmetro não inclui informações a cerca da largura dos picos. A R_s , por sua vez, é um parâmetro que relaciona os tempos de retenção e largura de base dos picos de eluição e fornece informações suficientes para avaliar a qualidade da separação. O efeito da vazão e temperatura para a R_s é mostrado na Figura 4.7. Nota-se que, para cada temperatura estudada, o aumento da vazão acarretou uma redução nos tempos de residência no interior do leito empacotado e as moléculas dos enantiômeros tiveram menos tempo para interagir com a FEQ, reduzindo assim o valor de R_s . Dentro da faixa de temperatura e vazões empregada na realização dos experimentos, a R_s atingiu seu valor máximo na vazão de 1,0 mL/min e temperatura de 25 °C. Separações cromatográficas por linha de base são atingidas quando valores de R_s são iguais ou superiores a 1,5. No presente trabalho os valores de R_s estavam entre 1,76 a 3,50. A diminuição dos valores de R_s com o aumento da temperatura é devido à aproximação entre os

picos de eluição, uma vez que houve uma redução na largura de base com valores de assimetria menores em temperaturas mais elevadas.

Tabela 4.1. Parâmetros analíticos de separação da bupivacaína na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB a diferentes vazões e temperaturas

Temperatura de 25 °C					
Q (mL/min)	k_R	k_S	α	As_R	As_S
1,0	1,58	2,20	1,39	1,68	1,46
2,0	1,58	2,17	1,38	1,51	1,34
3,0	1,64	2,23	1,36	1,35	1,22
4,0	1,53	2,11	1,38	1,14	1,16
Temperatura de 35 °C					
Q (mL/min)	k_R	k_S	α	As_R	As_S
1,0	1,32	1,72	1,31	1,55	1,32
2,0	1,34	1,76	1,32	1,41	1,26
3,0	1,37	1,81	1,32	1,28	1,21
4,0	1,39	1,83	1,32	1,15	1,14
Temperatura de 45 °C					
Q (mL/min)	k_R	k_S	α	As_R	As_S
1,0	1,08	1,35	1,25	1,42	1,17
2,0	1,10	1,37	1,25	1,31	1,18
3,0	1,12	1,41	1,26	1,21	1,2
4,0	1,14	1,44	1,26	1,15	1,13

Os sub-índices *R* e *S* indicam os enantiômeros menos e mais retido, respectivamente.

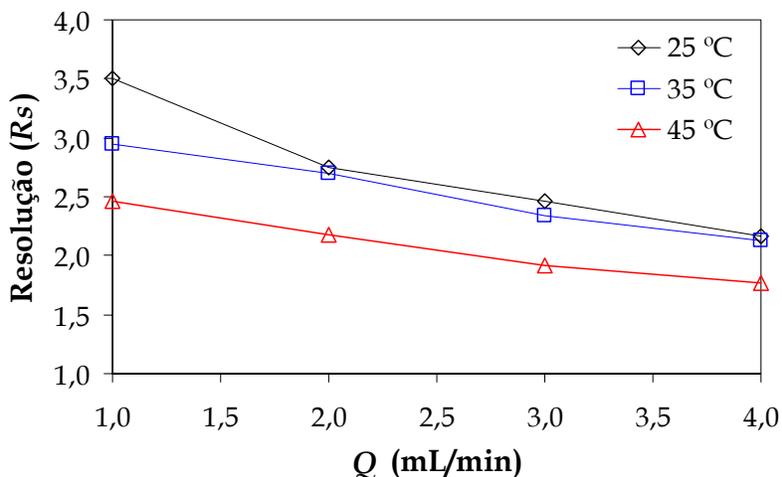


Figura 4.7. Efeito da vazão e temperatura na resolução dos enantiômeros da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB.

4.2. Análise termodinâmica e determinação do mecanismo de retenção da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB

Obviamente, a mudança na temperatura influencia, diferentemente, as interações dos enantiômeros da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB. Os resultados apresentados na Seção 4.1 mostraram que houve um decréscimo nos valores de k , α e R_s com o aumento da temperatura. O estudo da variação de $\ln k$ e $\ln \alpha$ versus $1/T$ (Figura 4.8), de acordo com a equação de van't Hoff, mostrou uma dependência linear. Esse resultado indica que o mecanismo de reconhecimento quiral não varia dentro da faixa de temperatura utilizada nos experimentos. O caráter linear associado ao decréscimo dos valores de $\ln k$ e $\ln \alpha$ versus $1/T$ é um indicativo de que os parâmetros termodinâmicos são independentes da temperatura e também que a separação é controlada por efeitos entálpicos.

Os parâmetros termodinâmicos (Tabela 4.2) foram determinados a partir da inclinação e da interseção das retas obtidas. Os valores negativos de ΔH^0 indicam que é energeticamente mais favorável para os enantiômeros da bupivacaína

estarem presentes na FEQ. Valores negativos de ΔS^* também indicam um aumento na desordem do sistema cromatográfico (FEQ/FM/enantiômeros), com os enantiômeros sendo transferidos da fase móvel para a FEQ. Os parâmetros ΔH^0 , ΔS^* , $\Delta\Delta H^0$ e $\Delta\Delta S^0$ são todos negativos, indicando realmente que há transferência do soluto da FM para a FEQ.

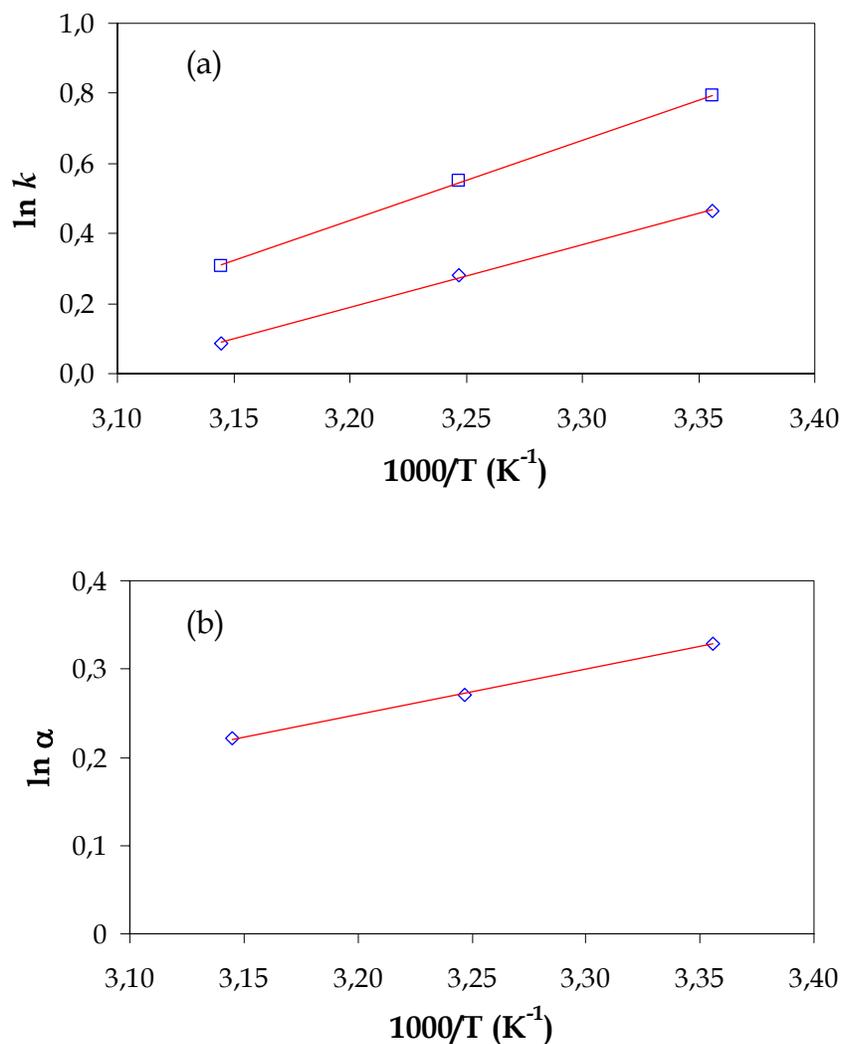


Figura 4.8. Gráficos de van't Hoff para a bupivacaína: (a) $\ln k$ versus $1/T$ para (□) S-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9997$ e (◇) R-(+)-bupivacaína com $R^2 = 0,9989$; (b) $\ln \alpha$ versus $1/T$ com $R^2 = 0,9929$.

Tabela 4.2. Parâmetros termodinâmicos da separação dos enantiômeros da bupivacaína na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB

Parâmetros termodinâmicos	R-(+)-bupivacaína	S-(-)-bupivacaína
ΔH^0 ^a (kJ mol ⁻¹)	-14,82	-19,07
ΔS^* ^b (J ·K mol ⁻¹)	-45,88	-57,42
$\Delta\Delta H^0$ ^c (kJ mol ⁻¹)		-4,25
$\Delta\Delta S^0$ ^d (J ·K mol ⁻¹)		-11,54
T_{iso} ^e (K)		368,63

^a Parâmetro obtido a partir da inclinação do gráfico $\ln k$ versus $1/T$; ^b Parâmetro obtido a partir da interseção do gráfico $\ln k$ versus $1/T$; ^c Parâmetro obtido a partir da inclinação do gráfico $\ln \alpha$ versus $1/T$; ^d Parâmetro obtido a partir da interseção do gráfico $\ln \alpha$ versus $1/T$; ^e Calculado da $T_{iso} = \Delta\Delta H^0 / \Delta\Delta S^0$

Como mostrado na Tabela 4.1, os valores de α decrescem visivelmente com o aumento da temperatura da coluna. Esse fato está associado ao alto valor de $-\Delta\Delta H^0$. O valor de $-\Delta H^0$ para o enantiômero mais retido, obviamente, é mais alto que para o enantiômero menos retido, confirmando a conclusão de que a S-(-)-bupivacaína possui interações mais fortes com a FEQ que a R-(+)-bupivacaína.

O valor calculado da T_{iso} foi 95,48 °C (368,63 K). Como explicado na Seção 3.2.1, a T_{iso} define a temperatura na qual os termos entálpicos e entrópicos são balanceados e $\alpha = 1$ ($\Delta\Delta G^0 = 0$), ou seja, não há separação. Para a faixa de temperatura utilizada no presente trabalho, o sistema é controlado por efeitos entálpicos, pois $T < T_{iso}$. Isso significa que a ordem de eluição dos enantiômeros foi mantida em todos os experimentos.

Löwendahl e Allenmark (1997) estudaram a separação cromatográfica de sulfoxiamidas cíclicas e seus precursores em coluna quiral Kromasil® CHI-TBB. Esses autores afirmaram que o poder de discriminação quiral desta FEQ é principalmente devido à ligações de hidrogênio. **Skogsberg (2001)** também

reportou que a retenção e seletividade na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB podem ser atribuídas principalmente às múltiplas ligações de hidrogênio, porém interações estéricas e π - π também estão presentes.

Recentemente, **Weng *et al.* (2005a)** estudaram a influência da composição da FM nos parâmetros termodinâmicos na separação de quatro compostos derivados de aminoácidos e de dois compostos derivados do binaftil, utilizando uma FEQ baseada em tartardiamida (Kromasil® CHI-DMB). Estes autores concluíram que, para diferentes solutos ou diferentes condições cromatográficas, o mecanismo de reconhecimento quiral deve ser diferente, mesmo que uma coluna idêntica seja utilizada. Para dois dos compostos derivados de aminoácidos, os quais possuem grupamento -NHCOPh, foi observado melhor enantiosseletividade que os outros dois compostos que possuem grupamento -NHCOCH₃. Os derivados de aminoácidos com grupamento -NHCOPh possuíam valores mais negativos de $-\Delta\Delta H^0$ e $-\Delta\Delta S^0$ que os outros compostos com grupamento -NHCOCH₃. Esses compostos com grupamento -NHCOPh possuíam valores absolutos em torno de 4,4 KJ/mol e foi assumido que a discriminação quiral é resultante de fortes ligações de hidrogênio ou de interações π - π para o enantiômero mais retido. Comparando esse resultado apresentado por **Weng *et al.* (2005a)** com o mostrado na Tabela 4.2, os valores são bem próximos. É importante observar que as classes de compostos são diferentes e os seletores quirais da fase estacionária também o são.

As interações estereoeletrônicas entre os enantiômeros da bupivacaína, a FEQ Kromasil® CHI-TBB, e a fase móvel produzem estados de transição diastereoisoméricos com diferentes energias, proporcionando assim diferentes velocidades de migração conferindo diferentes tempos de retenção a cada isômero. A presença de grupos aromáticos, carbonilas e hidrogênios ligados a heteroátomos eletronegativos como N e O na estrutura molecular da bupivacaína favorece uma maior interação do tipo π - π e ligações de hidrogênio.

4.3. Determinação da porosidade total, do leito, das partículas e dos coeficientes de Henry

Experimentos de pulsos cromatográficos com componentes inertes são úteis para a estimativa do volume de vazios na coluna e, conseqüentemente, para a determinação das porosidades do leito empacotado. A porosidade total (ε_T) de uma coluna inclui a porosidade da partícula (ε_p) e a porosidade do leito (ε), conforme a equação abaixo, conforme citado por **Wankat, 1994**:

$$\varepsilon_T = \varepsilon + (1 - \varepsilon)\varepsilon_p \quad (4.1)$$

Neste trabalho, ε_T e ε da coluna Kromasil® CHI-TBB foram determinados a partir de experimentos de pulsos cromatográficos com o TTBB e com o poliestireno, respectivamente, conforme equações descritas abaixo:

$$\varepsilon_T = \frac{t_{M,TTBB}Q}{V_c} \quad (4.2a)$$

$$\varepsilon = \frac{t_{M,\text{poliestireno}}Q}{V_c} \quad (4.2b)$$

Os valores de ε_T e ε mantiveram-se constantes e não variaram com o aumento da vazão e temperatura. Os valores obtidos foram $\varepsilon_T = 0,58$ e $\varepsilon = 0,38$. O valor de ε_p foi calculado a partir da Eq. (4.1) e o seu valor foi 0,32.

O valor de $\varepsilon = 0,38$, obtido a partir de experimentos de pulsos cromatográficos com o poliestireno, é cerca de 37% maior que o valor reportado por **Silva Jr. et al. (2005a)**. Esses autores utilizaram a correlação $\varepsilon_T = 0,45 + 0,55\varepsilon$, inicialmente proposta por **Ruthven (1984)**, para estimativa dos valores de ε . Essa correlação tem sido utilizada satisfatoriamente por diversos outros autores (**Duan et al., 1998**;

Wang e Ching, 2002; Silva Jr. *et al.*, 2005b; Silva Jr. *et al.*, 2005c). Recentemente, Silva Jr. *et al.* (2005b) compararam os valores de ε obtidos por experimentos de pulsos com traçador que não penetra nos poros e por essa correlação, para colunas empacotadas com MCTA. Os resultados apresentados por esses autores foram bastante próximos e em concordância com valores reportados na literatura. Entretanto, devido a discrepância entre os resultados de ε apresentados para a coluna Kromasil® CHI-TBB, essa correlação não foi satisfatória para estimar ε e os valores obtidos experimentalmente foram utilizados nos cálculos seguintes.

Os coeficientes de Henry (H) foram determinados por experimentos de pulsos cromatográficos com soluções diluídas da mistura racêmica da bupivacaína. Francotte *et al.* (1998) e Böcker *et al.* (2002) reportaram que os coeficientes de Henry podem ser determinados a partir de experimentos de pulsos com a própria mistura racêmica, desde que sejam empregadas soluções diluídas. Sob condições de diluição infinita os efeitos competitivos são desprezíveis.

Neste trabalho, os valores de H para os enantiômeros da bupivacaína foram determinados a partir dos tempos de retenção de cada enantiômero da bupivacaína, de acordo com a Eq. (2.37). Os resultados são mostrados na Tabela 4.3. Em todos os casos, os valores de H foram maiores que 1 sendo que a coluna quiral apresentou uma maior afinidade para a *S*-(-)-bupivacaína, conforme mencionado na Seção 4.2.

Tabela 4.3. Coeficientes de Henry para os enantiômeros da bupivacaína as temperaturas de 25, 35 e 45 °C

Temperatura (°C)	H_R	H_S
25	2,22±0,01	3,14±0,02
35	1,89±0,01	2,48±0,02
45	1,52±0,01	1,90±0,01

Os subíndices *S* e *R* correspondem a *S*-(-)-bupivacaína e *R*-(+)-bupivacaína

Os intervalos paramétricos para os valores de H são diferentes para cada enantiômero em cada temperatura (Tabela 4.3). Isto mostra seguramente que a temperatura influencia a adsorção dos enantiômeros da bupivacaína na FEQ Kromasil® CHI-TBB, de forma que o aumento da temperatura provoca decréscimo dos valores de H , mostrando que o fenômeno de adsorção é exotérmico, como já bastante discutido na literatura (Ruthven, 1984). Foi ainda possível observar que tais decréscimos são diferentes para cada enantiômero, fato exibido pelos valores de fator de separação em cada temperatura (Tabela 4.1); α diminui com o aumento da temperatura, mostrando que a retenção de um dos enantiômeros é mais influenciada pela temperatura que a do outro, provavelmente devido a diminuição das múltiplas ligações de hidrogênio, as interações estéricas e π - π , conforme mostrado na Seção anterior.

4.4. Determinação dos parâmetros de transferência de massa

A Tabela 4.4 apresenta os valores de N para os enantiômeros da bupivacaína às temperaturas de 25, 35 e 45 °C, calculados a partir da largura da base dos picos de eluição à meia altura. Como esperado, os valores de N diminuíram com o aumento da vazão, porém aumentaram com a elevação da temperatura. O TTBB, por ser um composto inerte, não sofre interações com a FEQ e possui elevados valores de N . Dentro da faixa de temperatura e vazão empregada na realização dos experimentos, os valores de N encontrados nos experimentos com o TTBB excederam 12000 pratos.

Os altos valores de N são um indicativo de que a eficiência de separação dos enantiômeros da bupivacaína na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB é elevada. Um prato equivale a um estágio de equilíbrio entre o soluto e a FEQ e a FM. Com a elevação da temperatura mais estágios de equilíbrio acontecem, aumentando assim a eficiência de separação.

Tabela 4.4. Número de pratos para os enantiômeros da bupivacaína a diferentes vazões e temperaturas na coluna Kromasil® CHI-TBB

Q (mL/min)	25 °C		35 °C		45 °C	
	N_R	N_S	N_R	N_S	N_R	N_S
1,0	5499	4570	6525	5419	7551	6269
2,0	3538	2581	4540	3762	5541	4943
3,0	2622	2021	3321	2869	4019	3717
4,0	2086	1782	2530	2232	2973	2682

As Figuras 4.9 a 4.11 apresentam os gráficos de van Deemter para o TTBB e para os enantiômeros da bupivacaína as temperaturas de 25, 35 e 45 °C.

Os gráficos de van Deemter para o TTBB mostraram uma relação linear com pouca variação dos valores de H versus u , ou seja, a inclinação é praticamente desprezível, podendo ser considerado independente de u . Como comentado anteriormente, o TTBB não adsorve na FEQ e penetra rapidamente nos poros das partículas. Isso significa que o coeficiente de transferência de massa global (k_m) possui uma alta ordem de magnitude e que as resistências à transferência de massa são praticamente desprezíveis, não contribuindo para o alargamento dos picos, como observado na Seção 4.1. Pode-se ainda observar nas Figuras (4.9) a (4.11) que não há diferenças nas inclinações das retas obtidas com o aumento da temperatura. De acordo com a Eq. (2.37), a posição do pico de eluição está relacionada com as constantes de equilíbrio de adsorção, representados por H . O fato dos tempos de retenção não sofrerem redução com o aumento da temperatura é mais um indicativo de que essas substâncias realmente não sofrem interações com os seletores quirais da FEQ.

Os gráficos de van Deemter para os enantiômeros da bupivacaína também apresentaram uma dependência linear entre H versus u . De acordo com a Eq. (2.38),

k_m e D_L foram obtidos a partir da inclinação e da interseção das retas nos gráficos de van Deemter, respectivamente. Esses resultados são apresentados na Tabela 4.5.

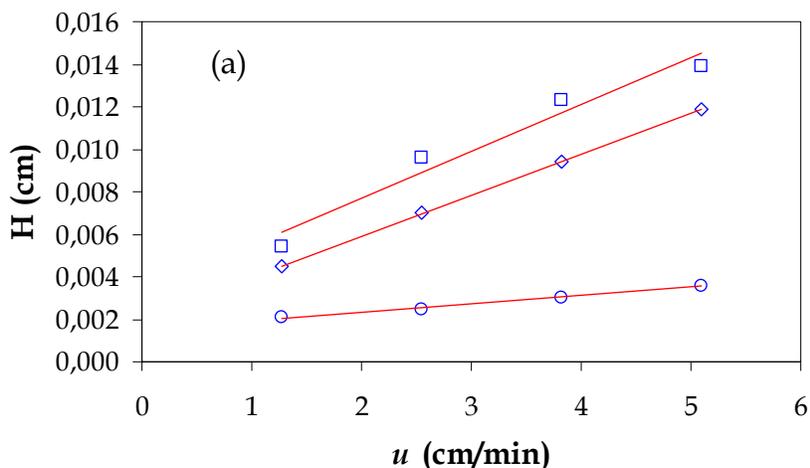


Figura 4.9. Gráfico de van Deemter para o TTBB e para os enantiômeros da bupivacaína a 25 °C: (○) TTBB com $R^2 = 0,9946$; (□) R-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9999$; (◇) S-(-)- bupivacaína com $R^2 = 0,9603$.

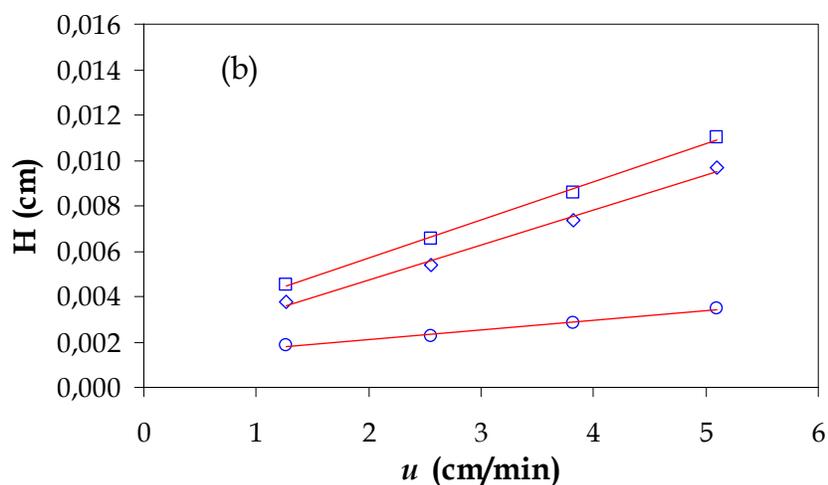


Figura 4.10. Gráfico de van Deemter para os enantiômeros da bupivacaína a 35 °C: (○) TTBB com $R^2 = 0,9855$; (□) R-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9965$; (◇) S-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9983$.

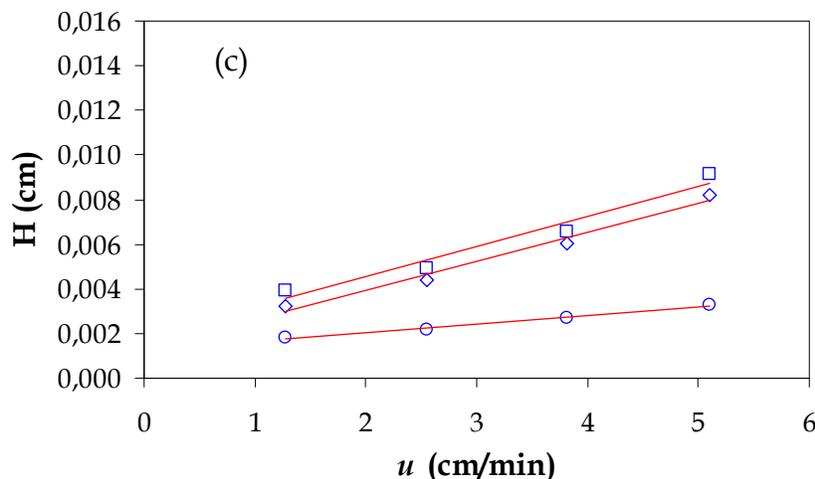


Figura 4.11. Gráfico de van Deemter para os enantiômeros da bupivacaína a 45 °C: (○) TTBB com $R^2 = 0,9793$; (□) R-(+)-bupivacaína com $R^2 = 0,9827$; (◇) S-(-)-bupivacaína com $R^2 = 0,9623$.

Tabela 4.5. Coeficientes de dispersão axial e parâmetros de transferência de massa para os enantiômeros da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB para as temperaturas de 25, 35 e 45 °C

Temperatura de 25 °C		
	R-(+)-bupivacaína	S-(-)-bupivacaína
D_L (cm ² /min)	(0,0011±0,0002) u	(0,0016±0,0006) u
k_m (min ⁻¹)	199±7	150±10
Temperatura de 35 °C		
	R-(+)-bupivacaína	S-(-)-bupivacaína
D_L (cm ² /min)	(0,0010±0,0003) u	(0,0012±0,0002) u
k_m (min ⁻¹)	250±10	210±10
Temperatura de 45 °C		
	R-(+)-bupivacaína	S-(-)-bupivacaína
D_L (cm ² /min)	(0,0006±0,0004) u	(0,0007±0,0007) u
k_m (min ⁻¹)	330±30	290±40

Os valores de D_L para o TTBB praticamente não variaram com a temperatura e o seu valor foi igual a $0,00075u$. Os valores de D_L estimados para os enantiômeros em cada temperatura apresentaram intervalos paramétricos coincidentes em todos os casos, mostrando que não há distinção entre os mecanismos de dispersão sofridos por cada uma das substâncias na direção axial. No entanto, há uma baixa precisão dos valores de D_L com intervalos paramétricos na mesma ordem de grandeza dos parâmetros estimados. Os valores estimados de k_m também apresentaram intervalos paramétricos coincidentes, porém com uma ordem de grandeza menor que os valores dos parâmetros. A baixa precisão dos valores de D_L e k_m exibida pelos grandes intervalos estimados (Tabela 4.5) mostra que, nas condições experimentais realizadas, o modelo matemático da H apresenta baixa sensibilidade para estimativa desses parâmetros.

Para o caso da estimativa dos valores de k_m , a baixa precisão é devido à baixa resistência à transferência de massa imposta, provavelmente, pelos mecanismos de difusão intrapartícula. Por isto, a análise dos intervalos de confiança dos valores de k_m não permite a discriminação entre tais intervalos estimados para cada enantiômero em diferentes temperaturas, dificultando a avaliação da influência da temperatura neste parâmetro. Entretanto, os valores absolutos estimados de k_m apresentam um padrão sistemático em relação à temperatura e em relação aos enantiômeros, de forma que o k_m para o *R*-enantiômero é maior que o k_m para o *S*-enantiômero em todas as temperaturas. Além disto, os valores de k_m de ambos aumentam com o aumento da temperatura, sugerindo que a resistência à transferência de massa diminui com o aumento de temperatura, fato que pode ser explicado pelo decréscimo da viscosidade da fase móvel, aumentando a mobilidade do soluto no interior dos poros.

Os valores de k_m para os enantiômeros da bupivacaína nessa FEQ apresentaram valores elevados quando comparados com valores estimados para outras substâncias, por exemplo, os enantiômeros do omeprazol (Rosa, 2005). De acordo com a magnitude dos valores estimados e com a forma dos picos (Figura

4.6), podemos concluir que os fenômenos convectivos são dominantes na coluna em que há uma baixa resistência à transferência de massa.

A inclinação da curva da H em relação a u é função de k_m e H , de acordo com a Eq. (2.38). Entretanto, diante dos fatos observados, neste caso, a influência da temperatura na inclinação de H em relação a u está claramente associada às variações de H para cada enantiômero em cada temperatura. Diante disto, conclui-se que a alta eficiência de separação dos enantiômeros da bupivacaína observada na coluna quiral, com valores de H relativamente baixos, deve-se provavelmente à baixa resistência à transferência de massa no interior das partículas e as interações sofridas entre os enantiômeros e os seletores quirais da FEQ que refletem diretamente nos valores de H .

Experimentos com soluções concentradas

4.5. Determinação das isotermas competitivas de adsorção

As curvas de ruptura binárias em um único degrau (AF em um único degrau) foram obtidas em diferentes concentrações de alimentação com o intuito de se determinar as isotermas de adsorção competitivas para os enantiômeros da bupivacaína. A Figura 4.12 apresenta a curva de ruptura binária para uma concentração total de alimentação igual a 6,0 g/L.

Analisando a Figura 4.12, podemos observar que há um rápido deslocamento, praticamente sem inclinação, até a formação do platô intermediário. Esse comportamento é devido ao baixo efeito dispersivo apresentado pela coluna quiral. Durante a formação deste platô intermediário, apenas o enantiômero menos retido foi eluído. Antes da completa saturação da coluna (antes de atingir o estado de equilíbrio), há um novo deslocamento com uma inclinação significativa. Esse comportamento provavelmente é devido a eluição tanto do enantiômero mais retido quanto do enantiômero menos retido, remanescente na coluna. Na etapa de

dessorção também foi observada a formação de um platô intermediário correspondente ao enantiômero mais retido. Este comportamento foi observado para todos os experimentos realizados com as diferentes concentrações estudadas, porém com platô intermediário mais visível a baixas concentrações.

Com relação às dificuldades de observação dos platôs intermediários, **Mihlbachler et al. (2002b)** reportaram comportamento semelhante na determinação das isothermas competitivas dos enantiômeros da base de Tröger em uma coluna quiral Chiralpak AD. Esses autores afirmaram que esse comportamento é devido à alta eficiência de separação da coluna.

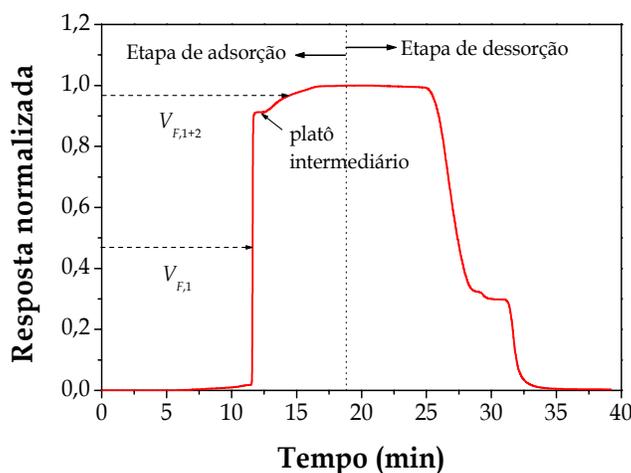


Figura 4.12. Curva de ruptura da bupivacaína racêmica a uma concentração total de alimentação igual a 6,0 g/L e vazão igual a 2,0 mL/min.

As quantidades de cada enantiômero adsorvidos na fase sólida (q^*) foram calculadas pela Eq. (2.43), a partir dos volumes de retenção dos platôs observados nas duas frentes de adsorção, e são mostrados na Figura 4.13. As isothermas de adsorção competitivas obtidas por AF em um único degrau possuem formato com uma região inicial linear para baixas concentrações, seguindo um comportamento de adsorção de acordo com a Lei de Henry. Com o aumento da concentração de

alimentação, a inclinação da isoterma decresceu, assumindo um comportamento não-linear. Como reportado por **Guiochon *et al.* (1994)**, esse comportamento é devido ao decréscimo da quantidade adsorvida do enantiômero menos retido em equilíbrio com a solução e o aumento da concentração do enantiômero mais retido. A área superficial do adsorvente capaz de acomodar os enantiômeros na camada de adsorção é limitada e o número total de moléculas que podem ser acomodadas são finitas. Então, com o aumento da concentração, as moléculas competem pelo acesso aos sítios de adsorção e as mais fortemente adsorvidas tendem a excluir as mais fracamente adsorvidas. Esse fenômeno determina o caráter competitivo do sistema.

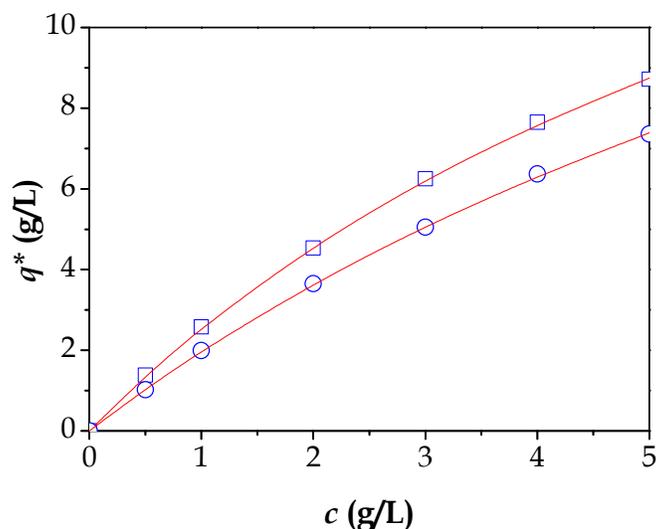


Figura 4.13. Isotermas de adsorção competitivas da bupivacaína obtidas por experimentos de análise frontal em um único degrau a vazão de 2,0 mL/min e 25 °C: (□) S-(-)-bupivacaína e (○) R-(+)-bupivacaína. Dados experimentais ajustados ao modelo de Langmuir competitivo.

Os parâmetros competitivos do modelo de Langmuir foram estimados por um ajuste não-linear do software ORIGIN 6.0 (Microcal Software). Os volumes de

retenção foram obtidos a partir da meia altura dos dois platôs. Os melhores resultados dos ajustes são mostrados nas Eqs. (4.3) e (4.4):

$$q_R^* = \frac{2,17c_R}{1 + 0,0466c_R + 0,0553c_S} \quad (4.3)$$

$$q_S^* = \frac{2,90c_S}{1 + 0,0466c_R + 0,0553c_S} \quad (4.4)$$

Os valores de H obtidos pelo ajuste do modelo de Langmuir competitivo estão em concordância com os valores obtidos por experimentos de pulsos para ambos enantiômeros, como mostrado na Tabela 4.3. O erro absoluto foi em torno de 2,25% para R -(+)-bupivacaína e de 7,64% para S -(-)-bupivacaína. A capacidade de saturação (q_s) para a R -(+)-bupivacaína foi igual a 46,50 g/L enquanto que para a S -(-)-bupivacaína foi 52,39 g/L. Segundo **Francotte (2001)**, esses valores, apesar de relativamente altos, são considerados valores intermediários quando comparados com as FEQ disponíveis comercialmente e apresentam valores inferiores aos reportados para FEQ baseadas em polissacarídeos.

O gráfico de Scatchard (q^*/c versus q^*) para os dados de adsorção competitiva é mostrado na Fig. 4.14. Os símbolos representam os dados experimentais e esses exibem uma relação linear. Como reportado por **Guiochon et al. (1994)**, **Khattabi et al. (2000)** e **Cherrak et al. (2000)**, esse comportamento demonstra que o modelo de Langmuir competitivo descreve adequadamente os dados de equilíbrio de adsorção para os dois enantiômeros da bupivacaína na coluna quiral Kromasil® CHI-TBB.

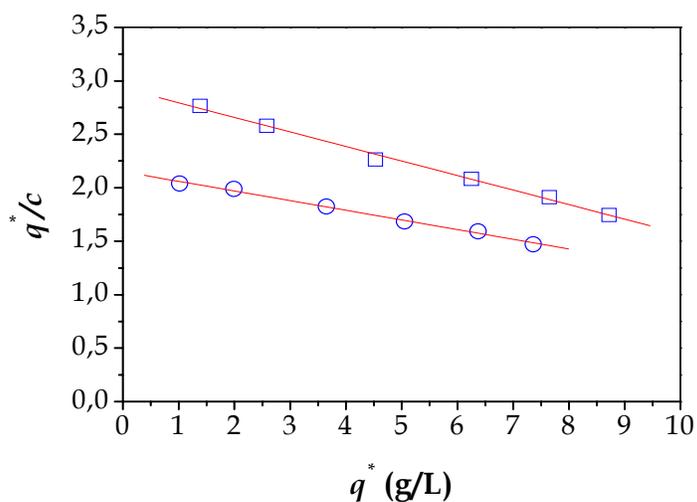


Figure 4.14. Gráfico de Scatchard para os dados experimentais de adsorção dos enantiômeros da bupivacaína obtidos por análise frontal: (□) R-(+)-bupivacaína e (○) S-(-)-bupivacaína.

4.6. Perfis de eluição em condições de sobrecarga

Com a finalidade de avaliar o desempenho de separação dos enantiômeros da bupivacaína em condições de sobrecarga na coluna quiral, foram realizadas análises cromatográficas com a mistura racêmica. A Fig. 4.15 apresenta os cromatogramas para três injeções consecutivas com concentrações diferentes (1,5; 2,0 e 10,0 g/L) e volume de injeção constante (20 μ L). A Fig. 4.16 apresenta os cromatogramas para três injeções consecutivas com diferentes volumes de injeção (20, 50 e 200 μ L) à concentração de 10,0 g/L.

Na Fig. 4.15, foi possível observar um decréscimo nos tempos de retenção, com o aumento da concentração de injeção. Apesar do aumento na assimetria dos perfis de eluição (efeito de cauda nos perfis de eluição), a separação continua ocorrendo até a linha de base. Na Fig. 4.16, os cromatogramas apresentam comportamento similar aos cromatogramas mostrados na Fig. 4.15. Entretanto, o decréscimo nos tempos de retenção e a assimetria dos picos foram mais

acentuados. Esse resultado já era esperado, pois com o aumento no volume de injeção há uma maior quantidade de moléculas competindo pelos sítios de adsorção disponíveis e a saturação da coluna tende a acontecer mais rapidamente. Os perfis de eluição para a *R*-(+)-bupivacaína, mostrados na Fig. 4.16, apresentam um rápido aumento na concentração e o deslocamento acontece praticamente sem inclinação, porém, com um forte efeito de cauda à medida que a concentração diminuiu, principalmente para o volume de injeção de 200 μ L. Para a *S*-(-)-bupivacaína, os cromatogramas possuem um aumento na concentração não tão rápido e os efeitos de cauda também não são tão fortes quando comparados com a *R*-(+)-bupivacaína.

Como comentado por **Guiochon *et al.* (1994)** e **Seidel-Morgenstern (2004)**, em condições de sobrecarga, os cromatogramas são controlados pela termodinâmica da adsorção e os efeitos de transferência de massa são negligenciáveis. **Seidel-Morgenstern e Guiochon (1993a)** reportaram que, com o aumento na concentração de alimentação, uma diminuição na inclinação das isotermas de adsorção conduz ao decréscimo nos tempos de retenção, enquanto um aumento na inclinação conduz a um aumento nos tempos de retenção. **Silva Jr. *et al.* (2005a)** mostraram que as isotermas de adsorção dos enantiômeros da cetamina em MCTA foram bem descritas pelo modelo de Langmuir, o que conduziu a uma diminuição nos tempos de retenção nos perfis de eluição em condições de sobrecarga. **Seidel-Morgenstern e Guiochon (1993a)**, **Seidel-Morgenstern e Guiochon (1993b)** e **Pedefferri *et al.* (1999)** reportaram um comportamento de adsorção incomum para os enantiômeros da base de Tröger (BT) em MCTA. Foi demonstrado que o enantiômero mais retido (+)-BT exibe um ponto de inflexão na isoterma de adsorção sendo ajustada por um modelo quadrático. Esse comportamento incomum conduziu a um aumento nos tempos de retenção nos perfis de eluição para concentrações mais baixas seguidos de um decréscimo nos tempos de retenção, à medida que as concentrações foram

aumentadas. Mihlbachler *et al.* (2002a) mostraram um comportamento idêntico para o (+)-BT na FEQ Chiralpak AD.

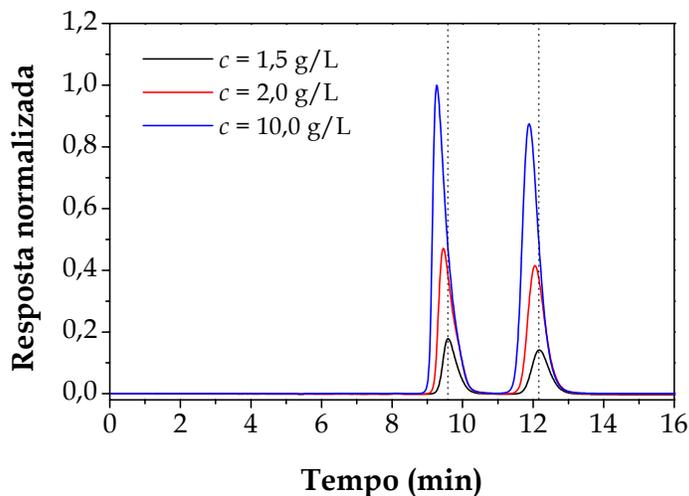


Figura 4.15. Cromatogramas da bupivacaína racêmica a diferentes concentrações e volume de injeção constante igual a $20 \mu\text{L}$. Vazão de alimentação $3,0 \text{ mL/min}$.

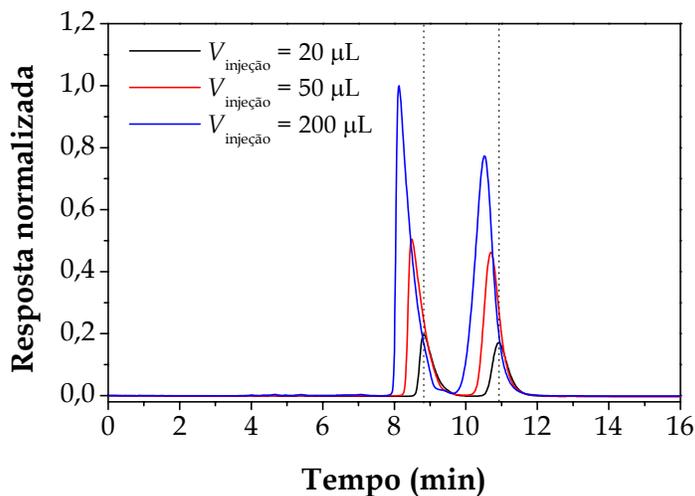


Figura 4.16. Cromatogramas da bupivacaína racêmica a diferentes volumes de injeção e concentração constante igual a $10,0 \text{ g/L}$. Vazão de alimentação $3,0 \text{ mL/min}$.

De acordo com a discussão acima, podemos concluir que os cromatogramas dos enantiômeros da bupivacaína sob condições de sobrecarga estão em concordância com o dados de isotermas satisfatoriamente ajustados pelo modelo de Langmuir competitivo. O comportamento não-linear com o decréscimo na inclinação das isotermas de adsorção conduziu a diminuição nos tempos de retenção nos perfis de eluição. Isso é um comportamento favorável e característico para isotermas do tipo Langmuir.

Capítulo 5

5. Resultados e discussão II

Neste capítulo serão apresentados os projetos das condições operacionais da unidade LMS para separação da bupivacaína e predição de separação utilizando os modelos do LMV e do LMS. Esses modelos foram inicialmente avaliados a partir de simulações com dados apresentados na literatura.

Avaliação das estratégias do LMV e LMS

5.1. Avaliação da estratégia do LMV – comparação com resultados reportados na literatura

A predição do desempenho no estado estacionário de um processo de separação por LMS pode ser realizada utilizando a estratégia do LMV. Essa estratégia possui a grande vantagem de consumir menos tempo computacional que a estratégia do LMS, uma vez que, neste caso, não é avaliado o perfil de concentração ao longo do eixo axial da unidade.

A estratégia do LMV foi inicialmente verificada a partir da reprodução dos resultados publicados por **Leão e Rodrigues (2004)**. Estes autores compararam duas rotinas computacionais de domínio público (COLNEW e COLDAE) na predição dos perfis internos de concentração no estado estacionário, para separação dos açúcares glucose e frutose.

As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam as condições operacionais e os parâmetros dos modelos utilizados por estes autores na simulação com a estratégia do LMV. Os dados de equilíbrio de adsorção lineares (H) e as condições operacionais (obtidas a partir da teoria do equilíbrio para isothermas lineares) foram previamente reportados por **Azevedo e Rodrigues (1999)** e **Zhong e Guiochon (1996)**, respectivamente. A Figura 5.1 apresenta o perfil interno de concentração no estado estacionário para o caso em estudo, em que as condições são apresentadas nas Tabelas 5.1 e 5.2.

Tabela 5.1. Condições operacionais e parâmetros do modelo utilizados na simulação do LMV

Parâmetros do modelo (LMS)	Condições operacionais (LMS)	Colunas (LMS)
$Pe_j = 2000$	$c_F = 60$ g/L (concentração total)	$D_c = 2,6$ cm
$(1 - \varepsilon)/\varepsilon = 1,5$	$t^* = 1,75$ min	$L_c = 11,5$ cm
$k_m = 6$ min ⁻¹	$Q_{Rec} = 19,89$ mL/min	Configuração:
LMV	$Q_D = 8,23$ mL/min	3-3-3-3
$\gamma_I = 1,0149$	$Q_E = 5,62$ mL/min	
$\gamma_{II} = 0,6122$	$Q_F = 1,28$ mL/min	
$\gamma_{III} = 0,7039$	$Q_R = 8,39$ mL/min	
$\gamma_{IV} = 0,4252$		
$H_{Glucose} = 0,3401$		
$H_{Frutose} = 0,5634$		

Tabela 5.2. Equivalência entre as vazões do LMV e do LMS

Seção	LMV		LMS	
	Q_j^{LMV} (mL/min)	γ_j	Q_j^{LMS} (mL/min)	m_j
I	14,16	1,01	28,12	2,01
II	8,54	0,61	22,50	1,61
III	9,82	0,70	23,78	1,70
IV	5,93	0,43	19,89	1,43
t^* (min)	-		1,75	

A Figura 5.1 apresenta o perfil interno de concentração no estado estacionário para o caso em estudo, nos quais as condições são apresentadas nas Tabelas 5.1 e 5.2. De acordo com o resultado mostrado na Figura 5.1, a estratégia do LMV reproduziu de forma satisfatória os dados apresentados por **Leão e Rodrigues (2004)**, com valores dos parâmetros de desempenho (pureza, recuperação, consumo de solvente e produtividade) exatamente idênticos aos apresentados por esses autores (resultado não apresentado).

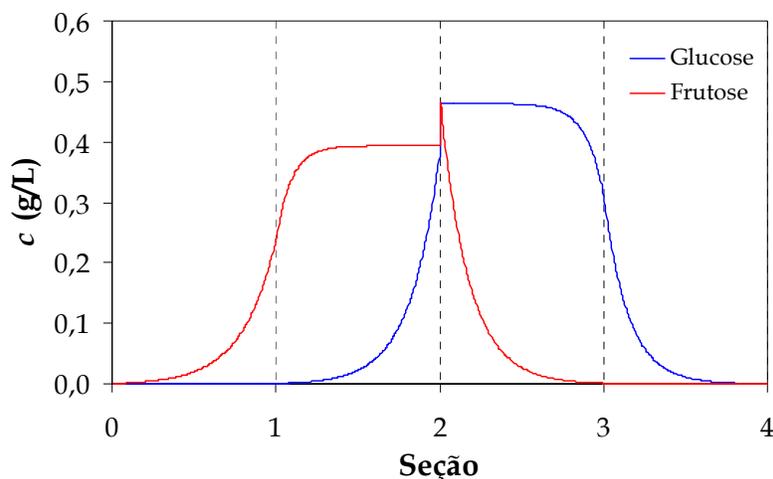


Figura 5.1. Perfil interno de concentração no estado estacionário obtido pelo modelo do LMV para separação de glucose e frutose.

A estratégia do LMV no estado estacionário também foi testada para avaliar o comportamento da separação da cetamina em MCTA. Os resultados experimentais foram obtidos por Santos (2004) na unidade LMS localizada no Laboratório de Biosseparações/DPB/FEQ/UNICAMP, contendo oito colunas divididas em quatro zonas (duas colunas por zona). As condições experimentais são apresentadas na Tabela 5.3 e foram projetadas com base na teoria do equilíbrio.

Tabela 5.3. Condições operacionais de separação da cetamina em MCTA com diferentes concentrações de alimentação e $t^* = 25$ min

Condição	c_F (g/L)	Razão entre as vazões				Vazões de operação (mL/min)				
		m_I	m_{II}	m_{III}	m_{IV}	Q_I	Q_{IV}	Q_R	Q_E	Q_F
1	1,5	6,33	2,89	4,21	1,06	1,10	0,38	0,43	0,47	0,18
2	2,5	6,33	2,89	4,21	1,06	1,10	0,38	0,43	0,47	0,18
3	5,0	6,33	3,10	3,90	0,98	1,10	0,37	0,39	0,44	0,10

Os parâmetros do modelo foram determinados por Silva Jr. *et al.* (2005b) pelo método dos momentos e estes são apresentados na Tabela 5.4. Diante das incertezas com relação à estimativa dos parâmetros de transferência de massa, o modelo do LMV no estado estacionário foi utilizado para calcular as regiões de separação no plano (γ_{II} , γ_{III}), tendo com exigência uma pureza mínima de 98% para as correntes de extrato e de refinado. Foram utilizados diferentes valores de k_m : (a) $0,2 \text{ min}^{-1}$; (b) $0,4 \text{ min}^{-1}$; (c) $0,6 \text{ min}^{-1}$; (d) $0,8 \text{ min}^{-1}$; (e) $1,0 \text{ min}^{-1}$. Este procedimento foi adotado uma vez que os dados obtidos experimentalmente por Silva Jr. *et al.* (2005b) não foram validados utilizando um modelo dinâmico de coluna.

As regiões de separação mostradas na Figura 5.2 foram calculadas por conjuntos de pares de γ_{II} e γ_{III} que conduziram a uma pureza mínima de 98% em ambas as correntes de extrato e refinado, para valores de $\gamma_I = 3,26$ e $\gamma_{IV} = 0,55$ definidos a partir da Tabela 5.3, de acordo com a equivalência $\gamma_j = m_j(1 - \varepsilon_T)/\varepsilon_T$. Essas regiões de separação são delimitadas pela diagonal $\gamma_{II} = \gamma_{III}$ e pelos limites

impostos pelas relações de equilíbrio, isto é, a linha horizontal limita a parte superior do triângulo e corresponde ao valor máximo de γ_{III} enquanto que a linha vertical limita a parte inferior do triângulo e corresponde ao valor mínimo de γ_{II} . Esta diagonal $\gamma_{II} = \gamma_{III}$ corresponde a uma vazão de alimentação igual a zero. Além disso, de acordo com restrições impostas pela teoria do equilíbrio, os valores de γ_{II} devem ser menores que os valores de γ_{III} . Como reportado no Capítulo 2, ainda como previsto pela teoria do equilíbrio, qualquer par de γ_{II} e γ_{III} que esteja dentro da região interna ao triângulo de separação conduz a uma pureza de 100% para as correntes de extrato e refinado.

Tabela 5.4. Parâmetros do modelo utilizados na simulação do LMV

Parâmetros do modelo		
$\varepsilon_T = 0,66$	$Pe_j = 1000$	$H_{S\text{-cetamina}} = 2,09$
$\varepsilon = 0,38$	$k_m\text{ S-cetamina} = 5,03\text{ min}^{-1}$	$H_{R\text{-cetamina}} = 5,35$
$D_c = 0,77\text{ cm}$	$k_m\text{ R-cetamina} = 1,46\text{ min}^{-1}$	
$L_c = 20\text{ cm}$		

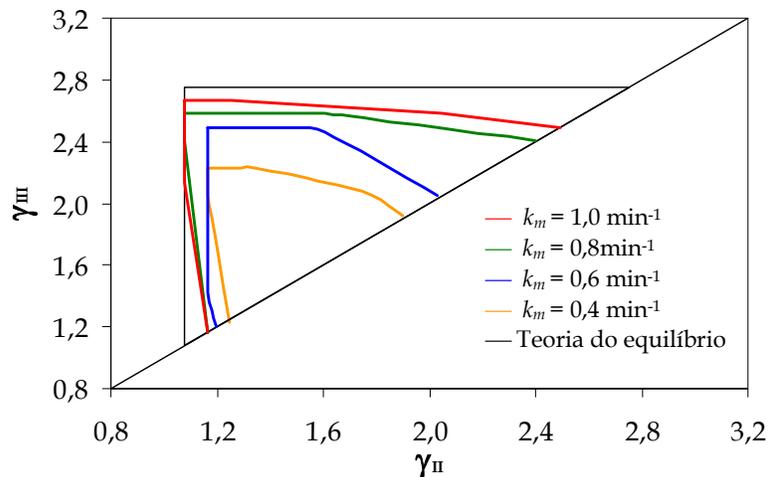


Figura 5.2. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da cetamina em MCTA.

Na Figura 5.2 é possível observar que as regiões de separação mantiveram-se dentro da região definida pela teoria do equilíbrio, diminuindo com a diminuição dos valores de k_m . Apenas para o caso em que foi utilizado o menor valor de $k_m = 0,2 \text{ min}^{-1}$ não houve região de separação para o valor de pureza especificado. Esse resultado mostra claramente que as resistências à transferência de massa reduzem significativamente a região de separação da cetamina em MCTA.

A influência das resistências à transferência de massa na região de separação tem sido amplamente discutida na literatura, tanto para o modelo do transporte dispersivo (Azevedo e Rodrigues, 1999; Minceva e Rodrigues, 2002; Leão e Rodrigues, 2004; Rodrigues e Pais, 2004) quanto para o modelo do equilíbrio dispersivo (Migliorini *et al.*, 1999b; Lorenz *et al.*, 2001; Kaspereit *et al.*, 2002b; Beltscheva *et al.*, 2003). Dessa forma, podemos afirmar que os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com os reportados por outros autores.

Com a finalidade de avaliar a influência das resistências à transferência de massa no desempenho de separação da cetamina em MCTA, os perfis internos para o modelo do LMV no estado estacionário foram calculados para os valores de k_m de 0,4 a 1,0 min^{-1} . As Figuras 5.3 a 5.5 apresentam estes perfis internos para as condições 1, 2 e 3 mostrados na Tabela 5.3. Foi possível observar que, para as três condições os perfis de concentração são semelhantes, sendo que para o menor valor de $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$ os perfis são mais dispersos. Com o aumento dos valores de k_m os perfis tornam-se menos dispersos e tendem a uma aproximação atingindo o platô de concentração praticamente na mesma posição axial. Além disso, os perfis internos apresentaram valores de pureza bem próximos, como mostrado na Tabela 5.5. Isto é devido ao fato de que, apesar da redução na região de separação prevista pelo equilíbrio na presença dos efeitos não-ideais (Figura 5.2), os pontos operacionais encontram-se em uma região de interseção entre as regiões de separação calculadas para cada valor de k_m , tendo como exigência mínima a pureza de 98% em ambas correntes de extrato e de refinado. As purezas nas correntes de extrato, em todos os casos, foi de 100% enquanto que para as correntes de refinado

esse valor caiu ligeiramente com o a diminuição dos valores de k_m . Apenas para a condição 2 com $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$ a pureza na corrente de refinado foi em torno de 98,4%.

A comparação entre os resultados experimentais dos perfis internos no estado estacionário obtidos por Santos (2004) e os resultados calculados pela estratégia do LMV podem ser visualizados na Figura 5.6. Estes perfis correspondem a condição 1 e a simulação foi realizada para o valor de $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$. Os perfis experimentais foram obtidos pela coleta de amostras na saída da coluna 8 ao longo de oito trocas consecutivas no último ciclo de operação (ciclo 4). As amostras coletadas durante a primeira troca das posições correspondem a concentração na saída da coluna 8, a segunda troca corresponde a concentração na saída da coluna 7 e assim sucessivamente.

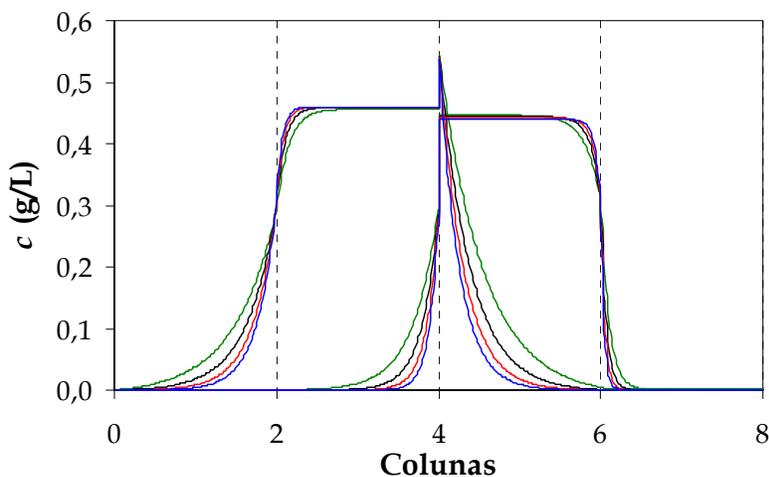


Figura 5.3. Influência das resistências à transferência de massa no desempenho de separação no estado estacionário da cetamina em MCTA para condição 1 (Tabela 5.3). A linha (—) corresponde a $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,6 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$; e (—) a $k_m = 1,0 \text{ min}^{-1}$.

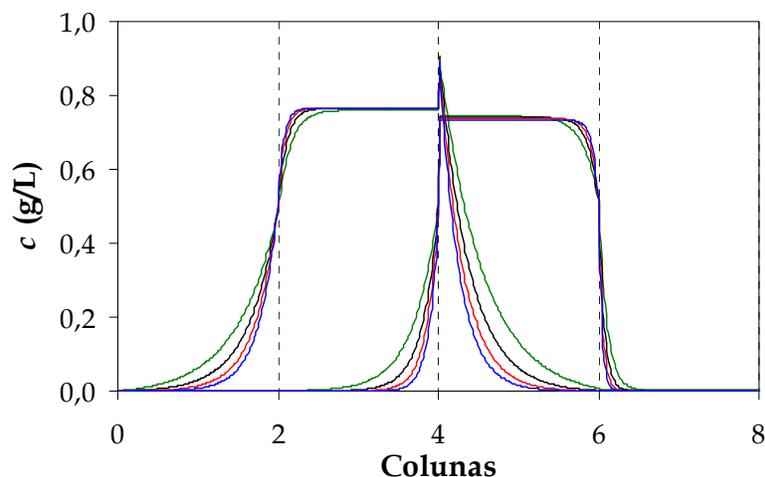


Figura 5.4. Influência das resistências à transferência de massa no desempenho de separação no estado estacionário da cetamina em MCTA para condição 2 (Tabela 5.3). A linha (—) corresponde a $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,6 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$; e (—) a $k_m = 1,0 \text{ min}^{-1}$.

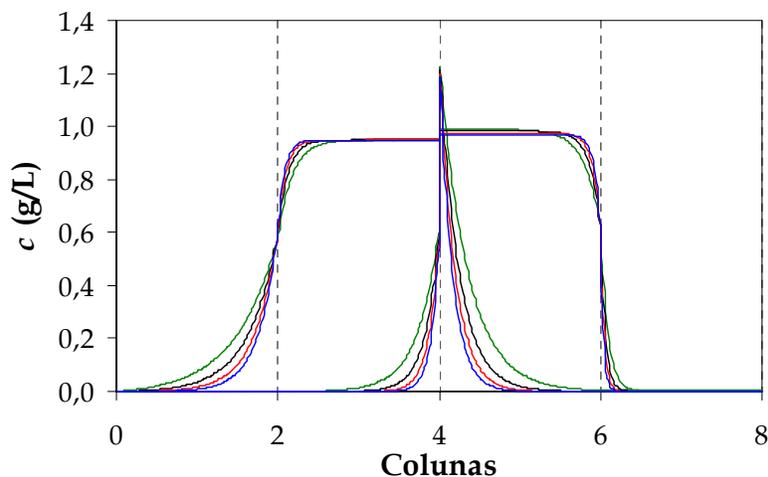


Figura 5.5. Influência das resistências à transferência de massa no desempenho de separação no estado estacionário da cetamina em MCTA para condição 3 (Tabela 5.3). A linha (—) corresponde a $k_m = 0,4 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,6 \text{ min}^{-1}$; (—) a $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$; e (—) a $k_m = 1,0 \text{ min}^{-1}$.

Tabela 5.5. Purezas nas correntes de extrato (P_E) e refinado (P_R) dos perfis internos simulados com diferentes valores de k_m

k_m (min^{-1})	Condição 1		Condição 2		Condição 3	
	P_E (%)	P_R (%)	P_E (%)	P_R (%)	P_E (%)	P_R (%)
0,4	100,0	99,2	100,0	98,4	100,0	99,4
0,6	100,0	99,8	100,0	99,8	100,0	99,8
0,8	100,0	99,9	100,0	99,9	100,0	99,9
1,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Experimental	100,0	100,0	97,7	100,0	95,7	99,0

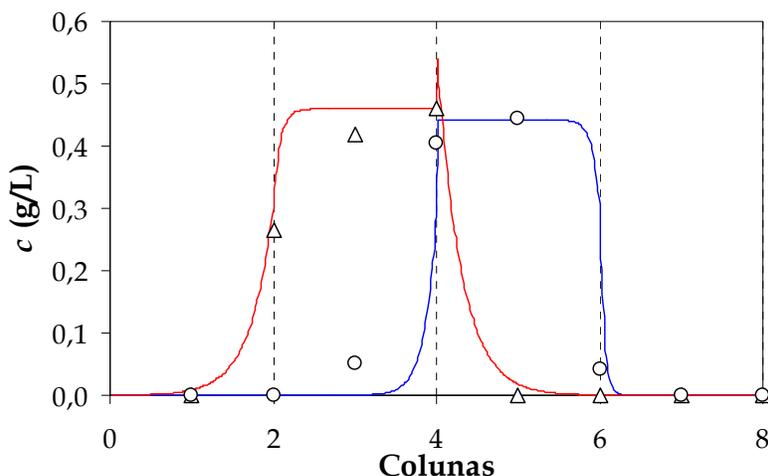


Figura 5.6. Perfis de concentração internos no estado estacionário experimentais e calculados pelo modelo do LMV na separação da cetamina em MCTA, para a condição 1 descrita na Tabela 5.3. Os perfis internos foram calculados pelo modelo com valor de $k_m = 0,8 \text{ min}^{-1}$. O ponto experimental (Δ) corresponde ao enantiômero mais retido (*R*-cetamina) na corrente de extrato e (\circ) ao enantiômero menos retido (*S*-cetamina) na corrente de refinado. A linha (—) corresponde a corrente de extrato e (—) a corrente de refinado.

Os resultados obtidos a partir das simulações são bastante próximos aos resultados também simulados e apresentados por Santos (2004). As discrepâncias

entre os resultados experimentais e calculados podem ser devido a alguns fatores. A primeira suposição reside no fato de que os estados estacionários nas corridas experimentais não tenham sido completamente alcançados, uma vez que as corridas duraram apenas 4 ciclos completos. A segunda suposição diz respeito a não homogeneidade das colunas de MCTA, provavelmente causada por não uniformidade no empacotamento. De fato, conforme mostrado pelo autor, as colunas não são bem uniformes com estimativa de desvios padrões elevadas para os valores das porosidades totais e para as constantes de Henry. A terceira e última suposição diz respeito aos volumes mortos da unidade que correspondem ao sistema de sucção, degaseificação, e tubulações e conexões extra-coluna.

Para avaliar se o sistema realmente atingiu o estado estacionário faz-se necessário a obtenção dos perfis transientes ou pelo modelo do LMV ou pelo modelo do LMS. Porém, esse não foi o objetivo do presente trabalho. Apesar das diferenças observadas, os resultados calculados e experimentais são próximos podendo-se afirmar que a estratégia do LMV no estado estacionário representou bem os dados obtidos experimentalmente da cetamina em MCTA.

Diante os resultados mostrados nas Figura 5.1 a 5.6, a estratégia do LMV pode ser aplicada tanto para a avaliação do desempenho de separação de uma unidade LMS, confrontando resultados calculados com resultados obtidos experimentalmente, bem como na construção das regiões de separação na presença das resistências à transferência de massa. Mais adiante serão apresentados os cálculos das regiões de separação sob efeitos de transferência de massa, condições operacionais e predição de separação da bupivacaína na unidade LMS, que é o objetivo central do presente trabalho.

5.2. Avaliação da estratégia do LMS – comparação com resultados reportados na literatura

A estratégia do LMS foi testada confrontando os resultados simulados com os resultados experimentais dos perfis de concentração transientes, obtidos por **Zenoni et al. (2000)** na separação da base de Tröger (BT) em MCTA. Esse trabalho foi escolhido por ter sido realizado em uma unidade contendo 4 zonas (duas colunas por zona) com configuração aberta. Essa unidade possui configuração semelhante à encontrada nas dependências do Laboratório de Biosseparações/DPB/FEQ/UNICAMP.

As condições de operação utilizadas pelos autores foram: $Q_I^{LMS} = 0,44$ mL/min, $Q_{II}^{LMS} = 0,19$ mL/min, $Q_{III}^{LMS} = 0,23$ mL/min, $Q_{IV}^{LMS} = 0,11$ mL/min, $t^* = 42$ min e $c_F = 3,0$ g/L. As colunas de aço inoxidável possuíam dimensões 25 cm x 0,46 cm D. I. Nas simulações foram utilizados os valores de porosidade total e constantes de Henry obtidos para cada coluna, em que os valores médios foram: $H_{(-)BT} = 2,12$; $H_{(+)BT} = 4,26$; e $\varepsilon_T = 0,56$.

Para esse estudo foram considerados os efeitos não-ideais sendo descritos pelo MED. Os perfis transientes foram calculados utilizando valores de $Pe = 10$ e $Pe = 20$ e os resultados são apresentados na Figura 5.7. Os baixos valores de Pe testados nessas simulações foram escolhidos com base na alta resistência à transferência de massa reportada pelo MCTA (**Silva Jr. et al., 2005c; Miyabe e Guiochon, 1999**).

De acordo com os resultados mostrados nas Figuras 5.7a e 5.7b, os perfis de concentração apresentam algumas diferenças. Por exemplo, para a corrente de extrato (corrente rica em no enantiômero mais retido, (+)-BT) nota-se uma maior amplitude no perfil transiente para $Pe = 20$. Esse comportamento pode ser atribuído a uma menor imposição dos efeitos dispersivos e de transferência de massa quando comparados com $Pe = 10$. Além disso, também foi possível observar que as amplitudes dos perfis de concentração possuem uma variação relativa ao

longo dos ciclos. Esse comportamento é devido à não uniformidade do empacotamento, caracterizado pela variação nos valores das porosidades totais para cada coluna.

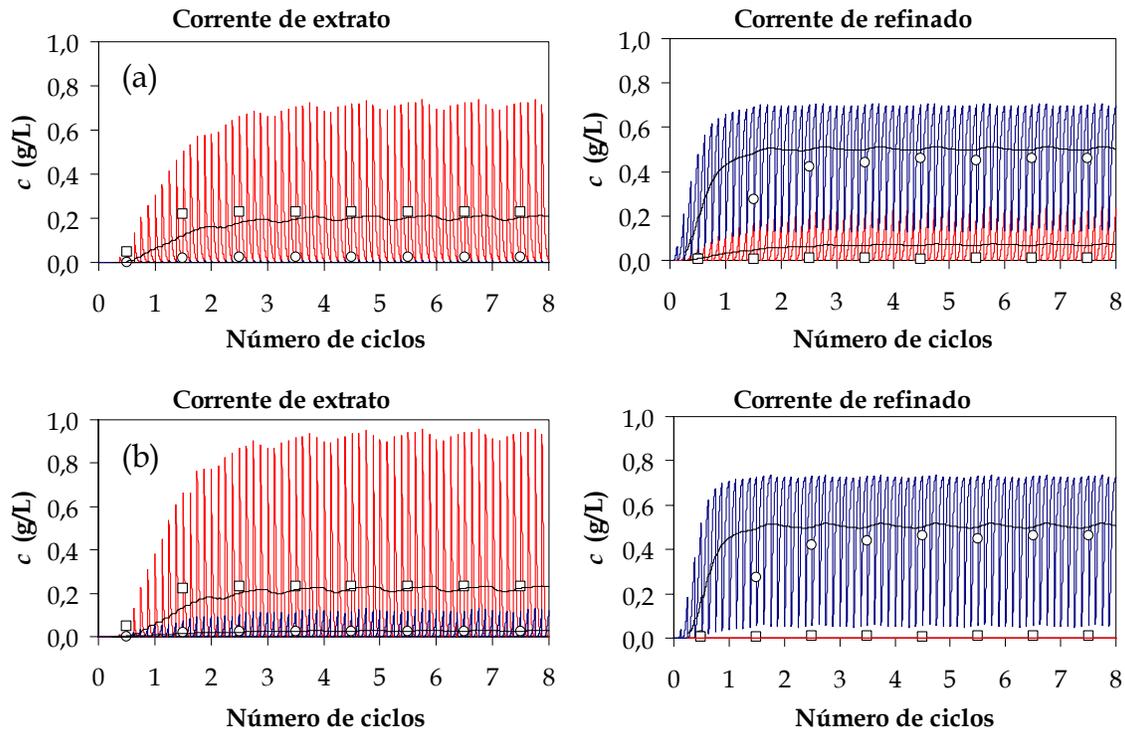


Figura 5.7. Perfis de concentração experimentais e calculados para BT em MCTA: (a) simulação com $Pe = 10$; (b) simulação com $Pe = 20$. Os pontos experimentais correspondem a (○) (-)-BT e (□) (+)-BT (Zenoni *et al.*, 2000). As linhas correspondem as médias dos perfis de concentração calculados pela estratégia do LMS ao longo dos ciclos.

Apesar das diferenças observadas nos perfis de concentração simulados, houve uma boa concordância entre os resultados experimentais e calculados (as linhas representam as médias das concentrações ao longo dos ciclos), para os dois casos simulados. Porém, os resultados calculados com $Pe = 20$ mostraram uma

melhor aproximação dos resultados experimentais. Vale salientar que, para valores de Pe maiores que 20 não houveram diferenças significativas nos perfis.

Diante destes resultados, podemos concluir que o modelo do LMS pode ser utilizado satisfatoriamente na comparação com resultados obtidos experimentalmente, bem como na predição do comportamento transiente de unidades LMS.

Caracterização das colunas cromatográficas Kromasil® CHI-TBB, obtenção das regiões de separação, projeto das condições operacionais da unidade LMS e predição de separação da bupivacaína para isotermas lineares

5.3. Caracterização das colunas Kromasil® CHI-TBB

Com a finalidade de verificar a homogeneidade do empacotamento das oito colunas que compõem a unidade LMS, foram realizados testes de análises cromatográficas com soluções diluídas do TTBB e dos enantiômeros da bupivacaína à temperatura de 25 °C. Cada coluna foi numerada e identificada conforme o número de série fornecido pelo fabricante.

A homogeneidade das colunas é de importância fundamental para um bom desempenho de separação da unidade LMS, pois é um indicativo de que a separação ocorrerá de forma uniforme em cada zona da unidade durante cada ciclo de operação, se mantidas constantes as vazões nas quatro zonas da unidade. Para sistemas nos quais as colunas não são homogêneas, o projeto das condições operacionais pode ser realizado assim mesmo, desde que alguns critérios reportados por **Mihlbachler et al. (2001)** e **Mihlbachler et al. (2002b)** sejam adotados. Porém a região de separação e a predição do desempenho da unidade LMS podem ser realizadas utilizando a estratégia do LMS dinâmico.

A Tabela 5.6 apresenta os valores dos tempos de retenção do TTBB e dos enantiômeros da bupivacaína, as porosidades totais, os coeficientes de Henry e o fator de separação para as oito colunas Kromasil® CHI-TBB que compõem a unidade LMS, bem como as suas respectivas médias e estimativas de desvios padrões. Estes resultados foram obtidos a uma vazão de 1,0 mL/min.

Tabela 5.6. Tempos de retenção, coeficientes de Henry, fator de separação e porosidade total nas oito colunas Kromasil® CHI-TBB à vazão de 1,0 mL/min

Colunas	t_M (min)	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	H_1	H_2	α	ϵ_T
Coluna 1: E14147	11,45	28,90	35,93	2,13	2,99	1,40	0,58
Coluna 2: E14148	11,44	29,36	36,92	2,19	3,02	1,38	0,58
Coluna 3: E14149	11,41	28,93	35,91	2,13	2,98	1,40	0,58
Coluna 4: E14150	11,16	29,11	36,56	2,12	3,00	1,42	0,57
Coluna 5: E14151	11,53	28,24	36,64	2,06	3,10	1,50	0,59
Coluna 6: E14152	11,53	28,36	36,59	2,08	3,09	1,49	0,59
Coluna 7: E14153	11,49	28,72	36,41	2,12	3,06	1,45	0,59
Coluna 8: E14154	11,48	29,02	35,67	2,15	2,97	1,38	0,59
Média	11,44	28,83	36,24	2,12	3,03	1,43	0,58
Desvio padrão	0,12	0,38	0,37	0,04	0,05	0,05	0,01

De acordo com os resultados apresentados pode-se afirmar que as colunas são homogêneas com tempos de retenção para o TTBB e para os enantiômeros da bupivacaína relativamente próximos. Como resultado da homogeneidade das colunas, os valores de ϵ_T praticamente não variaram de uma coluna para outra, a não ser para a coluna 4 com pequena variação. Da mesma forma, os valores de H também se mantiveram praticamente constantes.

Silva Jr. *et al.* (2005a) apresentaram um estudo prévio da separação cromatográfica da bupivacaína em uma única coluna Kromasil® CHI-TBB. Esses

autores obtiveram valores de H iguais a 2,12 e 2,91 para a $R-(+)$ - e $S-(-)$ -bupivacaína, respectivamente. Nota-se que esses valores são bem próximos aos valores médios mostrados na Tabela 5.6. Conforme mostrado no Capítulo 4 (Seção 4.5), os valores de H estimados a partir da análise frontal também são próximos aos valores médios das oito colunas. As pequenas diferenças observadas podem ser atribuídas à utilização de apenas uma coluna tanto nos experimentos de pulsos quanto na análise frontal.

5.4. Determinação das regiões de separação – avaliação da influência das resistências à transferência de massa e requerimento de pureza para isoterma linear

Inicialmente, a região de completa separação no plano $(\gamma_{II}, \gamma_{III})$ para os enantiômeros da bupivacaína, sob condições lineares das isotermas, foi construída com base na teoria do equilíbrio. Essa metodologia, por assumir alta eficiência de separação ($N_p \rightarrow \infty$) e por desprezar efeitos não-ideais, prevê altos valores de pureza nas correntes de extrato e de refinado. A região de completa separação é definida por pares de valores de γ_{II} e γ_{III} para valores pré-estabelecidos de γ_I e γ_{IV} . Para o presente caso em estudo, os valores de γ_I e γ_{IV} , de acordo com as restrições impostas pela teoria do equilíbrio, são:

$$\gamma_I > \frac{1-\varepsilon_T}{\varepsilon_T} H_S = 2,19 \quad (5.1)$$

$$\gamma_{IV} < \frac{1-\varepsilon_T}{\varepsilon_T} H_R = 1,54 \quad (5.2)$$

Conforme descrito na Seção 5.2, a construção do plano $(\gamma_{II}, \gamma_{III})$ consiste na delimitação de uma região definida pela diagonal $\gamma_{II} = \gamma_{III}$, por uma linha

horizontal que limita a parte superior do triângulo e corresponde ao valor máximo de $\gamma_{III} = H_S (1 - \varepsilon_T)/\varepsilon_T$, e por uma linha vertical que limita a parte inferior do triângulo e corresponde ao valor mínimo de $\gamma_{II} = H_R (1 - \varepsilon_T)/\varepsilon_T$. A interseção das retas horizontais e verticais (vértice do triângulo de separação) define o ponto de maior produtividade para um dado valor de consumo de solvente.

No Capítulo 4 foram mostrados os valores dos coeficientes de transferência de massa globais (k_m) e dispersão axial (D_L) obtidos na separação dos enantiômeros da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB, calculados a partir dos gráficos de van Deemter. Devido aos grandes intervalos paramétricos obtidos na estimação desses parâmetros, há uma incerteza com relação ao método de estimação, uma vez que esses dados também não foram validados por um modelo dinâmico de coluna.

O valor de $Pe \approx 18000$ foi calculado com base nos valores de D_L apresentados no Capítulo 4. É importante ressaltar que esse valor de Pe estimado a partir dos gráficos de van Deemter representa os efeitos de dispersão apenas em uma única coluna da unidade. Além disso, devido a alta ordem de magnitude do valor obtido pode-se afirmar que os efeitos de dispersão axial não influenciam na separação. De fato, simulações iniciais foram realizadas com a finalidade de avaliar a influência do Pe nos perfis internos no estado estacionário e foi observado que, a partir de um certo valor ($Pe > 2000$), não há variação significativa nos perfis, sendo sensíveis apenas para variações dos valores de k_m .

Com relação aos valores de k_m , devido à alta ordem de magnitude associados a baixa dispersão pode-se dizer que os efeitos convectivos são dominantes na coluna e tende a um comportamento ideal. Também foram realizadas simulações iniciais variando o valor de k_m com a finalidade de avaliar a influência desse parâmetro nos perfis internos no estado estacionário. Variações nos perfis só foram observadas para valores inferiores a $5,0 \text{ min}^{-1}$.

Dessa forma, foi adotada uma sistemática idêntica à realizada na Seção 5.2, para o caso da cetamina. A estratégia do LMV foi utilizada para calcular as regiões

de separação no plano (γ_{II} , γ_{III}) correspondente aos valores de pureza iguais a 90, 95 e 98% nas correntes de extrato e de refinado, para diferentes valores de k_m : (a) 0,5 min^{-1} ; (b) 1,0 min^{-1} ; (c) 2,0 min^{-1} ; (d) 3,0 min^{-1} . Nas simulações utilizou-se valor de $Pe = 2000$. Embora os valores de k_m acima não representem o caso real, estes foram utilizados com a finalidade de investigar a influência das resistências à transferência de massa nas regiões de separação.

As estratégias utilizadas para determinação das regiões de separação foram as mesmas utilizadas na Seção 5.2, de acordo com a metodologia proposta por **Azevedo e Rodrigues (1999)**. Essa estratégia consiste em sucessivos cálculos das purezas nas correntes de extrato e de refinado dentro da região delimitada pelo plano (γ_{II} , γ_{III}) definido pela restrição $\gamma_{IV} < \gamma_{II} < \gamma_{III} < \gamma_I$.

As Figuras 5.8, 5.9 e 5.10 apresentam as regiões de separação obtidas para diferentes valores de k_m e com purezas de 90, 95 e 98% nas correntes de extrato e de refinado, respectivamente. Nota-se que, em todos os casos, as regiões de separação diminuíram com o aumento no requerimento de pureza e com o aumento das resistências à transferência de massa.

Nas Figuras 5.8 e 5.9, as regiões de separação obtidas para valores de pureza mínima de 90% e 95%, respectivamente, possuem maiores regiões de separação para valor de $k_m = 3 \text{ min}^{-1}$. A Figura 5.10 apresenta as regiões de separação para uma pureza mínima de 98%. Também foi possível observar uma redução nas regiões de separação com a diminuição dos valores de k_m . Porém, essa redução foi bem mais acentuada quando comparados com os outros valores de pureza. Entretanto, assim como nas Figuras 5.8 e 5.9, para $k_m = 3,0 \text{ min}^{-1}$, a região de separação também foi a que mais se aproximou da região prevista pela teoria do equilíbrio. Para essa exigência de pureza mínima não houve região de separação para o menor valor de $k_m = 0,5 \text{ min}^{-1}$.

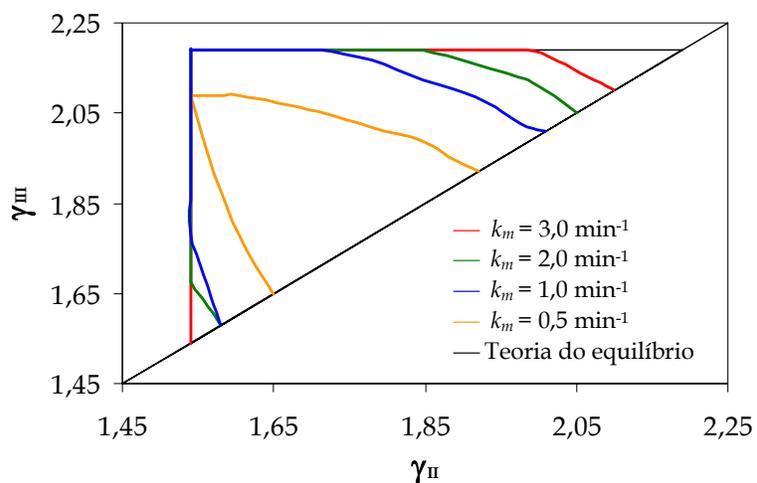


Figura 5.8. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da bupivacaína em Kromasil® CHI-TBB para pureza mínima de 90% nas correntes de extrato e de refinado.

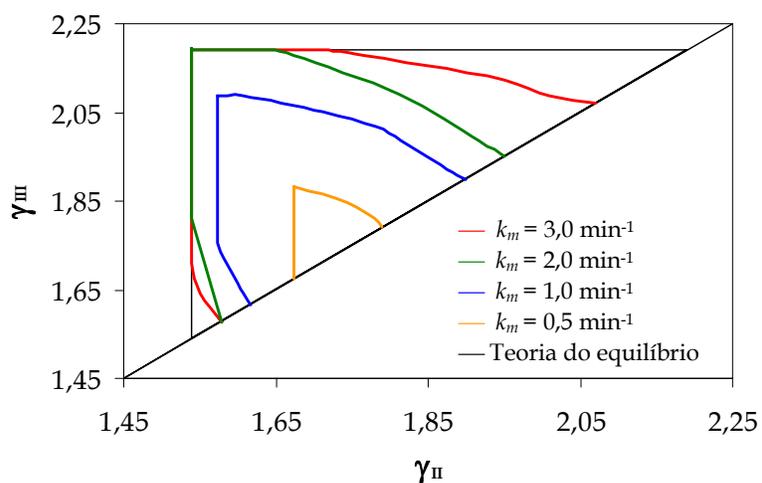


Figura 5.9. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da bupivacaína em Kromasil® CHI-TBB para pureza mínima de 95% nas correntes de extrato e de refinado.

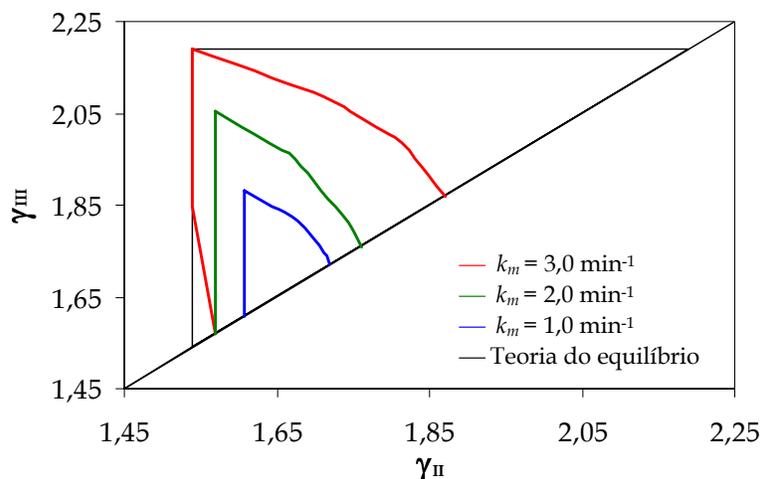


Figura 5.10. Efeito das resistências à transferência de massa na região de separação da bupivacaína em Kromasil® CHI-TBB para pureza mínima de 98% nas correntes de extrato e de refinado.

Silva et al. (2004) desenvolveram uma solução analítica para resolver a estratégia do LMV estacionário, com a finalidade de investigar a influência das resistências à transferência de massa nas regiões de separação para os açúcares glucose e frutose. Esses autores mostraram que, no caso em que os efeitos de transferência de massa são negligenciados, as regiões de separação para 90, 95 e 98% de pureza nas correntes de extrato e de refinado são maiores que o triângulo calculado pela teoria do equilíbrio. Em nosso estudo, o objetivo foi investigar a influência da transferência de massa na região de separação e as deformações causadas por estes efeitos. Além disso, durante as simulações que geraram as regiões de separação diante dos efeitos de não-idealidade, foi imposto com uma condição de busca dos pares γ_{II} e γ_{III} apenas na região interna ao triângulo definido pela teoria do equilíbrio.

No caso em estudo, para valores de $k_m > 2,0 \text{ min}^{-1}$, o MTD tende ao MED (resultado apresentado adiante na Seção 5.6), com perfis praticamente sem efeitos dispersivos causados pelas resistências à transferência de massa. De fato, conforme mostrado nas Figura 5.8, 5.9 e 5.10, para um valor de $k_m = 3,0 \text{ min}^{-1}$ as regiões de

separação previstas pela estratégia do LMV estacionário têm uma tendência a se aproximar da região prevista pela teoria do equilíbrio, principalmente para exigências de pureza mais baixas. É importante ressaltar que os valores de k_m obtidos experimentalmente são bem maiores que os valores empregados nesse estudo e, nessas condições não há variações na região de separação.

De acordo com os resultados apresentados, podemos concluir que, para sistemas que apresentam alta resistência à transferência de massa, a escolha de condições operacionais com base nas restrições impostas pela teoria do equilíbrio não são adequadas e requer a solução de modelos que levam em conta os efeitos de transferência de massa, como por exemplo, o MTD que foi utilizando nesse estudo.

5.5. Determinação dos volumes de separação e dos parâmetros de desempenho – avaliação da influência de γ_I e γ_{IV} na presença das resistências à transferência de massa para isotermas lineares

A importância de se estudar a influência das vazões nas zonas I (γ_I) e IV (γ_{IV}) reside no fato de que essas vazões afetam diretamente o consumo de solvente e que, por sua vez, tem uma relação direta com a produtividade da unidade. De acordo com a teoria do equilíbrio, a região de separação definida pelo plano (γ_{II} , γ_{III}) deve ser constante desde que as restrições impostas aos valores de γ_I e γ_{IV} sejam cumpridas. Ainda de acordo com a teoria do equilíbrio, o ponto operacional na região de separação que possui maior produtividade e menor consumo de solvente corresponde ao vértice do triângulo, em que γ_{II} tem o seu valor mínimo, enquanto que γ_{III} o seu valor máximo. Isto significa que a vazão de alimentação é a máxima possível para o determinado sistema.

Os volumes de separação (Figura 5.11) dão uma idéia de como a escolha dos valores de γ_I e γ_{IV} na presença das resistências à transferência de massa afetam o

desempenho da unidade LMS, bem como a possibilidade de realizar uma comparação da influência dos efeitos não-ideais com as restrições impostas pela teoria do equilíbrio. Neste estudo, a influência das vazões nas zonas I e zona IV foram avaliadas pela resolução numérica da estratégia do LMS estacionário, tendo como restrição mínima de pureza nas correntes de extrato e de refinado igual a 98% para valores de $k_m = 2,0 \text{ min}^{-1}$ e $Pe = 2000$. Adotaram-se as vazões de $Q_I^{\text{LMS}} = 1,53 \text{ mL/min}$ e de $Q_{IV}^{\text{LMS}} = 0,72 \text{ mL/min}$, que correspondem aos valores de $\gamma_I = 2,37$ e $\gamma_{IV} = 0,59$, respectivamente.

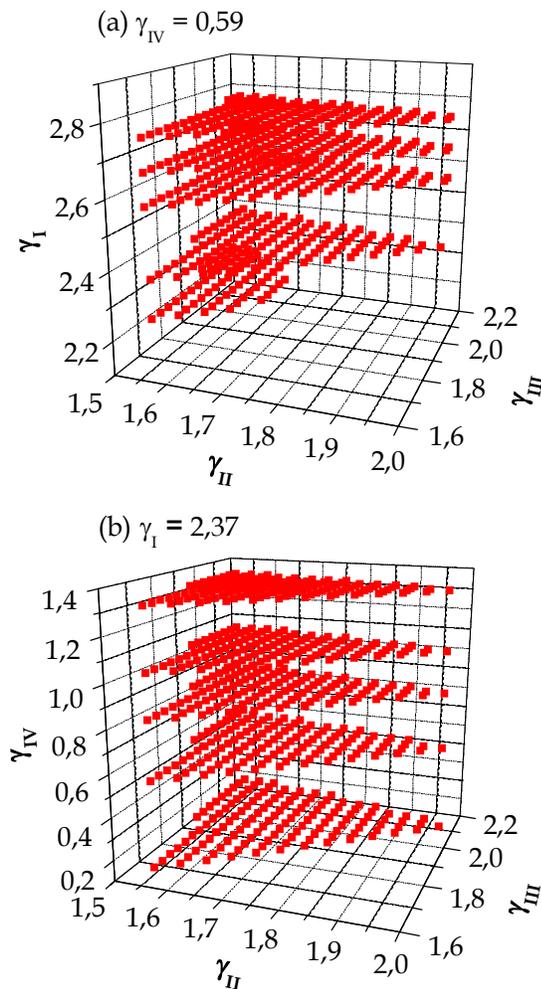


Figura 5.11. (a) Influência de γ_I na região de separação para $\gamma_{IV} = 0,59$; (b) Influência de γ_{IV} na região de separação para $\gamma_I = 2,37$.

Os volumes de separação foram primeiramente calculados para $\gamma_{IV} = 0,59$ e diferentes valores de γ_I : (a) $\gamma_I = 2,28$; (b) $\gamma_I = 2,39$; (c) $\gamma_I = 2,59$; (d) $\gamma_I = 2,68$ e (e) $\gamma_I = 2,77$. A influência de γ_I nas regiões de separação é mostrada na Figura 5.11a, em um sistema de coordenada tri-dimensional ($\gamma_I, \gamma_{II}, \gamma_{III}$). Foi possível observar que, com o aumento no valor de $\gamma_I = 2,28$ para $\gamma_I = 2,39$ houve uma expansão na região de separação. Entretanto, com o aumento no valor de $\gamma_I = 2,39$ para $\gamma_I = 2,77$ a região de separação manteve-se constante. O mesmo procedimento também foi adotado para calcular os volumes de separação para $\gamma_I = 2,37$ e diferentes valores de γ_{IV} : (a) $\gamma_{IV} = 0,19$; (b) $\gamma_{IV} = 0,59$; (c) $\gamma_{IV} = 0,86$; (d) $\gamma_{IV} = 1,07$ e (e) $\gamma_{IV} = 1,34$. A influência de γ_{IV} nas regiões de separação é mostrada na Figura 5.11b, também em um sistema de coordenada tri-dimensional ($\gamma_{IV}, \gamma_{II}, \gamma_{III}$). Nesse caso, foi possível observar que dentro da faixa dos valores de γ_{IV} utilizado não houve variação na região de separação.

Silva et al. (2004) reportaram que operações com valores de γ_I e γ_{IV} próximos as restrições impostas pelo equilíbrio, o volume de separação é notavelmente reduzido. De fato, como observado na Figura 5.11a, para o menor valor de $\gamma_I = 2,28$ (valor mais próximo a restrição imposta pelo equilíbrio) foi obtido o menor volume de separação. Porém, esse comportamento não foi observado na Figura 5.11b, mesmo para o maior valor de $\gamma_{IV} = 1,34$ (valor mais próximo da restrição imposta pelo equilíbrio), provavelmente por que a configuração da unidade em estudo corresponde a malha aberta, ou seja, não há reciclo da vazão na zona IV (vazão de dessorvente) para zona I.

Azevedo e Rodrigues (1999), Minceva e Rodrigues (2002), Silva et al. (2004) e Rodrigues e Pais (2004) mostraram que os parâmetros de desempenho são mais sensíveis a variações de γ_I que os valores de γ_{IV} . De acordo com essa exposição, conclui-se que os resultados mostrados na Figura 5.11 estão em plena concordância com os resultados reportados na literatura.

Silva *et al.* (2004) reportaram que operações realizadas próximas às restrições impostas pelo equilíbrio implicam em baixos valores de vazão de dessorvente. Além disso, a quantidade de material alimentado ao sistema é menor, reduzindo o desempenho global da unidade. Foi concluído por esses autores que é mais conveniente utilizar vazões mais altas de γ_I e menores vazões de γ_{IV} que as vazões impostas pela teoria do equilíbrio. Por outro lado, a utilização de altos valores de γ_I e menores valores de γ_{IV} conduzirão a um maior consumo de solvente para a mesma quantidade de material a ser processado, uma vez que sob essas condições as regiões de separação permanecem constantes. Dessa forma, a otimização dos parâmetros de desempenho depende da escolha do ponto operacional ótimo que deve se encontrar entre essas duas condições extremas levando em conta o conjunto de vazões nas quatro zonas da unidade LMS.

Uma vez que o produto de interesse no presente estudo é o enantiômero mais retido, ou seja, a S-(-)-bupivacaína, esse enantiômero deve ser obtido na corrente de extrato. A influência das vazões de alimentação na produtividade e consumo de solvente na corrente de extrato e de refinado foram investigadas para valores de $\gamma_I = 2,68$ para $\gamma_{IV} = 1,07$ (Figura 5.12). Esses valores de γ_I e γ_{IV} correspondem as vazões $Q_I^{LMS} = 1,73$ mL/min e $Q_{IV}^{LMS} = 1,00$ mL/min e encontram-se dentro da faixa empregada no cálculo dos volumes de separação.

Inicialmente, a busca dos valores dos pares γ_{II} e γ_{III} para pureza de 98% em ambas correntes de extrato e de refinado foi realizada com a finalidade de construir a região de separação para essa condição, mostrada na Figura 5.12. A partir dos limites dessa região de separação foram obtidos os valores de produtividade e consumo de solvente para as correntes de extrato e de refinado (Figura 5.13). De acordo com a Figura 5.13, pode-se observar que o aumento da vazão de alimentação acarretou em um aumento na produtividade e redução no consumo de solvente.

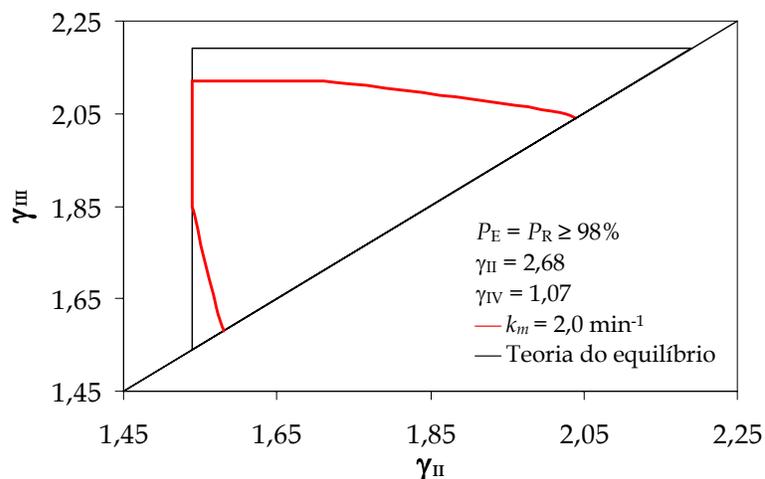


Figura 5.12. Região de separação da bupivacaína em Kromasil® CHI-TBB para pureza mínima de 98% nas correntes de extrato e de refinado, $k_m = 2,0 \text{ min}^{-1}$, e valores de $\gamma_{II} = 2,68$ e $\gamma_{IV} = 1,07$.

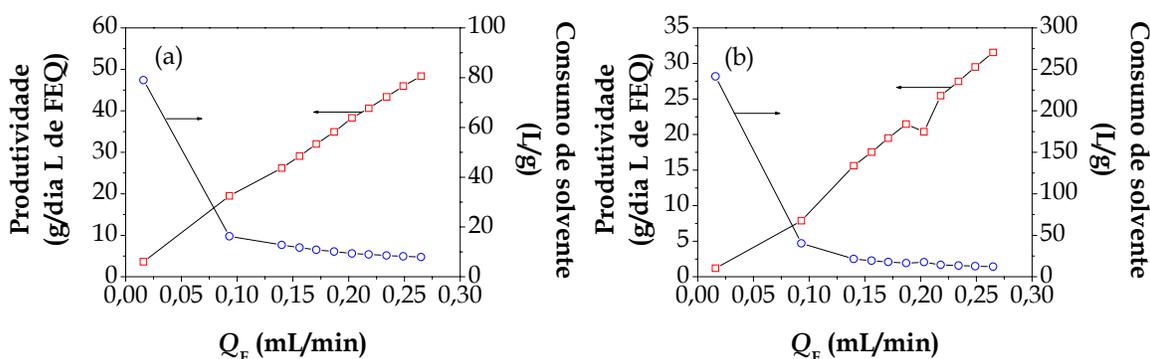


Figura 5.13. Efeito da vazão de alimentação na produtividade (\square) e consumo de solvente (\circ) para a corrente de extrato (a) e de refinado (b).

5.6. Predição de separação da bupivacaína pelos modelos do LMV e LMS para isothermas lineares

Para predição de separação da bupivacaína sob condições lineares na unidade LMS foram escolhidos três pontos operacionais dentro da região de separação no plano ($\gamma_{II}, \gamma_{III}$), com exigência mínima de 98% de pureza nas correntes de extrato e

de refinado e com valor de $k_m = 2,0 \text{ min}^{-1}$. Os pontos operacionais são mostrados na Figura 5.14. As condições de operação para esses pontos são mostradas na Tabela 5.7, em que foi fixado o valor de $\gamma_I = 2,68$ e de $\gamma_{IV} = 1,07$. É importante ressaltar que os volumes mortos entre as zonas da unidade LMS ($V_{D,j} = 1,5 \text{ mL}$) foram descontados no cálculo das vazões de operação, como reportado por Santos (2004).

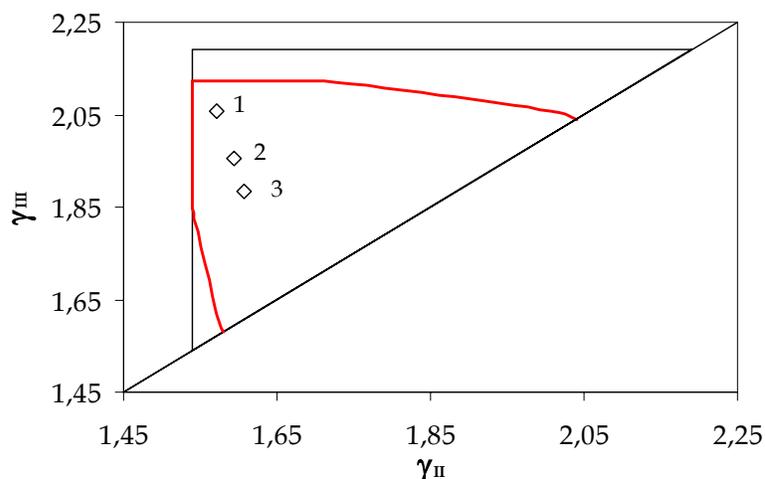


Figura 5.14. Região de separação da bupivacaína em Kromasil® CHI-TBB para pureza mínima de 98% nas correntes de extrato e de refinado, $k_m = 2,0 \text{ min}^{-1}$, e valores de $\gamma_{II} = 2,68$ e $\gamma_{IV} = 1,07$. Os pontos operacionais (\diamond) identificados por 1, 2 e 3 correspondem às condições de operação descritas na Tabela 5.7.

Tabela 5.7. Condições de operação de separação da bupivacaína na unidade LMS para isotermas lineares com $t^* = 25 \text{ min}$ e $c_F = 0,5 \text{ g/L}$

Condição	Razão entre as vazões				Vazões de operação (mL/min)				
	γ_I	γ_{II}	γ_{III}	γ_{IV}	Q_I	Q_{IV}	Q_R	Q_E	Q_F
1	2,68	1,57	2,06	1,07	1,73	1,00	0,45	0,50	0,22
2	2,68	1,59	1,96	1,07	1,73	1,00	0,40	0,49	0,16
3	2,68	1,61	1,88	1,07	1,73	1,00	0,37	0,49	0,12

Com a finalidade de avaliar os estados transientes e estacionários da separação da bupivacaína na unidade LMS, as condições operacionais mostradas na Tabela 5.7 foram utilizadas nas simulações, inicialmente pela abordagem do LMS e com valor de $Pe = 50$, conforme equacionamento descrito no Capítulo 3 (Seção 3.2.3).

O comportamento cíclico no estado estacionário, estado característico em operações realizadas em unidades LMS, é apresentado nas Figuras 5.15, 5.16 e 5.17. Nota-se que, em todos os casos a corrente de refinado atingiu o estado estacionário em $t = 600$ min (após 3 ciclos completos), enquanto que a corrente de extrato em $t = 800$ min (após 4 ciclos). Dessa forma pode-se afirmar que após 4 ciclos completos as concentrações dos enantiômeros nas correntes de extrato e de refinado não variam com o tempo, conforme visualizado pelas médias das concentrações, representados pelas linhas nas Figuras 5.15 a 5.17.

A Figura 5.18 ilustra com detalhe o estado cíclico no estado estacionário para a condição 1. A evolução da concentração dos dois enantiômeros da bupivacaína dentro de um ciclo são apresentados nas correntes de refinado (Figura 5.18a) e de extrato (Figura 5.18b). Essas Figuras mostram que, uma vez alcançado o estado estacionário, os perfis de concentração no fim de um intervalo de tempo de troca são exatamente os mesmos no início do novo intervalo, para a coluna seguinte. Esse comportamento se repete após cada intervalo de troca das posições das colunas, ciclo após ciclo.

Ainda com relação ao estado estacionário cíclico durante um ciclo completo, mostrado na Figura 5.18 para a condição 1, fica evidente que os perfis de concentração são realmente periódicos dentro de cada troca das posições das correntes de entrada e retirada da unidade ($t^* = 25$ min), uma vez que não houve variações nesses perfis; a amplitude foi exatamente a mesma. Este comportamento se deve à homogeneidade entre as oito colunas Kromasil® CHI-TBB, conforme reportado na Tabela 5.6.

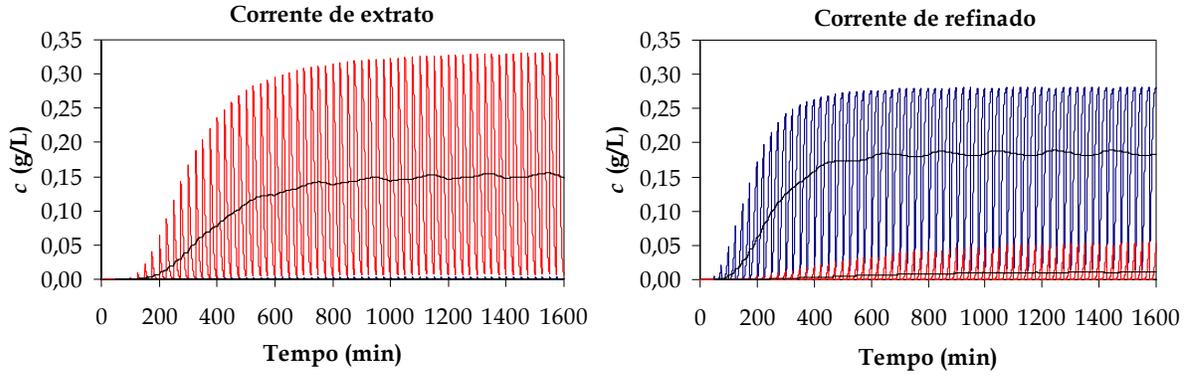


Figura 5.15 Perfis de concentração transientes para as correntes de extrato e refinado para condição 1 descrita na Tabela 5.7.

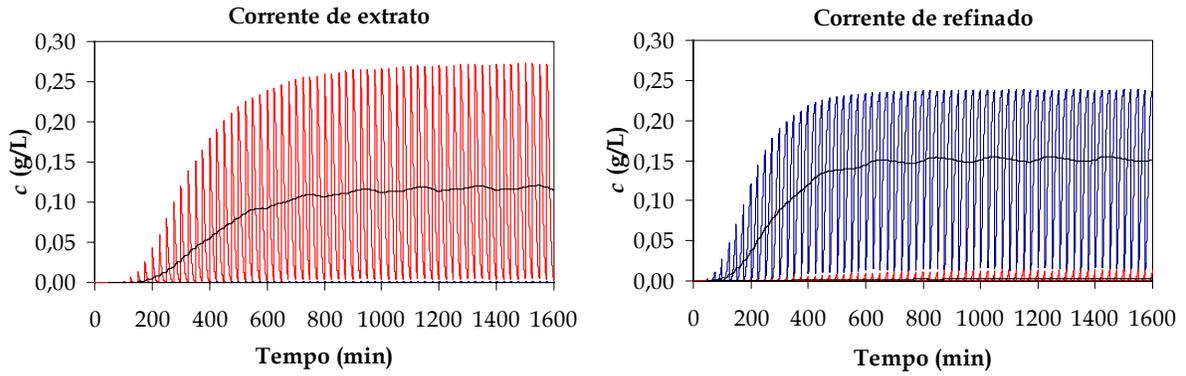


Figura 5.16. Perfis de concentração transientes para as correntes de extrato e refinado para condição 2 descrita na Tabela 5.7.

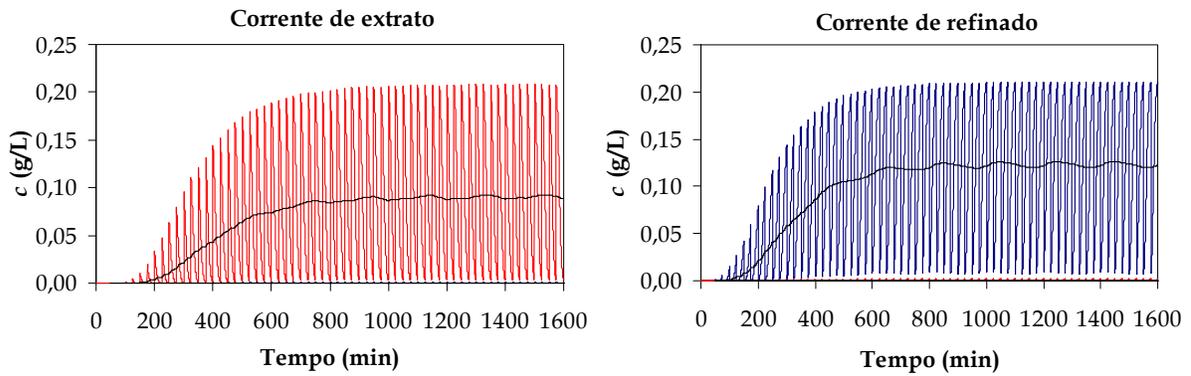


Figura 5.17. Perfis de concentração transientes para as correntes de extrato e refinado para condição 3 descrita na Tabela 5.7.

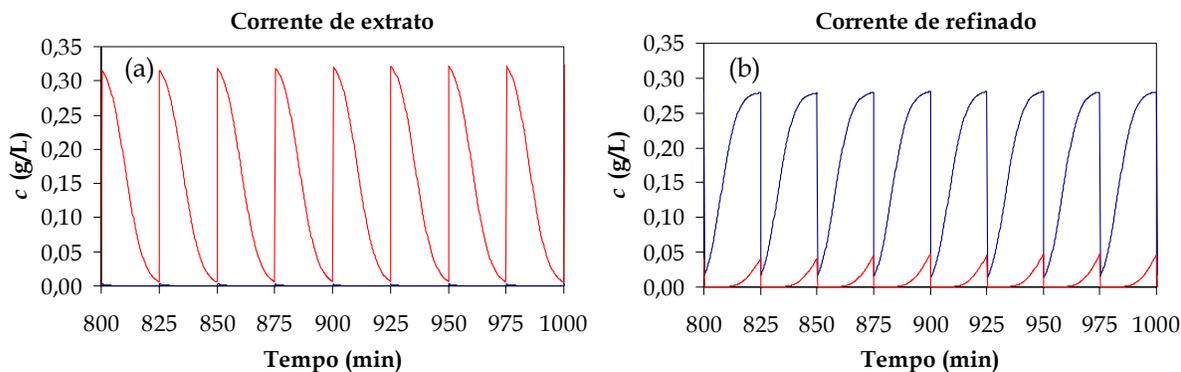


Figura 5.18. Perfis de concentração nas correntes de extrato (a) e refinado (b) no estado estacionário durante um ciclo completo, para a condição 1 descrita na Tabela 5.7.

Zenoni *et al.* (2000) apresentaram perfis de concentração transientes obtidos experimentalmente na separação da BT em MCTA. Esses autores mostraram que os perfis de concentração não são exatamente periódicos entre duas trocas sucessivas, devido às pequenas diferenças observadas para o conjunto de colunas (não homogeneidade das colunas). De fato, na Seção 5.2 os perfis de concentração obtidos por esses autores foram reproduzidos a partir das simulações com o modelo do LMS (Figura 5.7), em que foram observados os mesmos comportamentos com variações na amplitude dos perfis de concentração para cada intervalo de tempo de troca.

Bae *et al.* (2006) investigaram a influência da heterogeneidade do conjunto de colunas que compõem uma unidade LMS com relação aos parâmetros de desempenho de separação (produtividade, consumo de solvente, enriquecimento e recuperação), na separação de dois hormônios. Esses autores mostraram que, no caso em estudo, os parâmetros de desempenho oscilaram bem mais para a corrente de extrato que para a corrente de refinado. De fato, os desvios nos perfis de concentração influenciam diretamente o cálculo desses parâmetros, uma vez que esses são determinados levando-se em consideração as concentrações médias nas correntes de extrato e de refinado.

As Figuras 5.19, 5.20 e 5.21 mostram os perfis internos de concentração para as correntes de extrato, para as condições 1, 2 e 3, respectivamente. Esses perfis foram calculados tanto pela abordagem do LMS (a 25, 50 e 75% do t^* no último ciclo) utilizando o MED quanto pela abordagem do LMV utilizando o MTD. Para os três casos, nota-se que os perfis internos calculados pela abordagem do LMV comporta-se de forma intermediária aos perfis de internos obtidos pela abordagem do LMS, embora tenham sido utilizados modelos matemáticos diferentes para a solução numérica de ambos. Em todos os casos, próximo ao ponto de alimentação, os perfis internos obtidos pela abordagem do LMV apresentaram uma diferença com relação aos perfis obtidos pela abordagem do LMS. Como reportado por **Pais et al. (1998b)**, esse comportamento deve-se ao fato de que as vazões internas para o LMV são menores que as vazões para o LMS, conduzindo a uma menor diluição na corrente de alimentação. Por conseqüência, próximo ao ponto de alimentação (coluna 4), a concentração no LMV será maior que no LMS.

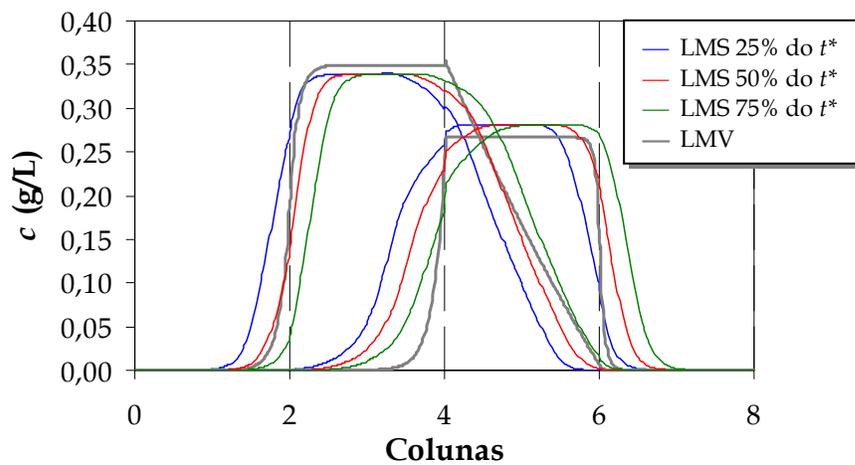


Figura 5.19. Comparação entre os perfis internos de concentração no estado estacionário obtidos pelas abordagens do LMS e LMV, para condição 1 descrita na Tabela 5.7.

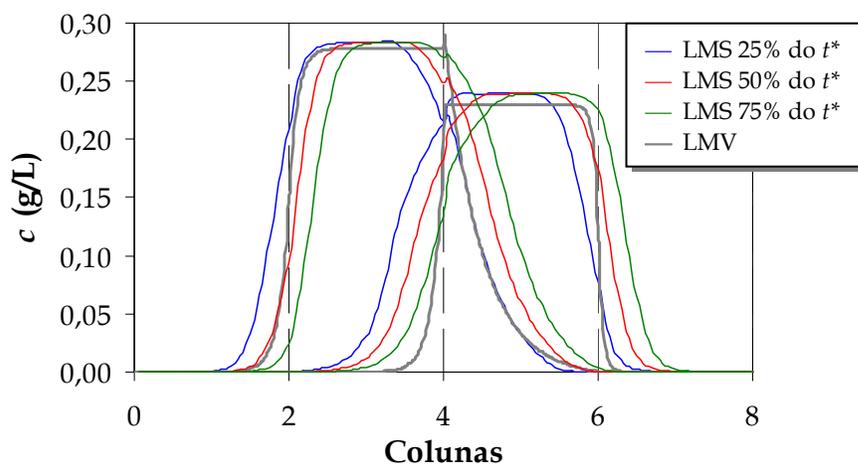


Figura 5.20. Comparação entre os perfis internos de concentração no estado estacionário obtidos pelas abordagens do LMS e LMV, para condição 2 descrita na Tabela 5.7.

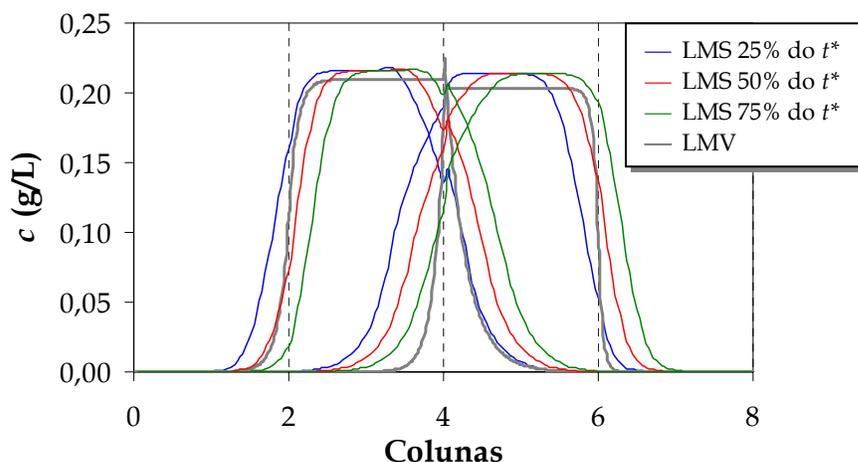


Figura 5.21. Comparação entre os perfis internos de concentração no estado estacionário obtidos pelas abordagens do LMS e LMV, para condição 3 descrita na Tabela 5.7.

Sendo as correntes de retirada de extrato e de refinado coletadas nas colunas 2 e 6, respectivamente, nota-se que não há contaminação nas correntes de extrato simulados pela abordagem do LMS. Para a corrente de refinado, há uma mínima

contaminação nos perfis simulados a 75% do t^* , para as condições 1 e 2. Esse comportamento também pode ser observado nos perfis transientes mostrados nas Figuras 5.15 a 5.17. Os perfis internos simulados pela abordagem do LMV, assim como para a abordagem do LMS, não apresentaram contaminação na corrente de extrato, mas uma leve contaminação na corrente de refinado. A Tabela 5.8 apresenta os valores de pureza alcançados a partir das simulações pela abordagem do LMV e LMS para as três condições estudadas.

Tabela 5.8. Purezas nas correntes de extrato (P_E) e refinado (P_R) dos perfis internos obtidos pelas abordagens do LMS e LMV

Condição	LMS		LMV	
	P_E (%)	P_R (%)	P_E (%)	P_R (%)
1	100,0	98,6	100,0	98,2
2	100,0	99,9	100,0	99,7
3	100,0	100,0	100,0	100,0

Nota-se que, para a condição 1, o ponto operacional mais próximo do vértice que possui a maior vazão de alimentação ($Q_F = 0,22$ mL/min), tanto os resultados simulados pela abordagem do LMS quanto pela abordagem do LMV apresentaram leves contaminações nas correntes de refinado. Entretanto, essa contaminação diminuiu com a diminuição das vazões de alimentação.

Os valores de produtividade e consumo de solvente foram calculados a partir dos perfis internos para as três condições simuladas e são apresentados nas Figuras 5.22 e 5.23. Nota-se que, tanto para a abordagem do LMS quanto para a abordagem do LMV, o aumento na vazão de alimentação conduziu a uma maior produtividade e menor consumo de solvente em ambas correntes de extrato e de refinado, porém com redução na pureza da corrente de refinado. Esse comportamento tem sido reportado na literatura (Minceva e Rodrigues, 2002; Pais *et al.*, 1998a).

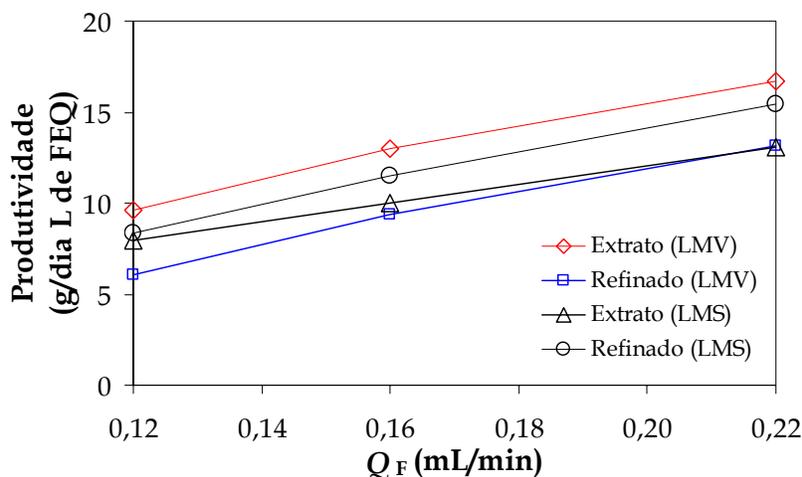


Figura 5.22. Efeito da vazão de alimentação na produtividade da unidade LMS.

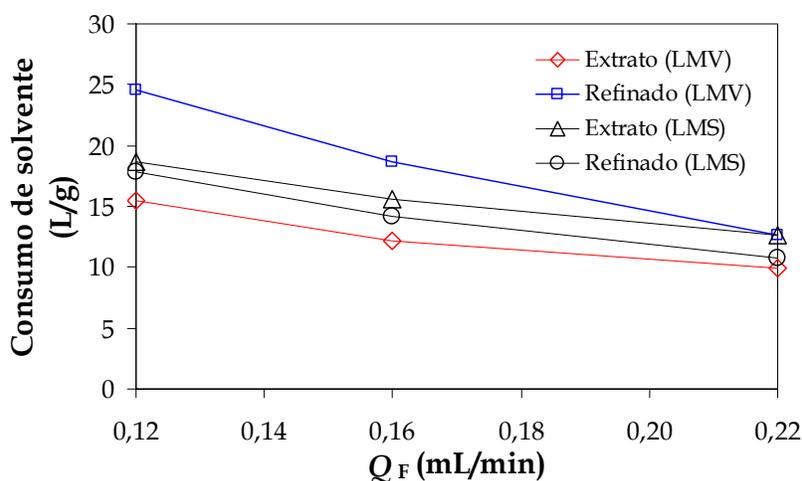


Figura 5.23. Efeito da vazão de alimentação no consumo de solvente da unidade LMS.

É importante ressaltar que, apesar da redução no consumo de solvente apresentados pelas Figuras 5.13, 5.22 e 5.23, esses valores são elevados quando comparados com resultados apresentados na literatura. Isso é devido a utilização de soluções com concentrações extremamente diluídas utilizadas nas simulações para as três condições utilizadas na realização desse trabalho.

Capítulo 6

6. Conclusões e sugestões para trabalhos futuros

O presente trabalho relata a determinação dos parâmetros fundamentais de separação dos enantiômeros da bupivacaína, bem como o projeto de condições operacionais do LMS sob condições lineares das isotermas de adsorção. Para a determinação destes parâmetros, um procedimento sistemático foi realizado com a finalidade de descrever e quantificar a forma como ocorre a separação dos enantiômeros da bupivacaína utilizando uma coluna quiral Kromasil® CHI-TBB.

Os resultados apresentados neste trabalho mostram que a bupivacaína apresenta uma boa separação na coluna quiral com elevada eficiência. A separação ocorreu até a linha de base para todas as vazões e temperaturas empregadas.

Os coeficientes de Henry são maiores que a unidade, para a faixa de temperatura utilizadas, revelando que há uma grande afinidade entre os enantiômeros e a coluna quiral. O enantiômero *S*-(-)-bupivacaína (isômero mais retido) possui maior afinidade, com valores dos coeficientes de Henry maiores que para a *R*-(+)-bupivacaína.

A coluna Kromasil® CHI-TBB também apresenta uma rápida transferência de massa com elevados valores dos coeficientes de transferência de massa globais,

quando comparados com outras moléculas quirais nessa FEQ. Estes valores aumentaram com a elevação da temperatura da coluna. Porém, devido aos grandes intervalos paramétricos para os coeficientes de transferência de massa, a discriminação entre os valores obtidos a cada temperatura se torna difícil.

Os cromatogramas em uma coluna possuem picos bem definidos com largura de base pequena sem efeitos dispersivos. Esse comportamento aliado aos altos valores dos coeficientes de transferência de massa são um indicativo de que os efeitos convectivos são dominantes no processo de separação da bupivacaína na coluna Kromasil® CHI-TBB.

Os valores dos coeficientes de dispersão axial na coluna foram praticamente os mesmos para ambos enantiômeros, para cada temperatura em estudo.

As isotermas de adsorção competitivas foram determinadas pelo método da análise frontal em um único degrau. Este procedimento, apesar de satisfatório, consumiu bastante tempo na realização. As isotermas competitivas foram bem ajustadas pelo modelo de Langmuir competitivo para a faixa de concentração utilizada na realização dos experimentos.

A coluna apresentou um alto desempenho de separação em condições de sobrecarga. Apesar do alargamento dos picos cromatográficos à concentrações e volumes de injeção mais elevados, ainda assim, a separação ocorreu até a linha de base.

Em condições de sobrecarga, os tempos de retenção na coluna diminuíram com o aumento da concentração e do volume de injeção. Isto é um comportamento favorável característico de isotermas do tipo Langmuir.

As oito colunas Kromasil® CHI-TBB apresentam desempenho de separação idênticos, com tempos de retenção bastante próximos. Além disso, foi observada baixa queda de pressão para as oito colunas com seus valores praticamente idênticos, bem como os valores de porosidade e coeficientes de Henry. Isto implica que as colunas são bem homogêneas.

Com base nos resultados apresentados foram determinadas as condições operacionais da unidade LMS para condições lineares pela abordagem do LMV, levando-se em consideração a influência das resistências à transferência de massa, com base na metodologia dos volumes de separação. As regiões de separação sofreram uma redução significativa com o aumento dos efeitos não-ideais.

O projeto das condições de operação foi obtido pela metodologia dos volumes de separação e a predição de separação foi realizada tanto pela abordagem do LMV quanto do LMS. Para ambos os casos, o desempenho de separação foi avaliado em termos de pureza, produtividade e consumo de solvente, com resultados bastante próximos. Embora existam soluções analíticas para resolver os sistemas de equações diferenciais que descrevem a unidade LMS para sistemas com isotermas lineares, optou-se pela solução numérica uma vez que etapas futuras serão realizadas com modelos de isotermas não-lineares.

A separação da bupivacaína em uma unidade LMS com configuração aberta, contendo oito colunas Kromasil® CHI-TBB (duas colunas por zona), pode ser realizada experimentalmente com sucesso e com elevado grau de pureza, desde que sejam empregadas condições operacionais adequadas.

Como sugestões para trabalhos futuros, tem-se:

- (1) Obterem os parâmetros das isotermas competitivas não-lineares pelo método inverso, a partir dos perfis de eluição em condições de sobrecarga apresentados nesse trabalho e comparar com os resultados obtidos pela análise frontal;
- (2) Obterem as regiões de separação para isotermas não-lineares na presença das resistências à transferência de massa e projetar condições de operação ótimas;
- (3) Realizar experimentos na unidade LMS com base nas condições de operação para isotermas lineares (apresentadas nesse trabalho) e não-lineares.

Bibliografia

- Abel, S., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2002). Solvent gradient operation of simulated moving beds: 1. Linear isotherms. *Journal of Chromatography A*, 944, pp. 23-39.
- Abel, S., Erdem, G., Mazzotti, M., Morari, M., Morbidelli, M. (2004a). Optimizing control of simulated moving bed – Linear isotherms. *Journal of Chromatography A*, 1033, pp. 229-239.
- Abel, S., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2004b). Solvent gradient operation of simulated moving beds: 2. Langmuir isotherms. *Journal of Chromatography A*, 1026, pp. 47-55.
- Ahuja, S. Chiral separations by chromatography. Oxford University Press, NY, 2000.
- Andersson, S., Allenmark, S., Möller, P., Persson, B., Sanchez, D. (1996). Chromatographic separation of enantiomers on *N,N'*-diallyl-*L*-tartardiamide-based network-polymeric chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 741, pp. 23-31.
- Andersson, S., Balmér, K., Persson, B. (1999). Chromatographic resolution of organic acids using the Kromasil CHI-TBB chiral stationary phase. *Chirality*, 11, pp. 420-425.
- Andersson, S., Allenmark, S. G. (2002). Preparative chiral chromatographic resolution of enantiomers in drug discovery. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 54, pp. 11-23.

- Antos, D., Seidel-Morgenstern, A. (2002a). Continuous step gradient elution for preparative separations. *Separation Science Technology*, 37, 07, pp. 1469-1487.
- Antos, D., Seidel-Morgenstern, A. (2002b). Two-step solvent gradients in simulated moving bed chromatography: Numerical study for linear equilibria. *Journal of Chromatography A*, 944, pp. 77-91.
- Arnold, F. H., Blanch, H. W., Wilke, C. R. (1985a). Analysis of affinity separations II: The characterizations of affinity columns by pulse techniques. *Chemical Engineering Journal*, 30, B25 – B36.
- Arnold, F. H.; Blanch, H. W.; Wilke, C. R. (1985b). Liquid chromatography plate height equations. *Journal of Chromatography*, 330, pp. 159-166.
- Azevedo, D. C. S., Rodrigues, A. E. (1999). Design of a simulated moving bed in the presence of mass-transfer resistances. *AIChE Journal*, 45, 05, pp. 956-966.
- Azevedo, D. C. S., Rodrigues, A. (2000). SMB chromatography applied to the separation/purification of fructose from cashew apple juice. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 17, 4-7, pp. 507-516.
- Azevedo, D. C. S., Rodrigues, A. E. (2001). Fructose-Glucose separation in a SMB pilot unit: modeling, simulation, design, and operation. *AIChE Journal*, 47, 09, pp. 2042-2051.
- Azevedo, D. C. S. (2001). Separation/reaction in simulated moving bed: application to the production of industrial sugars. PhD Thesis, Universidade do Porto, Porto, Portugal.
- Bae, Y.-S., Im, S.-H., Lee, K.-M. (2005). Adsorption characteristics of toluene and p-Xylene in a reversed-phase C₁₈ column for simulated moving bed chromatography. *Separation Science and Technology*, 40, pp. 2183-2204.
- Bae, Y.-S., Moon, J.-H., Lee, C.-H. (2006). Effects of feed Concentration of the startup and performance behaviors of simulated moving bed chromatography. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 45, pp. 777-790.

- Barreto Jr; A. G. (2005). Projeto de sistemas cromatográficos para a separação de lapachol. Tese de Doutorado, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro/RJ.
- Beltscheva, D., Hugo, P., Seidel-Morgenstern, A. (2003). Linear two-step gradient counter-current chromatography: Analysis based on a recursive solution of an equilibrium stage model. *Journal of Chromatography A*, 989, pp. 31-45.
- Biressi, G., Rajendran, A., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2002a). The GC-SMB separation of the enantiomers of isoflurane. *Separation Science Technology*, 37, 11, pp. 2529-2543.
- Biressi, G., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2002b). Experimental investigation of the behavior of gas phase simulated moving beds. *Journal of Chromatography A*, 957, pp. 211-225.
- Böcker, S. Mazzotti, M., Morbidelli, M., Fleury, C., Schenkel, B. (2002). Design of Chromatographic Separation on Reversed Phase. *Separation Science and Technology*, 37, pp. 1725-1745.
- Bubnik, Z., Pour, V., Gruberova, A., Starhova, H., Hinkova, A., Kadlec, P. (2004). Application of continuous chromatographic separation in sugar processing. *Journal of Food Engineering*, 61, pp. 509-513.
- Cass, Q. B., Degani, A. L. G. (2001). Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação. Série Apontamentos, Editora da UFSCar.
- Catterall, W. & Mackie, K. (1997). Em "As bases farmacológicas da terapêutica". Goodman, A., 9ª edição, Editora McGraw Hill, pp. 243-249.
- Cavazzini, A., Felinger, A., Kaczmarek, K., Szabelski, P., Guiochon, G. (2002). Study of the adsorption equilibria of the enantiomers of 1-phenyl-1-propanol on cellulose tribenzoate using microbore column. *Journal of Chromatography A*, 953, pp. 55-66.
- Cavoy, E., Deltent, M. -F., Lehoucq, S., Miggianno, D. (1997). Laboratory-developed simulated moving bed for chiral drug separations: Design of the system and

- separation of tramadol enantiomers. *Journal of Chromatography A*, 769, pp. 49-57.
- Cortês, C. A. F., Oliveira, A. S., Castro, L. F. L., Cavalcanti, F. S., Serafim, M. M., Taia, C., Taia Filho, S. (2003). Estudo comparative entre bupivacaína a 0,5%, mistura enantiomérica de bupivacaína (S75-R25) a 0,5% e Ropivacaína a 0,75% associados ao fentanil em anestesia peridural para cesarianas. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 53, 2, pp. 177-187.
- Cherrak, D., Khattabi, S., Guiochon, G. (2000). Adsorption behavior and prediction of the band profiles of the enantiomers of 3-chloro-1-phenyl-1-propanol: influence of the mass transfer kinetics. *Journal of Chromatography A*, 877, pp. 109-122.
- Cremasco, M. A., Hritzko, B. J., Xie, Y., Wang, N. -H. L. (2001). Parameters estimation for amino acids adsorption in a fixed bed by moment analysis. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 18, 02, pp. 181-194.
- Cremasco, M. A., Wang, N. -H. L. (2003). A design and study of the effect of selectivity on binary separation in a four-zone simulated moving bed for systems with linear isotherms. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 20, 02, pp. 181-190.
- Cremasco, M. A. Fundamentos de transferência de massa, Editora da UNICAMP, Campinas - SP, p. 50-51, 1998.
- Charton, F., Nicoud, R. M. (1995). Complete design of a simulated moving bed. *Journal of Chromatography A*, 702, pp. 97-112.
- Chu, K. H., Hashim, M. A. (1995). Simulated countercurrent adsorption processes: a comparison of modeling strategies. *The Chemical Engineering Journal*, 56, pp. 59-65.
- Danel, C., Foulon, C., Park, C., Yous, S., Bonte, J. P., Vaccher, C. (2005). Enantiomeric resolution of new aromatase inhibitors by liquid

- chromatography on cellulose chiral stationary phase. *Journal of Separation Science*, 28, pp. 428-434.
- Dantus, M. M., Wells, L. M. (2004). Regulatory issues in chromatographic analysis in the pharmaceutical industry. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27, 7-9, pp. 1413-1442.
- Ding, G., Liu, Y., Cong, R.-Z., Wang, J.-D. (2004). Chiral separation of enantiomers of amino acid derivatives by high-performance liquid chromatography on a norvancomycin-bonded chiral stationary phase. *Talanta*, 62, pp. 997-1003.
- Duan, G., Ching, C. -B., Swarup, S. (1998). Kinetic and equilibrium study of the separation of propranolol enantiomers by high performance liquid chromatography on a chiral adsorbent. *Chemical Engineering Journal*, 69, pp. 111-117.
- EP. European Pharmacopeia, 4th edition, pp. 1675-1677, 2002.
- Erdem, G., Abel, S., Morari, M., Mazzotti, M., Morbidelli, M., Lee, J. H. (2004a). Automatic control of simulated moving beds. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 43, pp. 405-421.
- Erdem, G., Abel, S., Morari, M., Mazzotti, M., Morbidelli, M., Lee, J. H. (2004b). Automatic control of simulated moving beds: II. Nonlinear isotherms. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 43, pp. 3895-3907.
- Fawcett, J. P., Kennedy, J. M., Kumar, A., Ledger, R., Kumara, G. M., Patel, M. J., Zacharias, M. (2002). Comparative efficacy and pharmacokinetics of racemic bupivacaine and S-bupivacaine in third molar surgery, *Journal of Pharmaceutical and Pharmacology Science*, 5, 2, pp. 199-204.
- Francotte, E., Richert, P. (1997). Applications of simulated moving-bed chromatography to the separation of the enantiomers of chiral drugs. *Journal of Chromatography A*, 769, pp. 101-107.

- Francotte, E., Richert, P., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (1998). Simulated moving bed chromatographic resolution of a chiral antitussive. *Journal of Chromatography A*, 796, pp. 239-248.
- Francotte, E. R. (2001). Enantioselective chromatography as a powerful alternative for the preparation of drugs enantiomers. *Journal of Chromatography A*, 906, pp. 379-397.
- Felinger, A., Zhou, D., Guiochon, G. (2003). Determination of the single component and competitive adsorption isotherms of the 1-indanol enantiomers by the inverse method. *Journal of Chromatography A*, 1005, pp. 35-49.
- Gonçalves, R. F., Lauretti, G. R., Mattos, A. L. (2003). Estudo comparativo entre bupivacaína a 0,5% e mistura enantiomérica de bupivacaína (S75-R25) a 0,5% em anestesia peridural. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 53, 2, pp. 169-176.
- Götmar, G., Zhou, D., Stanley, B. J., Guiochon, G. (2004). Heterogeneous adsorption fo 1-indanol on cellulose tribenzoate and adsorption energy distribution of the two enantiomers. *Analytical Chemistry*, 76, pp. 197-202.
- Gu, X. Q., Fryirs, B., Mather, L. E. (1998). High-Performance Liquid Chromatographic Separation and Nanogram Quantitation of Bupivacaine Enantiomers in Blood. *Journal of Chromatography B*, 719, 135.
- Guiochon, G., Shirazi, S. G., Katti, A. M. Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography. Academic Press, Boston, MA, 1994.
- Guiochon, G. (2002). Preparative liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 965, pp. 129-161.
- Guiochon, G., Lin, B. Modeling for preparative chromatography. Academic Press, San Diego, California, 2003.
- Grill, C. M., Miller, L., Yan, T. Q. (2004). Resolution of a racemic pharmaceutical intermediate: A comparison of preparative HPLC, steady state recycling, and simulated moving bed. *Journal of Chromatography A*, 1026, pp. 101-108.

- Gritti, F., Guiochon, G. (2003a). New thermodynamically consistent competitive adsorption isotherm in RPLC. *Journal of Colloid and Interface Journal*, 264, pp. 43-59.
- Gritti, F., Guiochon, G. (2003b). Band splitting in overloaded isocratic elution chromatography II. New competitive adsorption isotherm. *Journal of Chromatography A*, 1008, pp. 23-41.
- Gross, A. S., Nicolay, A., Eschaliere, A. (1999). Simultaneous analysis of ketamine and bupivacaine in plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 728, pp. 107-115.
- Haag, J., Wouwer, V., Lehoucq, S., Saucez, P. (2001). Modeling and simulation of a SMB chromatographic process designed for enantioseparation. *Control Engineering Practice*, 9, 921-928.
- Haroun, M., Ravelet, C., Ravel, A., Grosset, C., Villet, A., Peyrin, E. (2005). Thermodynamic origin of the chiral recognition of tryptophan on teicoplanin and teicoplanin aglycone stationary phases. *Journal of Separation Science*, 28, pp. 409-420.
- He, H., Liu, Y., Sun, C., Wang, X., Huy, C. P. (2004). Effect of temperature on enantiomer separation of oxzepam and lorazepam by high-performance liquid chromatography on a β -cyclodextrin derivatized bonded chiral stationary phase. *Journal of Chromatographic Science*, 42, pp. 62-66.
- Houwing, J., Jensen, T. B., van Hateren, S. H., Billiet, H. A. H., van der Wielen, L. A. M. (2003a). Position of salt gradients in ion-exchange SMB. *AIChE Journal*, 49, 03, pp. 665-674.
- Houwing, J., Billiet, H. A. H., van der Wielen, L. A. M. (2003b). Mass-transfer effects during separation of proteins in SMB by size exclusion. *AIChE Journal*, 49, 05, pp. 665-674.

- Jacobson, J., Frenz, J., Horváth, C. (1984). Measurement of adsorption isotherms by liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 316, pp. 53-68.
- Jacobson, J. M., Frenz, J. H., Horváth, C. (1987). Measurement of competitive adsorption isotherms by frontal chromatography. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 26, pp. 43-50.
- James, F., Sepúlveda, M., Charton, F., Quiñones, I., Guiochon, G. (1999). Determination of binary competitive equilibrium isotherms from the individual chromatographic band profiles. *Chemical Engineering Science*, 54, pp. 1677-1696.
- Jim, W., Wankat, P. C. (2005). Two-zone SMB process for binary separation. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 44, pp. 1565-1575.
- Johannsen, M. (2001). Separation of enantiomers of ibuprofen on chiral stationary phases by packed column supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 937, pp. 135-138.
- Juza, M., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2000). Simulated moving-bed chromatography and its application to chirotechnology. *Trends in Biotechnology*, 18, pp 108-118.
- Kaczmarski, K., Gubernak, M., Zhou, D., Guiochon, G. (2003). Application of the general rate model with the Maxwell-Stefan equations for the prediction of the band profiles of the 1-indanol enantiomers. *Chemical Engineering Science*, 58, pp. 2325-2338.
- Kang, G. W., Ko, J. H., Cheong, W. J. (2004). Thermodynamic study of enantioseparation of arylpropionic acids with the chirex 3001 stationary phase. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27, 4, 595-610.
- Kaspereit, M., Lorenz, H., Seidel-Morgenstern, A. (2002a). Coupling of simulated moving bed technology and crystallization to separate enantiomers.

- Fundamentals of Adsorption 7*, International Adsorption Society, Japan, pp. 101-108.
- Kaspereit, M., Jandera, P., Škavrada, M., Seidel-Morgenstern, A. (2002b). Impact of adsorption isotherm parameters on the performance of enantioseparation using simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 944, pp. 249-262.
- Kaspereit, M., Gedicke, K., Zahn, V., Mahoney, A. W., Seidel-Morgenstern, A. (2005). Shortcut method for evaluation and design of a hybrid process for enantioseparations. *Journal of Chromatography A*, 1092, pp. 43-54.
- Katti, A. M., Guiochon, G. (1991). Em "Advances in Chromatography", Giddings, J. C., Grushka, E., Brown, P. R., vol. 31, Cap. 1, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Khattabi, S., Cherrak, D. E., Fischer, J., Jandera, P., Guiochon, G. (2000a). Study of the adsorption behavior of the enantiomers of 1-phenyl-1-propanol on a cellulose-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 877, pp. 95-107.
- Khattabi, S., Cherrak, D., Mihlbachler, K., Guiochon, G. (2000b). Enantioseparation of 1-phenyl-1-propanol by simulated moving bed under linear and nonlinear conditions. *Journal of Chromatography A*, 893, pp. 307-319.
- Kurup, A. S., Hidajat, K., Ray, A. K. (2005). Optimal operation of an industrial-scale parex process for the recovery of p-Xylene from a mixture of C₈ aromatics. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 44, pp. 5703-5714.
- Küsters, E., Spöndin, C. (1996). Influence of temperature on the enantioseparation of rolipram and structurally related racemates on Chiralcel-OD. *Journal of Chromatography A*, 737, pp. 333-337.

- Leão, C. P., Rodrigues, A. E. (2004). Transient and steady-state models for simulated moving bed processes: numerical solutions. *Computers and Chemical Engineering*, 28, pp. 1725-1741.
- Lee, K. N. (2003). Continuous separation of glucose and fructose at high concentrations using two-section simulated moving bed process. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 20, 03, pp. 532-537.
- Lee, H., -J., Xie, Y., Koo, Y. -M., Wang, N., -H. L. (2004). Separation of lactic acid from acetic acid using a four-zone SMB. *Biotechnology Progress*, 20, pp. 179-192.
- Lenz, K., Beste, Y. A., Arlt, W. (2002). Comparison of static and dynamic measurements of adsorption isotherms. *Separation Science and Technology*, 37, 07, pp. 1611-1629.
- Lim, B. G., Ching, C. -B., Tan, R. B. H. (1995). Determination of competitive adsorption isotherms of enantiomers on a dual-site adsorbent. *Separation Technology*, 5, pp. 213-228.
- Lisec, O., Hugo, P. Seidel-Morgenstern, A. (2001). Frontal analysis method to determine competitive adsorption isotherms. *Journal of Chromatography A*, 908, pp. 19-34.
- Lorenz, H., Sheehan, P., Seidel-Morgenstern, A. (2001). Coupling of simulated moving bed chromatography and fractional crystallization for efficient enantioseparation. *Journal of Chromatography A*, 908, pp. 201-214.
- Löwendahl, A. C., Allenmark, S. G. (1997). Liquid chromatographic resolution of cyclic sulfoximides and their sulfoxide precursors on an *N,N'*-diallyl-*L*-tartardiamide-based chiral stationary phase. *Chirality*, 9, pp. 167-172.
- Lucena, S. L. (1999). Modelagem e simulação da separação das proteínas α -lactalbumina e β -lactoglobulina por cromatografia preparativa em resinas trocadoras de ânions utilizando leito móvel simulado. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, Brasil.

- Lucena, S. L., Rosa, P. T. V., Furlan, L. T., Santana, C. C. Em "Engineering and Manufacturing for Biotechnology vol. 4", Focus on Biotechnology, Kluwer Academic Publishers, Boston, 2001.
- Ludemann-Hombourger, O., Bailly, M., Nicoud, R. M. (2000a). Design of a simulated moving bed: Optimal particle size of the stationary phase. *Separation Science and Technology*, 35, 05, pp. 1285-1305.
- Ludemann-Hombourger, O., Nicoud, R. M., Bailly, M. (2000b). The "VARICOL" process: A new multicolumn continuous chromatographic process. *Separation Science and Technology*, 35, 12, pp. 1829-1862.
- Ludemann-Hombourger, O., Pigorini, G., Nicoud, R. M., Ross, D. S., Terfloth, G. (2002). Application of the "varicol" process to the separation of the isomers of the SB-553261 racemate. *Journal of Chromatography A*, 947, pp. 59-68.
- Ma, Z., Wang, N. -H. L. (1997). Standing wave analysis of SMB chromatography: Linear systems. *AIChE Journal*, 43, 10, pp. 2488-2508.
- Maier, N., Franco, P., Linder, W. (2001). Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives. *Journal of Chromatography A*, 906, 3 - 33.
- Maliska, C. L. (2004). Transferência de calor e mecânica dos fluidos computacional. 2ª Edição, LTC Editora.
- Mallmann, T., Burris, B. D., Ma, Z., Wang, N. -H. L. (1998). Standing wave design of nonlinear SMB systems for fructose purification. *AIChE Journal*, 44, 02, pp. 2628-2646.
- Mazzotti, M., Storti, G., Morbidelli, M. (1996). Robust design of countercurrent adsorption separation: 3. Nonstoichiometric systems. *AIChE Journal*, 42, 10, pp. 2784-2796.
- Mazzotti, M., Storti, G., Morbidelli, M. (1997a). Optimal operation of simulated moving bed units for nonlinear chromatographic separations. *Journal of Chromatography A*, 769, pp. 3-24.

- Mazzotti, M., Storti, G., Morbidelli, M. (1997b). Supercritical fluid simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 786, pp. 309-320.
- McCoy, M. (2000). SMB emerges as a chiral technique. *Chemical and Engineering News*, 78, 25, pp. 1-3.
- Miller, L., Grill, C., Yan, T., Dapremont, O., Huthmann, E., Juza, M. (2003). Batch and simulated moving bed chromatography resolution of a pharmaceutical racemate. *Journal of Chromatography A*, 1006, pp. 267-280.
- Minceva, M., Rodrigues, A. L. (2002). Modeling and simulation of a simulated moving bed for separation of *p*-xylene. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 41, pp. 3454-3461.
- Minceva, M., Pais, L.S., Rodrigues, A. L. (2003). Cyclic steady state of simulated moving bed process for enantiomers separation. *Chemical Engineering and Processing*, 42, pp. 93-104.
- Migliorini, C., Mazzotti, M., Zenoni, G., Morbidelli, M. (1998). Continuous chromatographic separation through simulated moving beds under linear and nonlinear conditions. *Journal of Chromatography A*, 827, pp. 161-173.
- Migliorini, C., Mazzotti, M., Zenoni, G., Morbidelli, M. (1999a). Simulated moving-bed units with extra-column dead volume. *AIChE Journal*, 45, 07, pp. 1411-1421.
- Migliorini, C., Gentilini, A., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (1999b). Design of simulated moving bed units under nonideal conditions. *Industrial Engineering and Chemical Research*, 38, 2400-2410.
- Migliorini, C., Mazzotti, M., Zenoni, G., Pedferri, M., Morbidelli, M. (2000). Modeling chromatographic chiral separations under nonlinear competitive conditions. *AIChE Journal*, 46, 08, pp. 1530-1540.
- Migliorini, C., Wendlinger, M., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2001). Temperature gradient operation of a simulated moving bed unit. *Industrial Engineering and Chemical Research*, 40, 2606-2617.

- Migliorini, C., Mazzotti, M., Zenoni, G., Morbidelli, M. (2002). Shortcut experimental method for designing chiral SMB separations. *AIChE Journal*, 48, 01, pp. 69-77.
- Mihlbachler, Fricke, J., Yun, T., A., Seidel-Morgenstern, A., Schmidt-Traub, H., Guiochon, G. (2001). Effect of the homogeneity of the column set on the performance of a simulated moving bed unity: I. Theory. *Journal of Chromatography A*, 908, pp. 49-70.
- Mihlbachler, K., Kaczmarski, K., Seidel-Morgenstern, A., Guiochon, G. (2002a). Measurement and modeling of the equilibrium behavior of the Tröger's base enantiomers on an amylose-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 955, pp. 35-52.
- Mihlbachler, K., Jupke, A., Seidel-Morgenstern, A., Schmidt-Traub, H., Guiochon, G. (2002b). Effect of the homogeneity of the column set on the performance of a simulated moving bed unity: II. Experimental study. *Journal of Chromatography A*, 944, pp. 3-22.
- Mihlbachler, K., Seidel-Morgenstern, A., Guiochon, G. (2004). Detailed study of Tröger's base separation by SMB process. *AIChE Journal*, 50, 03, pp. 611-624.
- Molnár, Z., Nagy, M., Aranyi, A., Hanák, L., Szánya, T., Argyelán, J. (2004). Simulated moving-Bed liquid chromatography with three zones for continuous desalting of organic compounds. *Chromatographia*, 60, pp. S75-S80.
- Molnár, Z., Nagy, M., Aranyi, A., Hanák, L., Argyelán, J., Pencz, I., Szánya, T. (2005). Separation of amino acids with simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1075, pp. 77-86.
- Mun, S., Xie, Y., Wang, N. L. (2003a). Residence time distribution in a size-exclusion SMB for insulin purification. *AIChE Journal*, 49, 08, pp. 2039-2058.

- Mun, S., Xie, Y., Wang, N. L. (2003b). Robust pinched-wave design of a size-exclusion simulated moving-bed process for insulin purification. *Industrial Engineering and Chemical Research*, 42, pp. 3129-3143.
- Michel, M., Epping, A., Jupke, A. Em: Preparative chromatography of fine chemicals and pharmaceutical agents, Shimidt-Traub, H., Willey-VCH Verlag CmbH & Co. KGaA, Wheinheim, Alemanha, 2005.
- Miyabe, K., Suzuki, M. (1992). Cromatography of liquid-phase adsorption on octadecylsilyl-silica gel. *AIChE Journal*, 38, 06, pp. 901-910.
- Miyabe, K., Guiochon, G. (1999). Kinetic study of the mass transfer of S-Tröger base in the system cellulose triacetate and ethanol. *Journal of Chromatography A*, 849, pp. 445-465.
- Miyabe, K., Guiochon, G. (2000). A kinetic study of mass transfer in reversed-phase liquid chromatography on C18-silica gel. *Analytical Chemistry*, 72, pp. 5162-5171.
- Negawa, M., Shoji, F. (1992). Optical resolution by simulated moving-bed adsorption technology. *Journal of Chromatography*, 590, pp.113-117.
- Nicolaos, A., Muhr, L., Gotteland, P., Nicoud, R. M., Bailly, M. (2001a). Application of equilibrium theory to ternary moving bed configurations (four+four, five+four, eight and nine zones): I. Linear case. *Journal of Chromatography A*, 908, 71-86.
- Nicolaos, A., Muhr, L., Gotteland, P., Nicoud, R. M., Bailly, M. (2001b). Application of equilibrium theory to ternary moving bed configurations (four+four, five+four, eight and nine zones): I. Langmuir case. *Journal of Chromatography A*, 908, 87-109.
- Nicoud, R. M. (1999), The separation of optical isomers by simulated moving bed chromatography, Pharmaceutical Technology Europe.

- Nicoud, R. M. (2000). Em "Handbook of bioseparations", Ahuja, S., vol. 2, pp. 475-509.
- Okamoto, Y., Kaida, Y. (1994). Resolution by high-performance liquid chromatography using polysaccharide carbamates and benzoates as chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 666, pp. 403-419.
- Pais, L. S., Loureiro, J. M., Rodrigues, A. E. (1997). Separation of 1,1'-bi-2-naphthol enantiomers by continuous chromatography in simulated moving bed. *Chemical Engineering Science*, 52, 02, pp. 245-257.
- Pais, L. S., Loureiro, J. M., Rodrigues, A. E. (1998a). Separation of enantiomers of a chiral epoxide by simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 827, pp. 215-233.
- Pais, L. S., Loureiro, J. M., Rodrigues, A. E. (1998b). Modeling strategies for enantiomers separation by SMB chromatography. *AIChE Journal*, 44, 03, pp. 561-569.
- Pais, L. S., Rodrigues, A. E. (2003). Design of simulated moving bed and varicol processes for preparative separations with a low number of columns. *Journal of Chromatography A*, 1006, pp. 33-44.
- Pedefferri, M., Zenoni, G., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (1999). Experimental analysis of a chiral separation through simulated moving bed chromatography. *Chemical Engineering Science*, 54, 3735-3748.
- Peper, S., Lübbert, M., Johannsen, M., Brunner, G. (2002). Separation of ibuprofen enantiomers by supercritical fluid simulated moving bed chromatography. *Separation Science Technology*, 37, 11, pp. 2545-2566.
- Piatkowski, W., Antos, D., Gritti, F., Guiochon, G. (2003). Study of the competitive isotherm model and the mass transfer kinetics for a BET binary system. *Journal of Chromatography A*, 1003, pp. 73-89.

- Pynnonen, B. (1998). Simulated moving bed processing: escape from the high-cost box. *Journal of Chromatography A*, 827, pp. 143-160.
- Rajendran, A., Peper, S., Johanssen, M., Mazzotti, M., Morbidelli, M., Brunner, G. (2005). Enantioseparation of 1-phenyl-1-propanol by supercritical fluid-simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1092, pp. 55-64.
- Rekoske, J. A. (2001). Chiral separation. *AIChE Journal*, 47, 01, pp. 2-5.
- Rodrigues, A. E., Lu, Z. P., Loureiro, J. M., Pais, L. S. (1995). Separation of enantiomers of 1a-tetrahydro-3-methoxynaphtha-(2,3b)-oxirane by liquid chromatography: laboratory-scale elution chromatography and modeling of simulated moving bed. *Journal of Chromatography A*, 702, pp. 223-231.
- Rodrigues, A. E., Pais, L. S. (2004). Design of SMB chiral separations using the concept of separation volume. *Separation Science and Technology*, 39, 02, pp. 245-270.
- Rojkovičová, T., Lehotay, J., Krupčík, Fedurcová, A., Čižmárik, J., Armstrong, D. W. (2004). Study of the mechanism of enantioseparation. VII. Effect of temperature on retention of some enantiomers of phenylcarbamic acid derivatives on a teicoplanin aglycone chiral stationary phase. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27, 11, pp. 1653-1670.
- Rouhi, A. M. (2003). Chiral business. *Chemical and Engineering News*, 81, 18, pp. 45-55.
- Rouhi, A. M. (2004). Chiral chemistry. *Chemical and Engineering News*, 82, 24, pp. 47-62.
- Ruthven, D., Ching, C. -B. (1989). Counter-current and simulated counter-current adsorption separation process. *Chemical Engineering Science*, 44, 05, pp. 1011-1038.

- Ruthven, D. M. (1984). Principles of Adsorption and Adsorption Process, Wiley, New York.
- Sah, N., Vallejo, M. C., Ramanathan, S., Golebiewski, K. (2005). Bupivacaine versus L-bupivacaine for labor analgesia via combined spinal-epidural: A randomizes, double-blinded study. *Journal of Clinical Anesthesia*, 17, pp. 91-95.
- Santos, M. A. G. (2004). Separação dos enantiômeros do anestésico cetamina por cromatografia contínua em leito móvel simulado. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, Brasil.
- Santos, M. A. G., Veredas, V., Silva Jr., I. J., Correia, C. D. R., Furlan, L. T., Santana, C. C. (2004). Simulated moving bed adsorption for separation of racemic mixtures. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21, 01, pp. 127-136.
- Sato, R. T. C., Porsani, D. F., Amaral, A. G. V., Shcultz Jr, O. V., C. A. M. G. (2005). Bupivacaína racêmica a 0,5% e mistura com excesso enantiomérico de 50% (S75-R25) a 0,5% no bloqueio do plexo braquial para cirurgia ortopédica. Estudo comparativo. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 55, 2, pp. 165-174.
- Soares, L. F., Barros, A. C. M., Almeida, G. P., Boss, G. L., Oliveira Filho, G. R. (2005). Volume anestésico mínimo para o bloqueio retrobulbar extraconal: Comparação entre soluções a 0,5% de bupivacaína racêmica, de Levobupivacaína e da mistura enantiomérica S75/R25 de bupivacaína. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 55, 3, pp. 263-268.
- Schlauch, M., Frahm, A. W. (2001). A thermodynamic study of the temperature-dependent elution order of cyclic α -amio acid enantiomers on a copper(II)-D-penicillamine chiral stationary phase. *Analytical Chemistry*, 73, pp. 262-266.
- Schramm, H., Kaspereit, M., Kienle, A., Seidel-Morgenstern, A. (2003). Simulated moving bed process with cyclic modulation of the feed concentration. *Journal of Chromatography A*, 1006, pp. 77-86.

- Schulte, M., Ditz, R., Devant, R. M., Kinkel, J. N., Charton, F. (1997). Comparison of the specific productivity of different chiral stationary phases used for simulated moving-bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 769, pp. 93-100.
- Schulte, M., Epping, A., Em: Preparative chromatography of fine chemicals and pharmaceutical agents, Shimidt-Traub, H., Willey-VCH Verlag CmbH & Co. KGaA, Wheinheim, Alemanha, 2005.
- (2001). Preparative enantioseparation by simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 906, pp. 399-416.
- Schulte, M., Strube, J. (2001). Preparative enantioseparation by simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 906, pp. 399-416.
- Seidel-Morgenstern, A., Guiochon, G. (1993a), Modelling of the competitive isotherms and the chromatographic separation of two enantiomers. *Chemical Engineering Science*, 48, 05, pp. 2787-2797.
- Seidel-Morgenstern, A., Guiochon, G. (1993b). Thermodynamics of the adsorption of Tröger's base enantiomers from ethanol on cellulose triacetate. *Journal of Chromatography*, 631, 37-47.
- Seidel-Morgenstern, A. (2004). Experimental determination of single solute and competitive adsorption isotherms. *Journal of Chromatography A*, 1037, pp. 255-272.
- Sioni, H., Riekkola, M. -L., Novotny, M. V. (1992). Chiral separation of basic drugs and quantitation of bupivacaine enantiomers in serum by capillary electrophoresis with modified ciclodextrin buffers. *Journal of Chromatography*, 608, 265-274.

- Silva, V. M. T., Minceva, M., Rodrigues, A. E. (2004). Novel analytical solution for a simulated moving bed in the presence of mass-transfer resistance. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 43, pp. 4494-4502.
- Silva Jr., I. J., Veredas, V., Santos, M. A. G., Santana, C. C., Carpes, M. J. S., Correia, C. R. D. (2006). Cromatografia em leito móvel simulado na produção de substâncias enantiomericamente puras ou enriquecidas em larga escala. *Química Nova*, 29, pp. 1027-1037.
- Silva Jr., I. J., Veredas, V., Carpes, M. J. S., Santana, C. C. (2005a). Chromatographic separation of bupivacaine enantiomers by HPLC: Parameters estimation of equilibrium and mass transfer under linear conditions. *Adsorption*, 11, pp. 123-129.
- Silva Jr., I. J., Santos, M. A. G., Veredas, V., Santana, C. C. (2005b). Experimental determination of chromatographic separation parameters of ketamine enantiomers on MCTA. *Separation and Purification Technology*, 43, pp. 103-110.
- Silva Jr., I. J., Santos, M. A. G., Veredas, V., Santana, C. C. (2005c). Effect of temperature on chiral separation of ketamine enantiomers by high-performance liquid chromatography. *Separation Science and Technology*, 40, pp. 2593-2611.
- Storti, G., Mazzotti, M., Morbidelli, M., Carra, S. (1993). Robust design of binary countercurrent adsorption separation processes. *AIChE Journal*, 39, 3, pp. 471-492.
- Ströhlein, G., Schulte, M., Strube, J. (2003). Hybrid processes: Design method for optimal coupling of chromatography and crystallization units. *Separation Science and Technology*, 38, 14, pp. 3353-3383.
- Suzuki, M. (1990). Adsorption engineering, Kodansha-Elsevier, Tokyo, pp. 179.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J. (1979). Introduction to modern liquid chromatography. New York, John Wiley & Sons, 2nd edition.

- Skogsberg, U. (2001). Some new strategies in chiral stationary phase development. PhD Thesis, Göteborg University, Göteborg, Swedish.
- Skogsberg, U., Allenmark, S. (2001). Determination of enantiomer separation factors by nuclear magnetic resonance spectroscopy and by chiral liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 921, pp. 161-167.
- Skogsberg, U., Handel, H., Sanchez, D., Albert, K. (2004). Comparisons of the interactions between two analytes and two structurally similar chiral stationary phases using high-performance liquid chromatography, suspended-state high-resolution magic angle spinning nuclear magnetic resonance and solid state nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Chromatography A*, 1023, pp. 215-223.
- Sewell, P. A.; Clarke, B.; Chromatographic separations. John Wiley & Sons, 1987.
- Tanaka, P. P., Souza, R. O., Salvalaggio, M. F. O., Tanaka, M. A. A. (2003). Estudo comparativo entre a bupivacaína a 0,5% e a mistura enantiomérica de bupivacaína (S75-R25) a 0,5% em anestesia peridural em pacientes submetidos a cirurgia ortopédica de membros inferiores. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 53, 3, pp. 331-337.
- Toumi, A., Engell, S. O. Ludemann-Hombourger, Nicoud, R. M., Bailly, M. (2003). Optimization of simulated moving bed and varicol processes. *Journal of Chromatography A*, 1006, pp. 15-31.
- USP 27. The United States Pharmacopeia, NF 22, pp. 1358-1359, 2004.
- Veredas, V., Carpes, M. J. S., Duarte, C. R. C., Santana, C. C. (2006). Continuous chromatographic separation of a baclofen precursor (*N*-Boc-4-[*p*-chlorophenyl]-2-pyrrolidone) in a simulated moving bed using a polysaccharide carbamate as chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 119, pp. 156-162.

- Vieria, R. C., Biscaia, E. C. (2001). Direct methods for consistent initialization of DAE systems. *Computers and Chemical Engineering*, 25, pp. 1299-1311.
- Xie, Y. Wu, D., Ma, Z., Wang, N. -H. L. (2000). Extended standing wave design method for simulated moving bed chromatography: linear systems. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 42, pp. 4055-4067.
- Xie, Y., Koo, Y.-M., Wang, N. -H. L. (2001). Preparative chromatographic separation: simulated moving bed and modified chromatography methods. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 6, pp. 363-375.
- Xie, Y., Hritzko, B., Chin, C. Y., Wang, N. -H. L. (2003a). Separation of FTC-ester enantiomers using simulated moving bed. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 42, 11, pp. 4055-4067.
- Xie, Y., Farrenburg, C. A., Chin, C. Y., Mun, S., Wang, N. -H. L. (2003b). Design of SMB for a nonlinear amino acid system with mass-transfer effects. *AIChE Journal*, 49, 11, pp. 2850-2863.
- Zang, Y., Wankat, P. C. (2002). SMB operation strategy - Partial feed. *Industrial Engineering and Chemical Research*, 41, pp. 2504-2511.
- Zenoni, G., Pedferri, M. Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2000). On-line monitoring of enantiomer concentration in chiral simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 888, pp. 73-83.
- Zhang, Z., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2003). Powerfeed operation of simulated moving bed units: changing flow-rates during the switching interval. *Journal of Chromatography A*, 1006, pp. 87-99.
- Zhang, Z., Mazzotti, M., Morbidelli, M. (2004a). Continuous chromatographic process with a small number of columns: Comparison of simulated moving bed with varicol, powerfeed, and modicon. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 21, 02, pp. 454-464.

- Zhang, Z., Morbidelli, M., Mazzotti, M. (2004b). Experimental assessment of powerfeed chromatography. *AIChE Journal*, 50, 03, pp. 625-632.
- Zhou, D., Cherrak, D. E., Kaczmarski, K., Cavazzini, A., Guiochon, G. (2003a). Prediction of the band profiles of the mixtures of the 1-indanol enantiomers from data acquired with single racemic mixture. *Chemical Engineering Science*, 58, pp. 3257-3272.
- Zhou, D., Kaczmarski, K., Guiochon, G. (2003b). Comparison of the binary equilibrium isotherms of the 1-indanol enantiomers on three high-performance liquid chromatography columns of different sizes. *Journal of Chromatography A*, 1015, pp. 73-87.
- Zhong, G., Guiochon, G. (1996). Analytical solution for the linear ideal model of simulated moving bed chromatography. *Chemical Engineering Science*, 51, pp. 4307-4319.
- Wang, X., Ching, C. -B. (2002). Kinetic and equilibrium study of the separation of three chiral center drug, nadolol, by HPLC on a novel perphenyl carbamoylated β -cyclodextrin bonded chiral stationary phase. *Separation Science Technology*, 37, pp. 2567-2586.
- Wang, X., Ching, C. B. (2004). Chiral separation and modeling of the three-chiral center β -blocker drug nadolol by simulated moving bed chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1035, pp. 167-176.
- Wang, X., Ching, C. B. (2005). Chiral separation of β -blocker drug (nadolol) by five-zone simulated moving bed chromatography. *Chemical Engineering Science*, 60, pp. 1337-1347.
- Wang, P., Jiang, S., Liu, D., Jia, G., Wang, Q., Wang, P., Zhou, Z. (2005). Effect of alcohols and temperature on the direct chiral resolutions of fipronil, isocarboxiphos and carfentrazone-ethyl. *Biomedical Chromatography*, 19, pp. 454-458.

- Wankat, P. C. Rate-controlled separations. Chapman & Hall, London, 1994.
- Waters Corporations. HPLC troubleshooting guide, 2002.
- Welty, J. R., Wicks, C. E., Wilson, R. E. Fundamentals of momentum, heat and mass transfer, John Wiley & Sons Inc., 3rd edition, pp. 494-496, 1984.
- Weng, W., Zeng, Q., Yao, B., Wang, Q., Li, S. (2005a). Influence of mobile phase composition on the apparent thermodynamic characteristics in liquid chromatographic enantioseparation on a tartardiamide-based stationary phase. *Chromatographia*, 61, pp. 561-566.
- Weng, W., Wang, Q. H., Yao, B. X., Zeng, Q. L. (2005b). Enantioseparation of amino acid derivatives on an immobilized network polymer derived from L-tartaric acid. *Journal of Chromatography A*, 1042, pp. 81-87.
- Wongso, F., Hidajat, K., Ray, A. K. (2005). Improved performance for continuous separation of 1,1'-bi-2-naphthol racemate based on simulated moving bed technology. *Separation and Purification Technology*, 46, 168-191.
- Yu, H. W., Ching, C. -B. (2002). Optimization of a simulated moving bed based on an approximated Langmuir model. *AIChE Journal*, 48, 10, pp. 2240-2246.
- Yu, H. W., Ching, C. -B. (2003). Modeling, simulation and operation performance of a simulated moving bed for enantioseparation of fluoxetine on new β -cyclodextrin columns. *Adsorption*, 9, pp. 213-223.