

**SÉRGIO HENRIQUES SARAIVA**

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE PROCESSOS DE  
CROMATOGRAFIA PREPARATIVA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2003

**SÉRGIO HENRIQUES SARAIVA**

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE PROCESSOS DE  
CROMATOGRAFIA PREPARATIVA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 30 de maio de 2003.

---

Prof. José Antonio Marques Pereira  
(Conselheiro)

---

Prof<sup>a</sup>. Jane Sélia dos Reis Coimbra  
(Conselheira)

---

Prof. Fábio Yamashita

---

Prof. Luis Henrique Mendes Silva

---

Luis Antonio Minim  
(Orientador)

*À minha mãe,  
minha esposa  
e todos os familiares.*

## AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade oferecida.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia pelo apoio na realização deste trabalho.

À EMBRAPA, pela minha liberação para a conclusão deste trabalho.

À CAPES e à FAPEMIG, pelo auxílio financeiro.

Ao professor Luis Antonio Minim, pela orientação, pelo apoio, pelos ensinamentos, pela amizade e paciência.

Aos professores José Antônio Marques Pereira e Jane Sélia dos Reis Coimbra, pelas valiosas contribuições como conselheiros, pelos ensinamentos, pelo apoio e amizade.

Aos amigos e companheiros de curso Renata Cristina Ferreira e Edwin Elard Garcia Rojas pela amizade e contribuição na realização deste trabalho.

Aos amigos Abraham, Rafael, William, Paulo, Jane, André, Luciana, Carol e Eduardo, pelo convívio harmonioso e companheirismo.

A todos aqueles que de alguma outra forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## CONTEÚDO

Resumo .....	vii
Abstract .....	viii
Introdução Geral .....	1
Modelagem e Simulação do Processo de Adsorção das Proteínas do Soro, $\alpha$ -Lactoalbumina e $\beta$ -Lactoglobulina, em Coluna de Troca Iônica .....	2
Resumo .....	2
Summary .....	2
Introdução .....	3
Modelo matemático .....	5
Estratégia de solução numérica do modelo .....	9
Determinação dos parâmetros de transferência de massa .....	11
Coeficiente de dispersão axial .....	11
Coeficiente de transferência de massa .....	12
Coeficiente de difusão .....	12
Material e métodos .....	13
Resultados e discussão .....	14
Efeito do número de Peclet .....	14
Efeito do número de Biot .....	15
Efeito do parâmetro $\eta$ .....	16
Comparação de curvas simuladas com curvas experimentais ..	17
Conclusões .....	24
Símbolos usados .....	25
Referências bibliográficas .....	27
Modelagem e Simulação do Processo de Cromatografia de Exclusão Molecular para Purificação das Proteínas $\alpha$ -Lactoalbumina e $\beta$ - Lactoglobulina .....	29

Resumo .....	29
Summary .....	29
Introdução .....	30
Modelo matemático .....	32
Estratégia de solução numérica do modelo .....	35
Determinação dos parâmetros de transferência de massa .....	37
Coeficiente de dispersão axial .....	37
Coeficiente de transferência de massa .....	37
Coeficiente de difusão .....	38
Material e métodos .....	38
Resultados e discussão .....	39
Efeito dos parâmetros de transferência de massa na formação dos picos .....	39
Efeito do número de Peclet .....	39
Efeito do número de Biot .....	41
Efeito do parâmetro $\eta$ .....	43
Comparação com dados experimentais .....	45
Avaliação dos desvios na estimativa dos parâmetros de transferência de massa .....	47
Conclusões .....	51
Símbolos usados .....	52
Referências bibliográficas .....	53
 Modelagem e Simulação do Processo de Adsorção das Proteínas do Soro, $\alpha$ -Lactoalbumina e $\beta$ -Lactoglobulina, em Tanques Agitados .....	 55
Resumo .....	55
Summary .....	55
Soro de queijo .....	56
Alfa-lactoalbumina .....	57
Beta-lactoglobulina .....	57
Cromatografia preparativa .....	58
Adsorção .....	60

Modelo de transferência de massa para adsorção em tanques agitados .....	61
Isoterma de adsorção .....	63
Estratégia de solução numérica do modelo .....	64
Simulações .....	65
Influência do coeficiente de difusão .....	65
Influência do coeficiente de transferência de massa .....	67
Conclusões .....	68
Símbolos usados .....	70
Referências bibliográficas .....	71
SimuCromWin: Um Programa Computacional Para a Simulação de Processos Cromatográficos .....	73
Resumo .....	73
Summary .....	73
Introdução .....	74
Modelos .....	75
Adsorção .....	75
Isotermas de equilíbrio .....	75
Modelo de transferência de massa para adsorção em tanques agitados .....	76
Estratégia de solução numérica do modelo para tanque agitado .....	79
Modelo de transferência de massa para adsorção em leito fixo .....	80
Estratégia de solução numérica do modelo de adsorção em leito fixo .....	83
Cromatografia de exclusão molecular .....	85
Estratégia de solução numérica do modelo de CEM ....	88
Parâmetros de transferência de massa .....	89
A interface do usuário .....	90
Exemplos .....	93

Conclusões .....	96
Símbolos usados .....	97
Referências bibliográficas .....	99
Conclusões Gerais .....	101



## RESUMO

SARAIVA, Sérgio Henriques, D.S., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2003. **Modelagem e Simulação de Processos de Cromatografia Preparativa**. Orientador: Luis Antonio Minim. Conselheiros: Jane Sélia dos Reis Coimbra e José Antônio Marques Pereira.

Neste trabalho foi desenvolvido um programa computacional, com interface amigável ao usuário, que simula os processos cromatográficos de adsorção em tanque agitado, adsorção em coluna de leito fixo e exclusão molecular em coluna de leito fixo. O programa utiliza modelos de transferência de massa que consideram resistência à transferência de massa no filme, difusão dentro da partícula e, no caso de processos em coluna, dispersão axial. Nos processos de adsorção, o modelo utilizado pelo programa considera equilíbrio instantâneo entre a partícula e o líquido dentro da partícula. O modelo de equilíbrio usado é o modelo de Langmuir não competitivo. O programa foi utilizado para o estudo do processo de adsorção das proteínas do soro,  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, por uma resina de troca iônica empacotada em uma coluna de leito fixo, e mostrou-se eficiente na simulação desse processo. Por meio do programa também foi possível simular, com boa precisão, o processo de purificação dessas proteínas por cromatografia de exclusão molecular após estas terem sido fracionadas por sistemas aquosos bifásicos. Além disso, o programa possibilitou a simulação da cinética de transferência de massa do processo de adsorção dessas mesmas proteínas por uma resina de troca iônica utilizando o modelo de adsorção em tanque agitado. A interface gráfica e a visualização do processo de separação ou de adsorção são características que tornam o programa especialmente atrativo para profissionais que trabalham com cromatografia preparativa.

## ABSTRACT

SARAIVA, Sérgio Henriques, D.S., Universidade Federal de Viçosa, May 2003.

**Modeling and Simulation of Preparative Chromatographic Processes.**

Advisor: Luis Antonio Minim. Committee members: Jane Sélia dos Reis Coimbra and José Antônio Marques Pereira.

In this work was developed a computational program with a friendly user interface that simulates the chromatographic processes of adsorption in stirred tank, adsorption in fixed bed column and size exclusion in fixed bed column. The software uses mass transfer models that consider mass transfer resistance in the film, diffusion inside of the particle and, in the case of processes in column, axial dispersion. The models used for the software in the adsorption processes consider instantaneous equilibrium between the particle and the liquid inside of the particle. It was used the noncompetitive equilibrium model of Langmuir. The software was used for the study of the adsorption process of whey proteins,  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin, by an ionic exchange resin packed in a fixed bed column, and the model revealed efficient in the simulation of this process. By means of the software also it was possible to simulate accurately the purification process of these proteins by size exclusion chromatography after these to have been fractionate by aqueous two-phase systems. Moreover, it was possible to simulate the mass transfer kinetic of the adsorption process of these same proteins by an ionic exchange resin using the adsorption model to stirred tank. The graphical interface and the visualization of the adsorption or separation processes are characteristics that become the software especially attractive to professionals who work with preparative chromatography.

## **Introdução geral**

Cromatografia é um processo de separação bastante utilizado pelas indústrias química, farmacêutica, petrolífera e de alimentos. É a técnica de purificação mais empregada na indústria biotecnológica. Cromatografia tem sido amplamente utilizada na purificação de antibióticos, aminoácidos, peptídeos, proteínas, hormônios, anticorpos monoclonais, vacinas e outros materiais biologicamente ativos. O processo de cromatografia tem encontrado aplicação na área de alimentos tais como o tratamento de sucos de frutas, vinhos e óleos vegetais. Cromatografia tem sido usada na purificação de produtos como vitaminas e ácido cítrico.

O processo de cromatografia deve ser modelado com boa precisão, objetivando uma melhor compreensão da dinâmica do processo, para otimização e aumento de escala. O intervalo de validade do modelo deve ser amplo o suficiente para a aplicação específica. Estudos experimentais utilizando cromatografia em escala preparativa são caros e complexos. A simulação desses sistemas usando programas computacionais pode ser um método eficiente e econômico para otimização e aumento de escala. Embora alguns experimentos sejam requeridos, o uso da modelagem computacional e da simulação numérica pode reduzir bastante o número de experimentos necessários, contribuindo assim para a economia de tempo e dinheiro.

Neste trabalho foi desenvolvido um programa computacional com interface gráfica amigável ao usuário que simula os processos cromatográficos de adsorção em tanques agitados, adsorção em leito fixo e cromatografia de exclusão molecular em leito fixo. Avaliou-se o processo de adsorção das proteínas do soro,  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, por uma resina de troca iônica em uma coluna de leito fixo. Estudou-se também o processo de purificação destas proteínas por cromatografia de exclusão molecular. Além disso, estudou-se a cinética de adsorção dessas proteínas em uma resina de troca iônica por meio da simulação de um processo de adsorção em tanques agitados.

# **Modelagem e Simulação do Processo de Adsorção das Proteínas do Soro, $\alpha$ -Lactoalbumina e $\beta$ -Lactoglobulina, em Coluna de Troca Iônica**

## **Resumo**

Implementou-se um programa computacional com um procedimento numérico para a solução do modelo de adsorção por troca iônica em leito fixo. O modelo foi capaz de simular, com um tempo de simulação variando de 30 segundos a pouco mais de três minutos, a adsorção simultânea das proteínas do soro  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg) em uma resina de troca iônica. A simulação de curvas de ruptura para diferentes valores de vazão da fase móvel e de concentração dos solutos na alimentação mostrou que o modelo foi capaz de prever de forma adequada o processo de adsorção, quando comparado com as curvas de ruptura experimentais. Correlações empíricas foram utilizadas para estimar os parâmetros de transferência de massa envolvidos no modelo. Uma análise paramétrica mostrou que uma estimativa acurada do coeficiente de difusão e do coeficiente de transferência de massa é importante para uma eficiente simulação do sistema cromatográfico estudado.

## **Summary**

A computational program with a numerical procedure to obtain the solution of the ionic exchange adsorption model in fixed bed was implemented. The model was capable to simulate, with a simulation time varying of 30 seconds to few more than three minutes, the simultaneous adsorption of whey proteins  $\alpha$ -lactalbumin ( $\alpha$ -la) and  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -lg) in an ionic exchange resin. The simulation of breakthrough curves for different values of flow rate of the mobile phase and values of concentration of the solutes in the feeding showed that the model was capable to predict adequately the adsorption process, when compared with the experimental breakthrough curves. Empirical correlations were used to estimate mass transfer parameters involved in the model. A parametric analysis showed that a accurate estimation of the diffusion coefficient and of the mass transfer coefficient is important for an efficient simulation of the studied chromatographic system.

## Introdução

O soro de queijo é um produto biológico proveniente das indústrias de laticínios e possui em sua composição substâncias como peptídeos, aminoácidos, lactose, ácido láctico, proteínas, resíduos de caseínas e de gordura do leite e minerais. A principal aplicação para o soro do leite tem sido na alimentação animal, no entanto, alguns trabalhos têm sido dedicados na recuperação de importantes componentes do soro, como as proteínas, que uma vez separados e purificados adequadamente, podem ser utilizados nas indústrias de alimentos e farmacêutica (Carrère, 1993). As indústrias de alimentos exploram as propriedades funcionais e físico-químicas das proteínas tais como absorção e ligação de água, capacidade de formação de gel, elasticidade, emulsificação entre outras, na produção de alimentos processados como carnes, pães, biscoitos, cereais matinais, massas, produtos de confeitaria, queijos, iogurtes e sorvetes (Cayot e Lorient, 1997).

A Tabela 1 apresenta a composição protéica do soro bovino. As proteínas que ocorrem em maior quantidade são a  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e a  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg). Elas representam aproximadamente 70% da quantidade de proteínas no soro e são responsáveis pelas propriedades de hidratação, formação de gel e propriedades relacionadas a atividades superficiais (propriedade emulsificante e espumante) (Cayot e Lorient, 1997).

Tabela 1 – Composição protéica do soro de leite bovino

Proteína	Concentração média no soro (g/L)	Massa Molar (kDa)	Ponto isoelétrico
$\beta$ -Lactoglobulina	3-4	18,4	5,2
$\alpha$ -Lactoalbumina	1,5	14,2	4,7-5,1
Albumina do soro	0,3-0,6	69	4,9
Imunoglobulinas	0,6-0,9	150-900	5,8-7,3
Lactoperoxidase	0,06	78	9,6
Lactoferrina	0,05	78	8,0
Protease-peptona	0,5	4-20	

Fonte: McKenzey (1970).

Indústrias em todo o mundo processam anualmente milhões de toneladas de produtos protéicos gerando uma grande quantidade de resíduos ricos em proteínas que, por apresentarem alto valor biológico, têm despertado uma crescente necessidade de aproveitá-los para fins de nutrição humana ou animal. Além disso, a produção de proteínas com funções terapêuticas, entre outras, revela a necessidade de se desenvolver, a custos cada vez menores, processos biotecnológicos eficientes para a recuperação, separação e purificação dessas proteínas a partir do meio onde foram produzidas (Atkinson e Sainter, 1982).

A grande maioria dos processos de purificação de proteínas envolve pelo menos um passo cromatográfico. Geralmente, cromatografia é a etapa chave para o sucesso de um processo de purificação (Simpson, 1994). O grande sucesso das separações cromatográficas de proteínas é a sua habilidade de atingir elevado grau de pureza a partir de misturas com reduzidas concentrações dos compostos de interesse (Boschetti e Coffman, 1994). O desenvolvimento de métodos e técnicas para a separação e purificação de macromoléculas biológicas, como as proteínas, tem sido um pré-requisito importante para muitos dos avanços feitos pela biociência e pela biotecnologia nos últimos anos (Ersson et al., 1998). Cromatografia é uma técnica de purificação bastante utilizada pelas indústrias química, farmacêutica, petrolífera e de alimentos. É a técnica de purificação mais empregada na indústria biotecnológica (Ghose e Cramer, 2001). Essa técnica tem sido muito utilizada na purificação de antibióticos, aminoácidos, peptídeos, proteínas, hormônios, anticorpos, vacinas e outros materiais biologicamente ativos. O processo de cromatografia tem encontrado aplicação na área de alimentos tais como o tratamento de sucos de frutas, vinhos e óleos vegetais e na purificação de xarope de frutose obtido do amido de milho por tratamento enzimático. Ela tem sido usada na purificação de produtos como vitaminas, ácido cítrico e produtos agrícolas (Shuey, 1990; Spieker et al., 1998).

Vários métodos de cromatografia preparativa para o fracionamento de proteínas do soro têm sido relatados. Cromatografia de troca aniônica em QMA-Spherosil foi usada para concentrar as proteínas do soro e separá-las da lactose, por meio da eluição das proteínas adsorvidas usando ácido clorídrico (Skudder, 1985). Hahn et al. (1997) fracionaram as proteínas do soro utilizando

cromatografia de troca catiônica. Ye et al. (2000) isolaram lactoferrina, lactoperoxidase,  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg do soro bovino usando um trocador catiônico e um trocador aniônico em seqüência.

Quando se aplica uma operação cromatográfica para um novo sistema ou quando se deseja aumentar a escala do processo, é comum a realização de numerosos experimentos. Como geralmente os produtos são valiosos e disponíveis somente em pequenas quantidades, os experimentos são caros para serem conduzidos. Isto é especialmente verdadeiro para a separação de proteínas. Dessa forma, torna-se necessário prever o desempenho do processo por meio da modelagem matemática e da simulação computacional para minimizar o número de experimentos requeridos (Kempe et al., 1999). Estudos experimentais usando solutos biológicos são caros e complexos. A simulação desses sistemas usando modelos computacionais pode ser uma alternativa eficiente e econômica para propostas de otimização e de aumento de escala. Embora alguns experimentos ainda sejam necessários, a modelagem computacional e a simulação numérica podem reduzir amplamente o número de experimentos (Spieker et al., 1998).

O objetivo desse trabalho é modelar o processo de adsorção das proteínas do soro,  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg, pela resina de troca aniônica Accel Plus QMA<sup>®</sup> empacotada em uma coluna de leito fixo.

### **Modelo matemático**

O processo de cromatografia envolve uma intrincada combinação de fenômenos complexos de origens hidrodinâmica, termodinâmica e cinética, que freqüentemente interagem entre si. O modelo da taxa geral considera simultaneamente todas as possíveis contribuições à cinética de transferência de massa, que são a dispersão axial, a resistência à transferência de massa no filme externo, a difusão intrapartícula e a taxa de adsorção-dessorção (Guiochon et al., 1994). De acordo com Gu et al. (1993), um modelo de taxa geral multicomponente consiste de um sistema de equações diferenciais parciais acopladas com dois conjuntos de equações de balanço de massa na fase móvel e na partícula para cada componente, respectivamente. O sistema transiente de

equações diferenciais parciais torna-se não linear se qualquer isoterma não linear ou cinética não linear estiver envolvida nele.

As seguintes considerações são necessárias para a formulação do modelo:

- 1) O processo multicomponente em leito fixo é isotérmico.
- 2) O leito é empacotado com adsorventes porosos que são esféricos e de tamanho uniforme.
- 3) Os gradientes de concentração na direção radial do leito são desprezados.
- 4) Existe equilíbrio local para cada componente entre a superfície dos poros e o fluido estagnado nos macroporos.
- 5) O coeficiente de transferência de massa e o coeficiente de difusão são constantes e independentes dos efeitos de mistura dos componentes.

Com essas considerações, as seguintes equações podem ser formuladas a partir do balanço de massa diferencial para cada componente na fase móvel e na partícula, respectivamente:

$$-D_{bi} \frac{\partial^2 C_{bi}}{\partial Z^2} + v \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} + \frac{\partial C_{bi}}{\partial t} + \frac{3k_i(1-\varepsilon_b)}{\varepsilon_b R_p} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) = 0 \quad (1)$$

$$(1-\varepsilon_p) \frac{\partial C_{pi}^s}{\partial t} + \varepsilon_p \frac{\partial C_{pi}}{\partial t} - \varepsilon_p D_{pi} \left[ \frac{1}{R^2} \frac{\partial}{\partial R} \left( R^2 \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} \right) \right] = 0 \quad (2)$$

com as seguintes condições iniciais e de contorno:

$$t = 0 \Rightarrow C_{bi} = C_{bi}(0, Z) \quad (3)$$

$$t = 0 \Rightarrow C_{pi} = C_{pi}(0, R, Z) \quad (4)$$

$$Z = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = \frac{v}{D_{bi}} (C_{bi} - C_{fi}(t)) \quad (5)$$



$$Z = L \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = 0 \quad (6)$$

$$R = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = 0 \quad (7)$$

$$R = R_p \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = \frac{k_i}{\varepsilon_p D_{pi}} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) \quad (8)$$

As Equações (1) e (2) são acopladas via  $C_{pi, R=R_p}$  que é a concentração do componente  $i$  na superfície da partícula. Na Eq. (2),  $C_{pi}^s$  é a concentração do componente  $i$  na fase sólida do adsorvente com base na unidade de volume do sólido, excluindo os poros. Ela está diretamente associada com as isotermas de adsorção que estão acopladas ao sistema de equações diferenciais parciais com base na consideração (4). As concentrações  $C_{bi}$  e  $C_{pi}$  são baseadas na unidade de volume da fase móvel.

Utilizando os termos adimensionais:

$$c_{bi} = \frac{C_{bi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi} = \frac{C_{pi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi}^s = \frac{C_{pi}^s}{C_{0i}}; \quad r = \frac{R}{R_p}; \quad z = \frac{Z}{L}; \quad \tau = \frac{vt}{L};$$

$$Pe_{Li} = \frac{vL}{D_{bi}}; \quad Bi_i = \frac{k_i R_p}{\varepsilon_p D_{pi}}; \quad \eta_i = \frac{\varepsilon_p D_{pi} L}{R_p^2 v}; \quad \xi_i = \frac{3Bi_i \eta_i (1 - \varepsilon_b)}{\varepsilon_b}$$

O sistema de equações diferenciais parciais pode ser transformado nas seguintes formas adimensionais:

$$-\frac{1}{Pe_{Li}} \frac{\partial^2 c_{bi}}{\partial z^2} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} + \xi_i (c_{bi} - c_{pi, r=1}) = 0 \quad (9)$$

$$\frac{\partial}{\partial \tau} [(1 - \varepsilon_p) c_{pi}^s + \varepsilon_p c_{pi}] - \eta_i \left[ \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} \right) \right] = 0 \quad (10)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno adimensionalizadas:

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{bi} = c_{bi}(0, z) \quad (11)$$

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{pi} = c_{pi}(0, r, z) \quad (12)$$

$$z = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = \text{Pe}_{Li} \left( c_{bi} - \frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} \right) \quad (13)$$

$$z = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = 0 \quad (14)$$

$$r = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = 0 \quad (15)$$

$$r = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = \text{Bi}_i (c_{bi} - c_{pi, r=1}) \quad (16)$$

A condição de contorno na entrada da coluna (equação 13) depende do modo de operação da coluna.

Para adsorção frontal:

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} = 1 \quad (17)$$

Para eluição:

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} = \begin{cases} 1, & \text{se } 0 \leq \tau \leq \tau_{imp} \\ 0 & \text{em caso contrário} \end{cases} \quad (18)$$

Para deslocamento, após a introdução da amostra (na forma de adsorção frontal):

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} = \begin{cases} 0, & \text{se } i \text{ é um componente da amostra} \\ 1, & \text{se } i \text{ é um deslocador} \end{cases} \quad (19)$$

Todas as concentrações adimensionais são baseadas em  $C_{0i}$ , que é igual ao valor máximo do perfil de alimentação  $C_{fi}(\tau)$ .

### Estratégia de solução numérica do modelo

A Equação (9) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $z$ , utilizando a técnica de diferenças finitas centrais com  $n$  nós ao longo de  $z$ . A equação (10) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $r$ , pelo método da colocação ortogonal, utilizando os polinômios simétricos definidos por Finlayson (1980), com dois pontos de colocação interior. Essas discretizações geraram as seguintes equações diferenciais ordinárias:

Para a fase móvel:

- Nó na entrada da coluna:

$$\left. \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \right|_1 = \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} c_{bi}|_2 + \xi_i c_{pi}|_1^3 + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} \right) c_{bi}|_1 \quad (20)$$

- Nós interiores da coluna ( $j = 2; 3; \dots; n - 1$ ):

$$\frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \Big|_j = \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} - \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi} \Big|_{j+1} + \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi} \Big|_{j-1} + \xi_i c_{pi} \Big|_j^3 - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi} \Big|_j \quad (21)$$

- Nó na saída da coluna:

$$\frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \Big|_n = \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} \right) c_{bi} \Big|_{n-1} + \xi_i c_{pi} \Big|_n^3 - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi} \Big|_n \quad (22)$$

Para a partícula:

- Primeiro ponto de colocação interior ( $r \cong 0,5385$ ):

$$\left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right) \Big|_j^1 = -13,6 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^1 + 20,433 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^2 - 6,833 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^3 \quad (23)$$

- Segundo ponto de colocação interior ( $r \cong 0,9062$ ):

$$\left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right) \Big|_j^2 = 14,57 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^1 - 91,4 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^2 + 76,83 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^3 \quad (24)$$

- O valor de  $C_{pi} \Big|_j^3$  (concentração na superfície da partícula) é obtido a partir da condição de contorno em  $r = 1$ :

$$C_{pi} \Big|_j^3 = \frac{\text{Bi}_i}{14 + \text{Bi}_i} c_{bi} \Big|_j - \frac{0,9483}{14 + \text{Bi}_i} c_{pi} \Big|_j^1 + \frac{14,9483}{14 + \text{Bi}_i} c_{pi} \Big|_j^2 \quad (25)$$

O índice subscrito após as barras indica o nó ao longo de  $z$  e o índice sobrescrito o ponto de colocação ortogonal (1 e 2 são pontos interiores e 3 é a superfície da partícula, ou seja,  $r = 1$ ). Nas Equações (23) a (25),  $j$  deve variar de

1 a  $n$ . Assim, foram geradas  $n$  equações diferenciais ordinárias para a fase móvel e  $2n$  equações para a partícula, ou seja,  $3n$  equações diferenciais ordinárias para cada soluto, totalizando  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias, sendo  $N_s$  o número de solutos. As concentrações  $C_{pi}^s$  e  $C_{pi}$  estão relacionadas pela isoterma de equilíbrio. As  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias resultantes foram resolvidas simultaneamente utilizando o método de Euler. Para evitar problemas relacionados a instabilidade e convergência, adotou-se o critério de diminuir o incremento no tempo ( $\Delta\tau$ ) e/ou aumentar o número de nós em  $z$  ( $n$ ) sempre que algum valor de concentração  $C_{bi}$  estivesse fora do seu domínio com uma determinada tolerância. Neste trabalho isso foi feito sempre que  $C_{bi}$  estivesse fora do intervalo  $[-0,001; 1,001]$ . Além disso, o perfil de concentração na fase móvel ao longo da coluna foi acompanhado visualmente de forma gráfica durante todo o tempo da simulação, de forma a monitorar quaisquer oscilações que porventura ocorressem. Isso foi implementado em um programa desenvolvido em Visual Basic 6.0. Todas as simulações foram realizadas em um AMD Athlon® 750 MHz. O tempo gasto nessas simulações variou de 30 segundos a pouco mais de 3 minutos.

### **Determinação dos parâmetros de transferência de massa**

Correlações empíricas são disponíveis para estimar parâmetros desconhecidos descrevendo difusão, dispersão axial e resistência à transferência de massa. Essas correlações são normalmente expressas usando números adimensionais.

### **Coefficiente de dispersão axial**

Os vários efeitos complexos que levam à mistura axial são combinados dentro de um único coeficiente de dispersão axial. Esse coeficiente de dispersão axial pode ser determinado a partir de experimentos ou ser estimado usando correlações empíricas, como a apresentada por Chung e Wen (1968). Essa correlação tem sido amplamente utilizada e é aplicável tanto para leito fixo

quanto para leito fluidizado (Spieker, 1998). Ela correlaciona o número de Peclet como:

$$Pe_L = \frac{\nu L}{D_b} \frac{L}{2R_p \varepsilon_B} (0,2 + 0,011 Re^{0,48}) \quad (26)$$

Sendo o número de Reynolds, Re, definido como:

$$Re = \frac{2R_p \varepsilon_B \nu \rho}{\mu} \quad (27)$$

### **Coefficiente de transferência de massa**

A resistência à transferência de massa representada por um filme hipotético em torno da partícula necessita do coeficiente de transferência de massa no filme,  $k_i$ , para cada componente. Usualmente, as correlações dão uma expressão para o coeficiente  $k_i$  ou o número de Sherwood, Sh, como na equação usada por Truei et al. (1992):

$$Sh = \frac{k_i 2R_p}{D_{pi}} = 2 + 1,45 Re^{1/2} Sc^{1/3} \quad (28)$$

sendo o número de Schmidt, Sc, definido como:

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D_{pi}} \quad (29)$$

### **Coefficiente de difusão**

Para modelos que consideram difusão na matriz cromatográfica, como o modelo da taxa geral, é necessário um coeficiente de difusão para cada componente. Coeficientes de difusão para a difusão livre em líquidos são da ordem de  $10^{-5} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ . Coeficientes de difusão de proteínas em matrizes

cromatográficas são da ordem de  $10^{-7} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ . A predição dos coeficientes de difusão para sistemas multicomponente é difícil, especialmente para soluções concentradas não ideais. Young et al. (1980) apresentaram a seguinte correlação para proteínas:

$$D_{pi} = 8,31 \cdot 10^{-8} \frac{T}{\mu M_i^{1/3}} \quad (30)$$

$D_{pi}$  em  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ , M é a massa molar da proteína em g, T é a temperatura em K e  $\mu$  é a viscosidade do solvente em cP. Essa correlação apresenta bons resultados para propósitos de engenharia, pois 75% das 301 proteínas estudadas têm um coeficiente de difusão dentro de um intervalo de 20% dos valores preditos por ela (Young et al., 1980).

## Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos em uma coluna de 0,5 cm de diâmetros interno por 3 cm de comprimento, empacotada com a resina Accel Plus QMA<sup>®</sup> (diâmetro médio das partículas de 46  $\mu\text{m}$  e densidade da partícula seca de 2,32 mg/mL). As proteínas  $\alpha$ -la e a  $\beta$ -lg foram utilizadas a partir de um isolado protéico de soro (Davisco<sup>®</sup>). Os experimentos de adsorção foram realizados no sistema de cromatografia ÄKTA Purifier (Pharmacia<sup>®</sup>). Para a fase móvel foi utilizada uma solução tampão com pH 7,6 e força iônica 0,05M elaborada a partir de uma solução de Tris (Tris-hidroximetil-aminometano; Merck<sup>®</sup> - Massa Molar = 121,14 g) e HCl. A quantificação das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg foi feita conforme Ferreira (2001). As porosidades do leito e da partícula foram determinadas por Ferreira (2001) e seus valores são 0,53 e 0,63, respectivamente. Para descrever o equilíbrio foi usada a isoterma de adsorção do tipo Langmuir (1916). Essa isoterma pode ser escrita na forma:

$$C_{pi}^S = \frac{q_m C_{pi}}{k_d + C_{pi}} \quad (31)$$

Os parâmetros das isotermas para as proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg adsorvidas na resina Accel Plus QMA<sup>®</sup> foram obtidos por Ferreira (2001) e são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros da isoterma de Langmuir

Parâmetro \ Proteína	$\alpha$ -lactoalbumina	$\beta$ -lactoglobulina
$q_m$ (mg/g)	71,48	179,23
$k_d$ (mg/mL)	1,08	3,71

## Resultados e Discussão

### Efeitos dos parâmetros de transferência de massa nas curvas de ruptura

Uma análise de sensibilidade dos parâmetros no modelo pode indicar quais parâmetros são relativamente importantes e que devem ser estimados com maior precisão e quais parâmetros não requerem uma estimativa tão rígida

### Efeito do número de Peclet

O número de Peclet está relacionado com a dispersão axial. Quando  $Pe_L$  tende a infinito, a dispersão axial torna-se desprezível, indicando a existência de um escoamento do tipo empistonado. A influência do número de Peclet nas curvas de ruptura da  $\beta$ -lg e da  $\alpha$ -la é mostrada na Figura 1 e na Figura 2, respectivamente. Nessas simulações os parâmetros  $Bi$  e  $\eta$  foram fixos e iguais a 5. Pode-se observar que para valores pequenos de  $Pe_L$ , a ruptura ocorre de forma mais suave que para valores maiores de  $Pe_L$ . Observa-se ainda que a curva de ruptura para  $Pe_L$  igual a 200 é muito semelhante à curva para  $Pe_L$  igual a 1500, indicando que para valores maiores que 200, uma variação no  $Pe_L$  praticamente não altera o resultado da simulação.



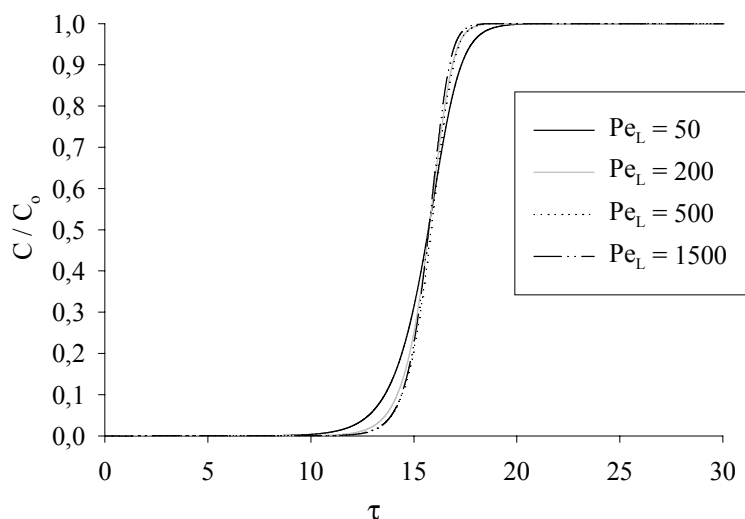


Figura 1 – Efeito do número de Peclet sobre as curvas de ruptura da  $\beta$ -lg.

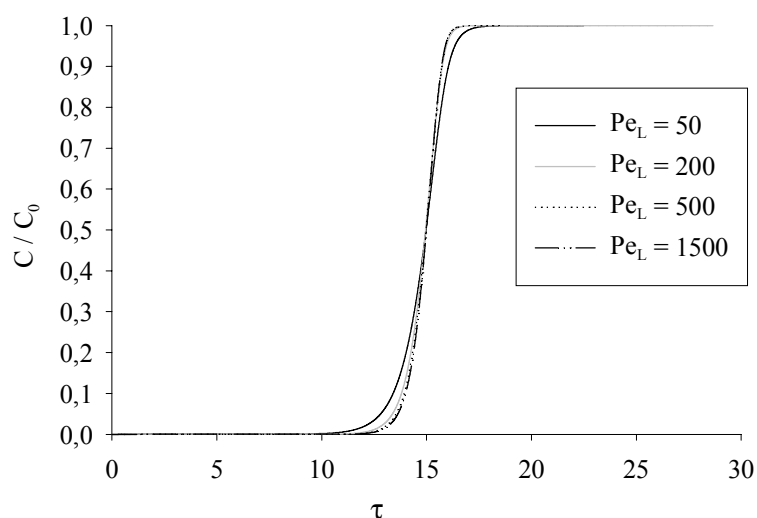


Figura 2 – Efeito do número de Peclet sobre as curvas de ruptura da  $\alpha$ -la.

### Efeito do número de Biot

O número de Biot está relacionado com a razão entre a resistência à transferência de massa no filme e o coeficiente de difusão intrapartícula. Valores altos de Biot indicam que o processo de transferência de massa é limitado pela difusão intrapartícula. A influência do número de Biot nas curvas de ruptura da  $\beta$ -lg e da  $\alpha$ -la é mostrada nas Figuras 3 e 4, respectivamente. Nessas simulações os parâmetros  $Pe_L$  e  $\eta$  foram fixos e iguais a 250 e 5, respectivamente. Observa-se que para valores menores de  $Bi$ , a ruptura inicia-se mais rapidamente que para valores maiores. Nota-se ainda que a influência de  $Bi$  sobre a ruptura da  $\beta$ -lg e da  $\alpha$ -la torna-se praticamente insignificante quando  $Bi$  é maior que 20.

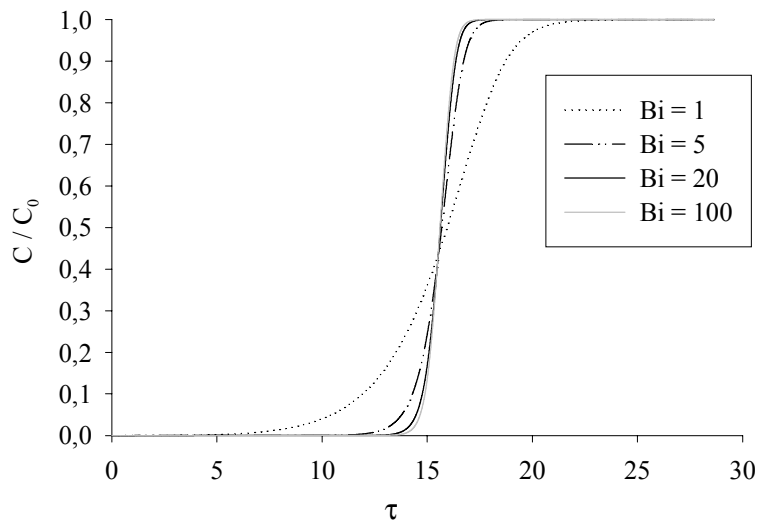


Figura 3 – Efeito do número de Biot sobre as curvas de ruptura da  $\beta$ -lg.

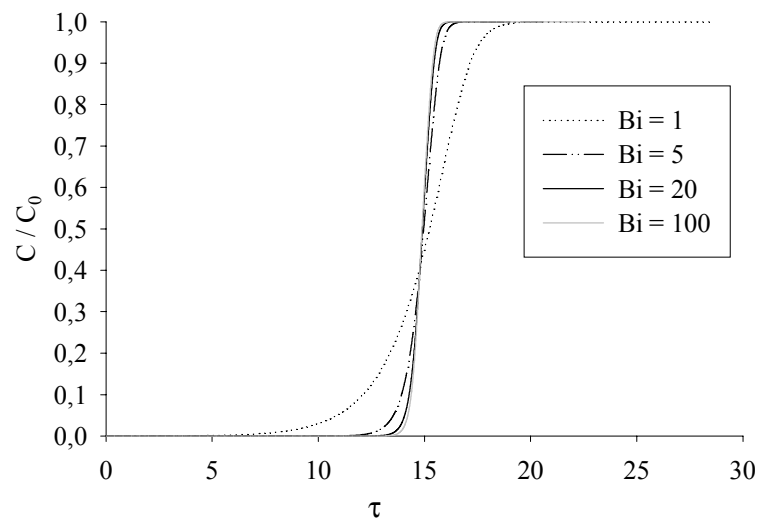


Figura 4 – Efeito do número de Biot sobre as curvas de ruptura da  $\alpha$ -la.

### Efeito do parâmetro $\eta$

A influência do parâmetro  $\eta$  nas curvas de ruptura da  $\beta$ -lg e da  $\alpha$ -la é mostrada nas Figura 5 e 6, respectivamente. Nessas simulações os parâmetros  $Pe_L$  e  $Bi$  foram fixos e iguais a 500 e 5, respectivamente. Pode-se observar que para valores pequenos de  $\eta$  (menores que 5), a ruptura inicia-se muito rapidamente, situação essa que é indesejável do ponto de vista prático, uma vez que o processo seria interrompido quando a coluna ainda estivesse longe da saturação. Observa-se ainda que a ruptura praticamente não depende de  $\eta$  quando este é maior que 20.

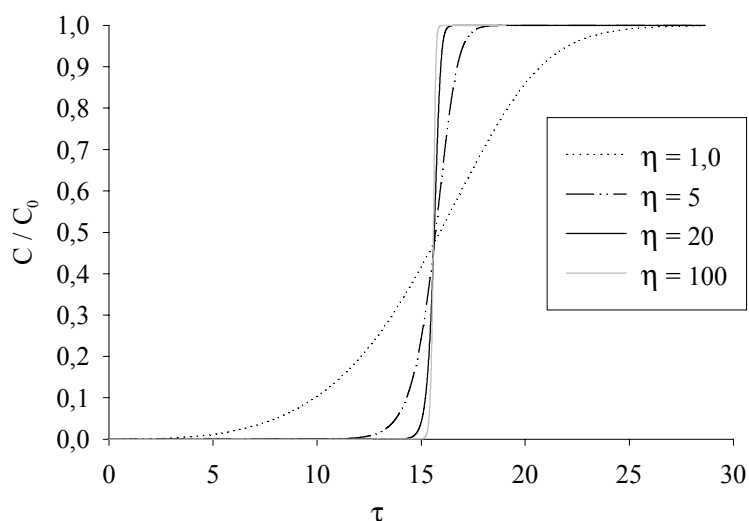


Figura 5 – Efeito do parâmetro  $\eta$  sobre as curvas de ruptura da  $\beta$ -lg.

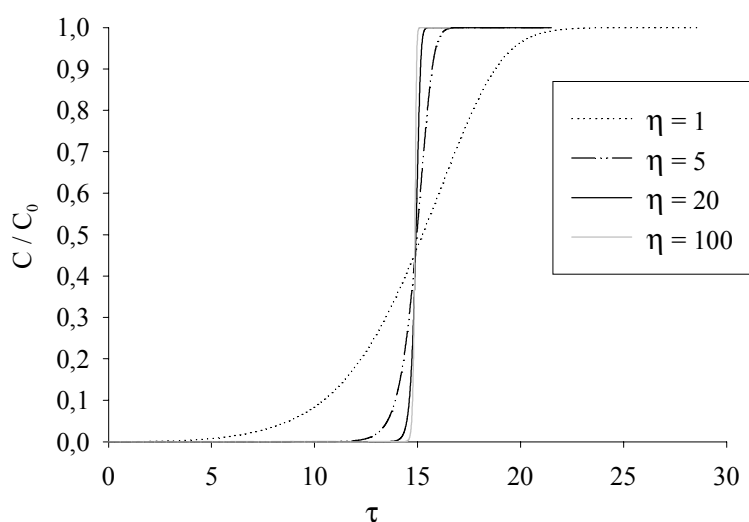


Figura 6 – Efeito do parâmetro  $\eta$  sobre as curvas de ruptura da  $\alpha$ -la.

Em todas as simulações para avaliar os efeitos de  $Pe_L$ ,  $Bi$  e  $\eta$ , os valores de  $C_0$  para a  $\beta$ -lg e para a  $\alpha$ -la foram de 6 mg/mL e 3 mg/mL, respectivamente.

### Comparação de curvas simuladas com curvas experimentais

Experimentos foram conduzidos variando a concentração dos solutos na alimentação e a vazão da fase móvel. Os parâmetros de transferência de massa foram estimados pelas correlações empíricas já apresentadas. As Figuras 7 e 8 apresentam as curvas de ruptura experimentais e simuladas para diferentes valores de vazão da fase móvel para a  $\beta$ -lg e para a  $\alpha$ -la, respectivamente. Observa-se que o modelo conseguiu prever de forma adequada as curvas de

ruptura, indicando que ele é adequado para a simulação do processo. A influência da vazão da fase móvel sobre a capacidade relativa da coluna (quantidade adsorvida no ponto de ruptura em relação à capacidade de adsorção) em relação às proteínas  $\beta$ -lg e  $\alpha$ -la pode ser observada nas Figura 9 e 10, respectivamente. As condições de adsorção foram mais favoráveis para a vazão de 0,5 mL/min, pois, no ponto de ruptura ( $C/C_0 = 0,1$ ) uma maior porção da coluna estava saturada. Os parâmetros utilizados para essas simulações são apresentados na Tabela 3. Os valores de  $C_0$  para a  $\beta$ -lg e a  $\alpha$ -la foram de 8,0 mg/mL e de 3,5 mg/mL, respectivamente.

Tabela 3 – Parâmetros estimados por correlações empíricas

F (mL/min)	$\beta$ -lg			$\alpha$ -la		
	$D_b$ ( $\times 10^3$ )	$k$ ( $\times 10^3$ )	$D_p$ ( $\times 10^6$ )	$D_b$ ( $\times 10^3$ )	$k$ ( $\times 10^3$ )	$D_p$ ( $\times 10^6$ )
0,5	0,97 $\text{cm}^2/\text{s}$	1,32 $\text{cm}/\text{s}$	0,94 $\text{cm}^2/\text{s}$	0,97 $\text{cm}^2/\text{s}$	1,42 $\text{cm}/\text{s}$	1,03 $\text{cm}^2/\text{s}$
1,0	1,93 $\text{cm}^2/\text{s}$	1,70 $\text{cm}/\text{s}$	0,94 $\text{cm}^2/\text{s}$	1,93 $\text{cm}^2/\text{s}$	1,82 $\text{cm}/\text{s}$	1,03 $\text{cm}^2/\text{s}$
1,5	2,89 $\text{cm}^2/\text{s}$	1,99 $\text{cm}/\text{s}$	0,94 $\text{cm}^2/\text{s}$	2,89 $\text{cm}^2/\text{s}$	2,13 $\text{cm}/\text{s}$	1,03 $\text{cm}^2/\text{s}$

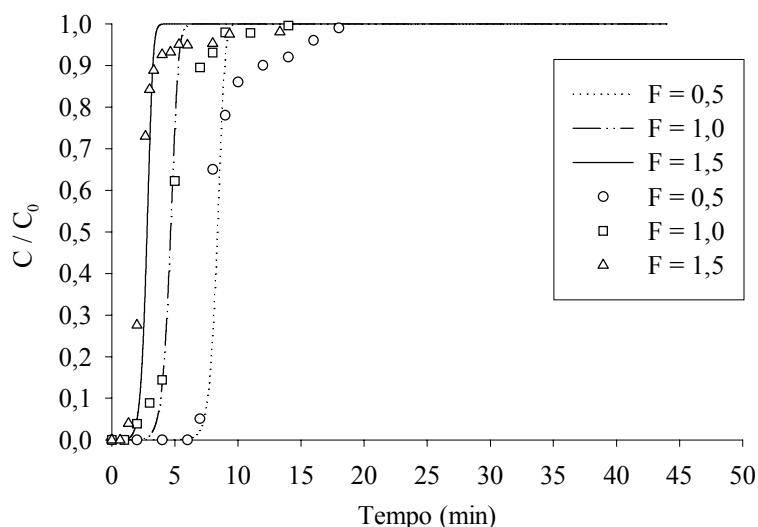


Figura 7 – Curvas de ruptura para a  $\beta$ -lg para diferentes valores de vazão da fase móvel; As linhas representam os dados simulados pelo modelo e os símbolos, os dados experimentais.

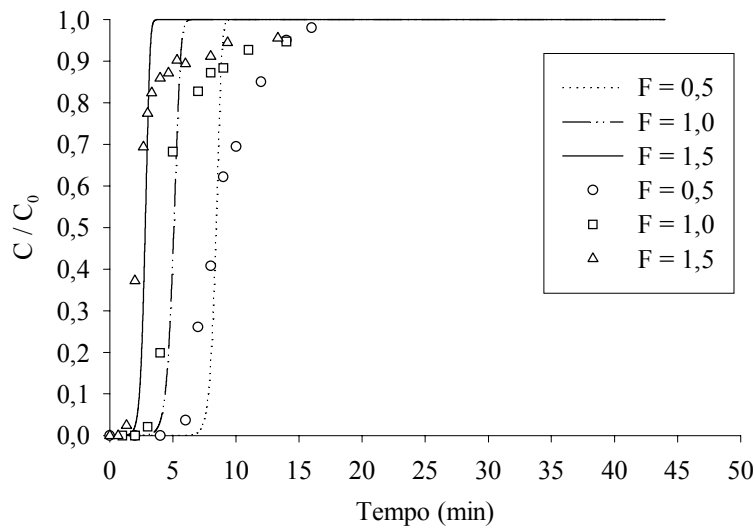


Figura 8 – Curvas de ruptura para a  $\alpha$ -la para diferentes valores de vazão da fase móvel.

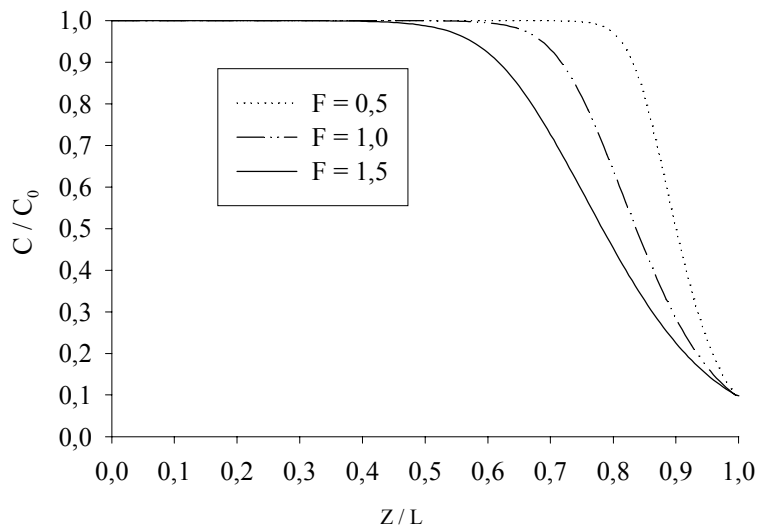


Figura 9 – Perfis de concentração adimensional da  $\beta$ -lg na fase móvel ao longo da coluna quando a concentração na saída da coluna corresponde a 10% da concentração na alimentação.

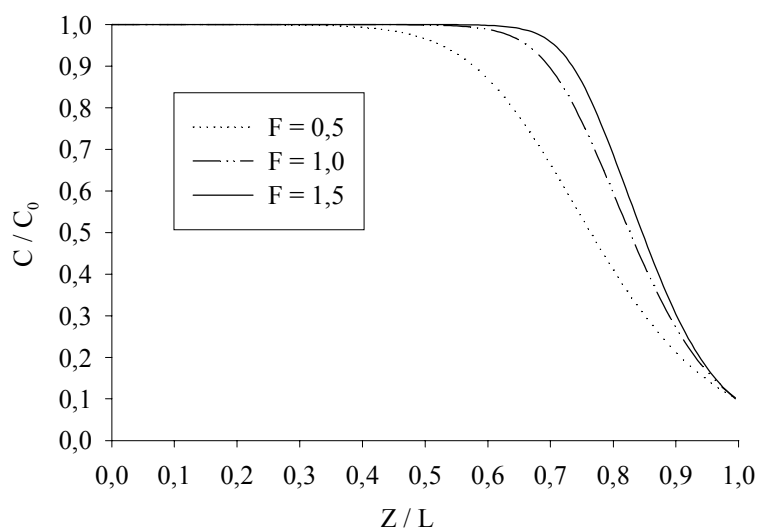


Figura 10 – Perfis de concentração adimensional da  $\alpha$ -la na fase móvel ao longo da coluna quando a concentração na saída da coluna corresponde a 10% da concentração na alimentação.

As Figuras 11 e 12 apresentam as curvas de ruptura experimentais e simuladas pelo modelo para diferentes valores de concentração do soluto na alimentação das proteínas  $\beta$ -lg e  $\alpha$ -la, respectivamente. O modelo proposto conseguiu prever adequadamente as curvas de ruptura tanto para a  $\beta$ -lg quanto para a  $\alpha$ -la. Para essas simulações foi utilizada uma vazão da fase móvel de 1 mL/min, portanto, os parâmetros de transferência de massa são os mesmos apresentados na Tabela 3 para essa vazão. Observando as Figuras 13 e 14, nota-se que as condições de adsorção é mais favorável para valores maiores de concentração. Além disso, deve-se observar que para valores maiores de concentração a fração de sítios ocupados do adsorvente é maior quando se aumenta a concentração na alimentação, até um certo limite, pois a concentração adsorvida é uma função crescente da concentração na fase móvel e tende a  $Q_m$  quando a concentração na fase móvel tende a infinito (isoterma de Langmuir).

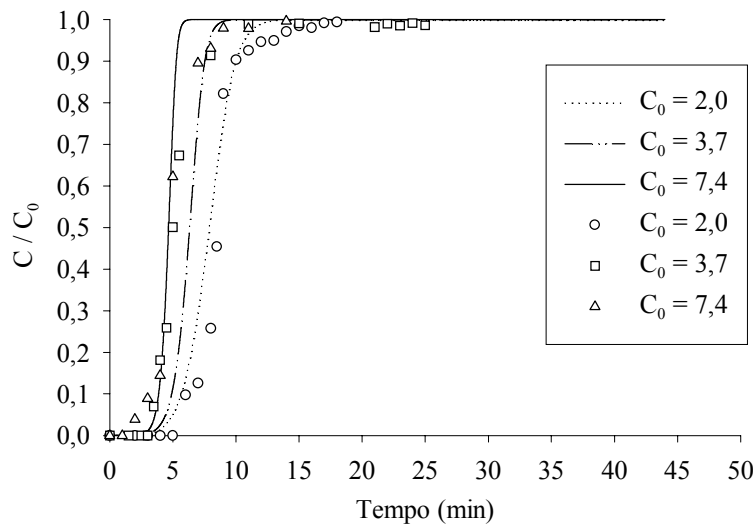


Figura 11 - Curvas de ruptura para a  $\beta$ -Ig para diferentes valores de concentração na alimentação. Os valores de  $C_0$  estão em mg/mL.

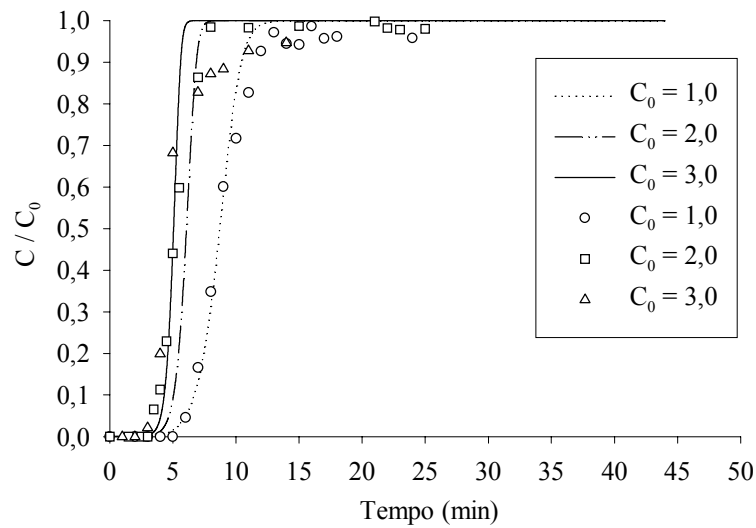


Figura 12 - Curvas de ruptura para a  $\alpha$ -la para diferentes valores de concentração na alimentação.

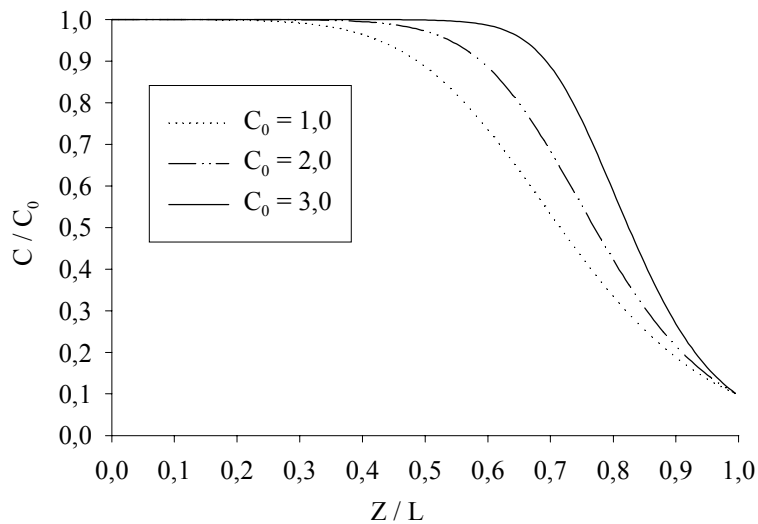


Figura 13 – Perfis de concentração adimensional da  $\beta$ -Ig na fase móvel ao longo da coluna quando a concentração na saída da coluna corresponde a 10% da concentração na alimentação.

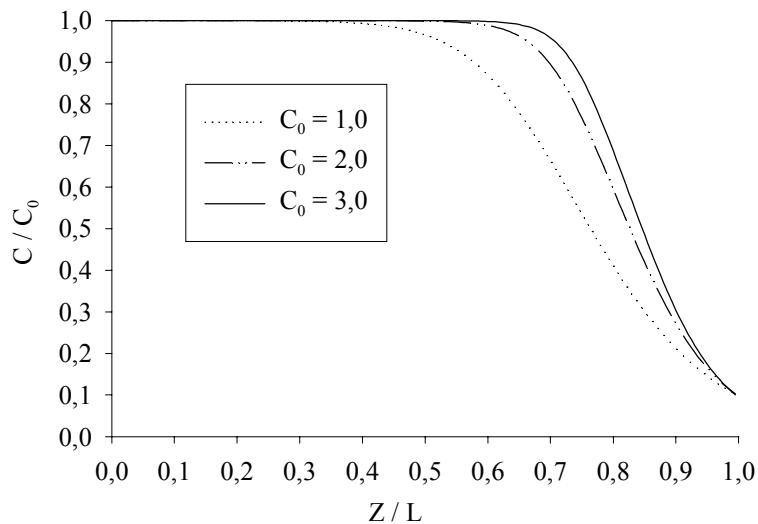


Figura 14 – Perfis de concentração adimensional da  $\alpha$ -Ia na fase móvel ao longo da coluna quando a concentração na saída da coluna corresponde a 10% da concentração na alimentação.

As Figuras 15, 16 e 17 mostram a influência dos parâmetros de transferência de massa  $D_p$ ,  $k$  e  $D_b$ , respectivamente, na curva de ruptura da  $\beta$ -Ig ( $F = 1$  mL/min;  $C_0 = 2$  mg/mL), quando se altera o valor desses parâmetros para a metade e para o dobro do valor estimado pelas correlações empíricas. Observa-se que, dentro desse intervalo, uma variação no  $D_b$  praticamente não altera a curva de ruptura. Já uma variação nos valores de  $D_p$  e de  $k$  alteram a curva de ruptura, sendo que  $D_p$  é o parâmetro mais crítico.



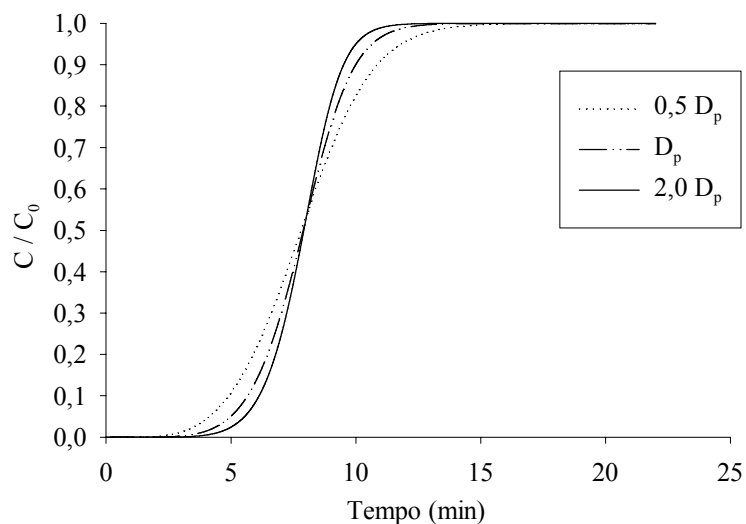


Figura 15 – Influência do coeficiente de difusão na curva de ruptura.

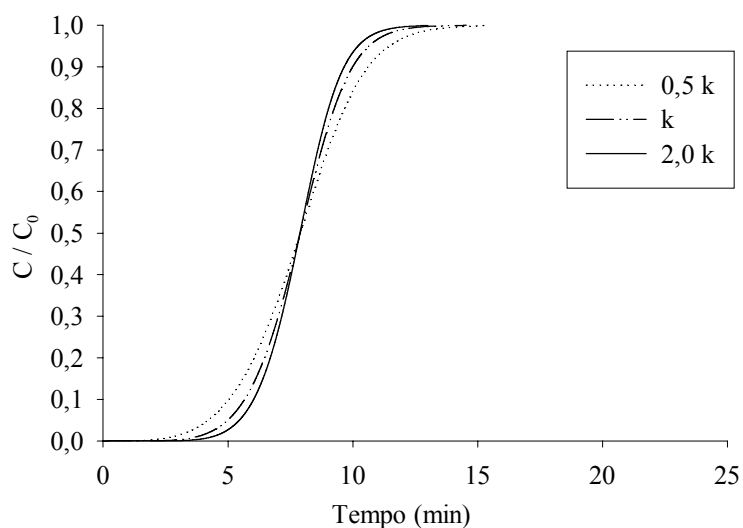


Figura 16 – Influência do coeficiente de transferência de massa na curva de ruptura.

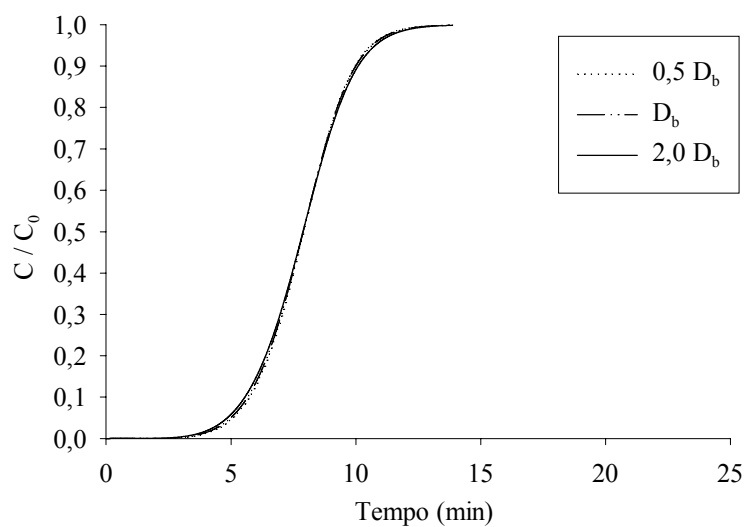


Figura 17 – Influência do coeficiente de dispersão axial na curva de ruptura.

## Conclusões

O procedimento numérico para a solução do modelo da taxa geral que considera equilíbrio instantâneo na superfície da partícula foi eficiente para a simulação de um processo de adsorção em troca iônica sendo capaz de simular rapidamente, a adsorção simultânea das proteínas do soro  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg pela resina Accel Plus QMA<sup>®</sup>. A concordância dos perfis simulados com os dados experimentais demonstra que o modelo proposto é adequado para a simulação do sistema em estudo, mesmo utilizando apenas correlações empíricas para estimar os parâmetros de transferência de massa. A análise paramétrica mostrou que o coeficiente de difusão e o coeficiente de transferência de massa são os parâmetros mais críticos a serem estimados, quando comparados com o coeficiente de dispersão axial, para que a curva de ruptura simulada seja ainda mais acurada.

## Símbolos usados

### Símbolo Descrição

$Bi_i$	número de Biot de transferência de massa para o componente $i$
$C_{bi}$	concentração do componente $i$ na fase móvel
$C_{fi}$	concentração do componente $i$ na alimentação
$C_{0i}$	concentração usada para adimensionalização, $\max\{c_{fi}(t)\}$
$C_{pi}$	concentração do componente $i$ na fase líquida da fase estacionária
$C_{pi}^s$	concentração do componente $i$ na fase sólida da fase estacionária
$c_{bi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase móvel
$c_{fi}$	concentração adimensional do componente $i$ na alimentação
$c_{pi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase líquida da fase estacionária
$c_{pi}^s$	concentração adimensional do componente $i$ na fase sólida da fase estacionária
$D_{bi}$	coeficiente de dispersão axial do componente $i$
$D_{pi}$	coeficiente de difusão do componente $i$
$F$	vazão da fase móvel
$k_d$	constante na isoterma de Langmuir
$k_i$	coeficiente de transferência de massa para o componente $i$
$L$	comprimento do leito de partículas
$n$	número de nós em $z$
$Pe_{Li}$	número de Peclet para o componente $i$
$q_m$	constante na isoterma de Langmuir
$R$	coordenada radial para a partícula
$Re$	número de Reynolds
$R_p$	raio da partícula
$r$	coordenada radial adimensional para a partícula
$Sc$	número de Schmidt
$Sh$	número de Sherwood
$t$	Tempo
$v$	velocidade intersticial da fase móvel
$Z$	coordenada axial
$z$	coordenada axial adimensional
$\Delta z$	incremento na direção axial

### Letras gregas

$\varepsilon_b$	fração de volume vazio do leito
$\rho$	densidade da fase móvel
$\mu$	viscosidade da fase móvel
$\varepsilon_p$	porosidade da partícula
$\eta_i$	número adimensional para o componente $i$
$\xi_i$	número adimensional para o componente $i$

$\tau$	tempo adimensional
$\Delta\tau$	incremento de tempo adimensional
$\tau_{imp}$	tempo de duração adimensional para um pulso retangular da amostra

## Referências bibliográficas

ATKINSON, B.; SAINTER, P. J. Development of downstream processing. **Journal of chemical technology and biotechnology**, Chichester, v.32, p.100, 1982.

BOSCHETTI, E.; COFFMAN, J. L. Enhanced diffusion chromatography and related sorbents for biopurifications. In: SUBRAMANIAN, G. **Bioseparation and bioprocessing**. Weinheim: WILEY-VCH, 1998. v.1, p.157-198.

CARRERE, H. **Extraction des protéines du lactosérum par chromatographie d'échange 'd'ions en lit fluidisé**. 1993. 210f. Tese (Doutorado). Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, 1993.

CAYOT, P.; LORIENT, D. Structure-function relationships of whey proteins. In: DAMADARAN, S.; PARAF, A. **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p.225-256.

CHUNG, S. F.; WEN, C. Y. Longitudinal dispersion of liquid flowing through fixed and fluidized beds. **AIChE Journal**, New York, v.14, p.857, 1968.

ERSSON, B.; JANSON, J.-C.; RYDÉN, L. Introduction to protein purification. In: JANSON, J.-C.; RYDÉN, L. **Protein purification: principles, high resolution methods, and applications**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1998. p.3-40.

FERREIRA, R. C. **Separação de  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina de proteínas do soro de queijo por adsorção em colunas de leito fixo**. 2001. 81f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

GHOSE, S.; CRAMER, S. M. Characterization and modeling of monolithic stationary phases: application to preparative chromatography. **Journal of chromatography A**, Amsterdam, v.928, p.13-23, 2001.

GU, T., TSAI, G.-J., TSAO, G.T. Modeling of nonlinear multicomponent chromatography. **Advances in biochemical engineering/biotechnology**, Berlin, v.49, p.45-71, 1993.

GUIOCHON, G.; SHIRAZI, S. G.; KATTI, A. M. **Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography**. London: Academic Press, 1994. 697 p.

HAHN, R. et al. Bovine whey fractionation based on cation-exchange chromatography. **Journal of chromatography A**, Amsterdam, v.795, p.277-287, 1998.

KEMPE, H. et al. Simulation of chromatographic process applied to separation of proteins. **Journal of chromatography A**, Amsterdam, v.846, p.1-12, 1999.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of american chemical society**, Washington, v.30, p.2263-2295, 1916.

MCKENZIEY, H. A. **Milk proteins, chemistry and molecular biology**. New York: Academic Press, 1970. 286p.

SHUEY, C. D. Ion-exchange process. In: Asenjo, J. A. **Separation processes in biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1990. p.263-286.

SIMPSON, J. M. Conventional Chromatography. In: HARRISON, R. G. **Protein purification process engineering**. New York: Marcel Dekker, 1995. p.209-258.

SKUDDER, P. J. Evaluation of a porous silica-based ion-exchange medium for the production of protein fractions from rennet- and acid-whey. **Journal of dairy research**, Cambridge, v.52, p.167, 1985.

SPIEKER, A.; KLOPPENBURG, E.; GILLES, E.-D. Computer modeling of chromatographic bioseparation. In: SUBRAMANIAN, G. **Bioseparation and bioprocessing**. Weinheim: WILEY-VCH, 1998. v.1, p.329-362.

TRUEI, Y.-H. et al. Large-scale gradient elution chromatography. **Advances in biochemical engineering/biotechnology**, Berlin, v.47, p.1-43, 1992.

YE, X.; YOSHIDA, S.; NG, T. B. Isolation of lactoperoxidase, lactoferrin,  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin B e  $\beta$ -lactoglobulin A from bovine rennet whey using ion exchange chromatography. **The International journal of biochemistry and cell biology**, Oxford, v.32, p.1143-1150, 2000.

YOUNG, M. E.; CARROAD, P. A.; BELL, R. L. Estimation of diffusion coefficients of proteins. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.22, p.947, 1980.

# **Modelagem e Simulação do Processo de Cromatografia de Exclusão Molecular para Purificação das Proteínas $\alpha$ -Lactoalbumina e $\beta$ -Lactoglobulina**

## **Resumo**

Um procedimento numérico para a solução do modelo de transferência de massa para cromatografia de exclusão molecular (CEM) que considera dispersão axial, difusão dentro da partícula, resistência à transferência de massa no filme e porosidade acessível da partícula foi desenvolvido. O modelo foi capaz de simular, com um tempo de simulação variando de 30 segundos a 1 minuto, o processo de CEM das fases salina e polimérica provenientes do fracionamento das proteínas do soro por sistemas aquosos bifásicos (SAB). A comparação dos cromatogramas obtidos experimentalmente com os simulados mostrou que o modelo é adequado para o estudo desses sistemas. Correlações empíricas foram utilizadas para estimar os parâmetros de transferência de massa envolvidos no modelo. Os efeitos de parâmetros físicos no desempenho da CEM foi investigada usando simulação computacional baseada no modelo proposto.

## **Summary**

A numerical procedure for the solution of the mass transfer model to size exclusion chromatography that considers axial dispersion, intraparticle diffusion, mass transfer resistance in the film and accessible particle porosity was developed. The model was capable to simulate, with a simulation time varying of 30 seconds to 1 minute, the process of size exclusion chromatography of saline and polymeric phases proceeding from the fractionation of whey proteins by aqueous two-phase systems. The comparison of experimental and simulated chromatograms showed that the model is adequate for the study of these systems. Empirical correlations were used to estimate mass transfer parameters involved in the model. The effect of physical parameters in the performance of the size exclusion chromatography was investigated using computational simulation with base in the considered model.

## Introdução

O soro de queijo é um subproduto da indústria de laticínios e contém aproximadamente 20 % da composição protéica original do leite. Derivados de leite processados tais como soro de leite em pó com diferentes graus de concentração de proteínas são comercializados no mercado, mas são produtos que possuem relativamente baixo valor agregado e que não possuem todo o potencial em relação às propriedades funcionais das proteínas do soro (McIntoshi et al., 1998).

O soro contém uma rica e variada mistura de proteínas com várias propriedades físico-químicas e funcionais (Smithers et al., 1996). Segundo Morr e Há (1993), as proteínas do soro de queijo são de elevado valor funcional e podem ser empregadas como espumantes e emulsificantes e possuem capacidade para substituir outros ingredientes mais dispendiosos nas indústrias de alimentos. Elas constituem uma fonte excepcionalmente rica e balanceada de aminoácidos (Regester et al., 1996).

A Tabela 1 apresenta a composição protéica do soro de leite bovino. As proteínas mais abundantes são a  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e a  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg). Elas representam aproximadamente 70% da quantidade de proteínas no soro e são responsáveis pelas propriedades de hidratação, gelatinização e propriedades relacionadas a atividades superficiais (propriedade emulsificante e espumante) (Cayot e Lorient, 1997).

A separação de proteínas geralmente envolve várias etapas e existem numerosas técnicas que muitas vezes devem ser utilizadas em combinação quando se quer obter um produto final com alto teor de pureza (Asenjo, 1990).

Um sistema aquoso bifásico composto por 18% de polietilenoglicol (PEG) 1500 e 18% de fosfato de potássio foi usado com sucesso na separação das proteínas do soro em duas frações, a fase polimérica, rica em  $\alpha$ -la, e a fase salina, rica em  $\beta$ -lg (Zuñiga, 2000). É necessária uma etapa posterior para purificação da  $\alpha$ -la e da  $\beta$ -lg dessas fases.



Tabela 1 – Composição protéica do soro bovino

Proteína	Concentração média no soro (g/L)	Massa Molecular (kDa)
$\beta$ -Lactoglobulina	3-4	18.4
$\alpha$ -Lactoalbumina	1.5	14.2
Albumina do soro	0.3-0.6	69
Imunoglobulinas	0.6-0.9	150-900
Lactoperoxidase	0.06	78
Lactoferrina	0.05	78
Protease-peptona	0.5	4-20

Fonte: McKenzey (1970).

Cromatografia por exclusão molecular (CEM) separa proteínas e peptídeos com base em seus tamanhos moleculares. Separações podem ser obtidas em um intervalo de  $10^2$  Da a  $10^7$  Da (Simpson,1994). Desde que esse processo foi introduzido por Moore (1964), ele tem se mostrado uma ferramenta eficiente para análise e separação de macromoléculas como proteínas e polímeros (Li et al., 1998). Essa técnica tem sido muito usada para separação e purificação de macromoléculas em processos industriais (Burnouf, 1991; Yamamoto, 1991). Muitos processos comerciais de separação utilizam um ou mais passos de CEM (Wheelwright, 1991). CEM é um método eficiente para a purificação de proteínas do plasma humano (Kaersgaard e Barington, 1998). É um método recomendado principalmente para a fase final de um processo de separação, a chamada “etapa de polimento” (Josic et al., 1998). Uma narração detalhada das técnicas laboratoriais de CEM foi publicada por Fischer (1980). Uma extensa descrição do processo de CEM foi apresentada por Yau e colaboradores (1979).

No desenvolvimento de processos cromatográficos em grande escala, é importante não somente obter um bom sistema de separação, mas também reduzir os custos e aumentar a confiabilidade do processo. Estudos experimentais em cromatografia preparativa usando solutos biológicos são demorados e têm custo elevado. Assim, a modelagem desses processos torna-se uma etapa importante pois possibilita o aumento de escala, a otimização e o controle do

processo. O uso da simulação computacional reduz substancialmente o número de experimentos, diminuindo os custos e o tempo de obtenção dos resultados (Spieker, 1998).

O objetivo deste trabalho foi modelar e simular o processo de CEM para a purificação das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg presentes, respectivamente, nas fases polimérica e salina do sistema aquoso bifásico composto por 18% PEG 1500 e 18% de fosfato de potássio.

### Modelo matemático

Kim e Johnson (1984) introduziram um modelo que considera uma fração de volume de poro para levar em conta o efeito da exclusão molecular das partículas. Gu (1995) propôs o uso de uma porosidade acessível da partícula, isto é, fração do volume do poro acessível para uma macromolécula, para descrever o efeito da exclusão molecular em um modelo de transferência de massa que considera dispersão axial, transferência de massa no filme e difusão dentro das partículas.

As seguintes considerações são necessárias para formular o modelo:

- 1) A coluna é isotérmica;
- 2) Não há interação entre os solutos;
- 3) Os coeficientes de difusão e de transferência de massa permanecem constantes;
- 4) As partículas são esféricas e de tamanho uniforme;
- 5) A densidade de empacotamento é a mesma ao longo da coluna;
- 6) A difusão na direção radial é desprezível.

Com essas considerações, as seguintes equações podem ser formuladas a partir do balanço de massa diferencial para um soluto na fase móvel e na fase estacionária, respectivamente.

$$-D_{bi} \frac{\partial^2 C_{bi}}{\partial Z^2} + v \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} + \frac{\partial C_{bi}}{\partial t} + \frac{3k_i(1-\epsilon_b)}{\epsilon_b R_p} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) = 0 \quad (1)$$

$$\frac{\partial C_{pi}}{\partial t} - D_{pi} \left[ \frac{1}{R^2} \frac{\partial}{\partial R} \left( R^2 \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} \right) \right] = 0 \quad (2)$$

com as seguintes condições iniciais e de contorno

$$t = 0 \Rightarrow C_{bi} = C_{bi}(0, Z) \quad (3)$$

$$t = 0 \Rightarrow C_{pi} = C_{pi}(0, R, Z) \quad (4)$$

$$Z = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = \frac{v}{D_{bi}} (C_{bi} - C_{fi}(t)) \quad (5)$$

$$Z = L \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = 0 \quad (6)$$

$$R = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = 0 \quad (7)$$

$$R = R_p \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = \frac{k_i}{\varepsilon_p^a D_{pi}} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) \quad (8)$$

Utilizando os termos adimensionais:

$$c_{bi} = \frac{C_{bi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi} = \frac{C_{pi}}{C_{0i}}; \quad r = \frac{R}{R_p}; \quad z = \frac{Z}{L}; \quad \tau = \frac{vt}{L};$$

$$Pe_{Li} = \frac{vL}{D_{bi}}; \quad Bi_i = \frac{k_i R_p}{\varepsilon_p^a D_{pi}}; \quad \eta_i = \frac{\varepsilon_p^a D_{pi} L}{R_p^2 v}; \quad \xi_i = \frac{3Bi_i \eta_i (1 - \varepsilon_b)}{\varepsilon_b}$$

O sistema de equações diferenciais parciais pode ser transformado nas seguintes formas adimensionais:

$$-\frac{1}{\text{Pe}_{Li}} \frac{\partial^2 c_{bi}}{\partial z^2} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} + \xi_i (c_{bi} - c_{pi,r=1}) = 0 \quad (9)$$

$$\frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} - \frac{\eta_i}{\varepsilon_p^a} \left[ \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} \right) \right] = 0 \quad (10)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno adimensionalizadas:

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{bi} = c_{bi}(0, z) \quad (11)$$

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{pi} = c_{pi}(0, r, z) \quad (12)$$

$$z = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = \text{Pe}_{Li} \left( c_{bi} - \frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} \right) \quad (13)$$

$$z = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = 0 \quad (14)$$

$$r = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = 0 \quad (15)$$

$$r = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = \text{Bi}_i (c_{bi} - c_{pi,r=1}) \quad (16)$$

A condição de contorno na alimentação (eq. 13) utiliza a seguinte função:

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} = \begin{cases} 1 & \text{se } 0 \leq \tau \leq \tau_{\text{imp}} \\ 0 & \text{em caso contrário} \end{cases} \quad (17)$$

## Estratégia de solução numérica do modelo

A Equação (9) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $z$ , utilizando a técnica de diferenças finitas centrais com  $n$  nós ao longo de  $z$ . A equação (10) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $r$ , pelo método da colocação ortogonal, utilizando os polinômios simétricos definidos por Finlayson (1980), com dois pontos de colocação interior. Essas discretizações geraram as seguintes equações diferenciais ordinárias:

Para a fase móvel:

- Nó na entrada da coluna:

$$\frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \Big|_1 = \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} c_{bi} \Big|_2 + \xi_i c_{pi} \Big|_1^3 + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} \right) c_{bi} \Big|_1 \quad (20)$$

- Nós interiores da coluna ( $j = 2; 3; \dots; n - 1$ ):

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \Big|_j = & \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} - \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi} \Big|_{j+1} + \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi} \Big|_{j-1} + \xi_i c_{pi} \Big|_j^3 \\ & - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi} \Big|_j \end{aligned} \quad (21)$$

- Nó na saída da coluna:

$$\frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \Big|_n = \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} \right) c_{bi} \Big|_{n-1} + \xi_i c_{pi} \Big|_n^3 - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi} \Big|_n \quad (22)$$

Para a partícula:

- Primeiro ponto de colocação interior ( $r \cong 0,5385$ ):

$$\frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} \Big|_j^1 = -13,6 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p^a} c_{pi} \Big|_j^1 + 20,433 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p^a} c_{pi} \Big|_j^2 - 6,833 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p^a} c_{pi} \Big|_j^3 \quad (23)$$

- Segundo ponto de colocação interior ( $r \cong 0,9062$ ):

$$\left. \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} \right|_j^2 = 14,57 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p^a} c_{pi}|_j^1 - 91,4 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p^a} c_{pi}|_j^2 + 76,83 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p^a} c_{pi}|_j^3 \quad (24)$$

- O valor de  $C_{pi}|_j^3$  (concentração na superfície da partícula) é obtido a partir da condição de contorno em  $r = 1$ :

$$C_{pi}|_j^3 = \frac{Bi_i}{14 + Bi_i} c_{bi}|_j - \frac{0,9483}{14 + Bi_i} c_{pi}|_j^1 + \frac{14,9483}{14 + Bi_i} c_{pi}|_j^2 \quad (25)$$

O índice subscrito após as barras indica o nó ao longo de  $z$  e o índice sobrescrito o ponto de colocação ortogonal (1 e 2 são pontos interiores e 3 é a superfície da partícula, ou seja,  $r = 1$ ). Nas Equações (23) a (25),  $j$  deve variar de 1 a  $n$ . Assim, foram geradas  $n$  equações diferenciais ordinárias para a fase móvel e  $2n$  equações para a partícula, ou seja,  $3n$  equações diferenciais ordinárias para cada soluto, totalizando  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias, sendo  $N_s$  o número de solutos. As  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias resultantes foram resolvidas simultaneamente utilizando o método de Euler. Para evitar problemas relacionados a estabilidade e convergência, adotou-se o critério de diminuir o incremento no tempo ( $\Delta\tau$ ) e/ou aumentar o número de nós em  $z$  ( $n$ ) sempre que algum valor de concentração  $C_{bi}$  estivesse fora do seu domínio com uma determinada tolerância. Neste trabalho isso foi feito sempre que  $C_{bi}$  estivesse fora do intervalo  $[-0,001; 1,001]$ . Além disso, o perfil de concentração na fase móvel ao longo da coluna foi acompanhado visualmente de forma gráfica durante todo o tempo da simulação, de forma a monitorar quaisquer oscilações que porventura ocorressem. Isso foi implementado em um programa desenvolvido no Visual Basic 6.0. Todas as simulações foram realizadas em um AMD Athlon® 750 MHz. O tempo gasto nessas simulações variou de 10 segundos a pouco mais de 1 minuto.

## Determinação dos parâmetros de transferência de massa

Correlações empíricas são disponíveis para estimar parâmetros desconhecidos descrevendo difusão, dispersão axial e resistência à transferência de massa.

### Coefficiente de dispersão axial

Os vários efeitos complexos que levam à mistura axial são combinados dentro de um único coeficiente de dispersão axial. Esse coeficiente de dispersão axial tem que ser determinado a partir de experimentos ou pode ser estimado usando correlações empíricas, como a apresentada por Chung e Wen (1968). Essa correlação tem sido amplamente utilizada para leito fixo (Spieker, 1998). Ela correlaciona o número de Peclet como:

$$Pe_L = \frac{vL}{D_b} \frac{L}{2R_p \varepsilon_B} (0,2 + 0,011 Re^{0,48}) \quad (26)$$

Sendo o número de Reynolds, Re, definido como:

$$Re = \frac{2R_p \varepsilon_B v \rho}{\mu} \quad (27)$$

### Coefficiente de transferência de massa

A resistência à transferência de massa representada por um filme hipotético em torno da partícula necessita do coeficiente de transferência de massa no filme,  $k_i$ , para cada componente. Usualmente, as correlações dão uma expressão para o coeficiente  $k_i$  ou o número de Sherwood, Sh, como na equação usada por Truei et al. (1992):

$$Sh = \frac{k_i 2R_p}{D_{pi}} = 2 + 1,45 Re^{1/2} Sc^{1/3} \quad (28)$$

sendo o número de Schmidt, Sc, definido como:

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D_{pi}} \quad (29)$$

### **Coefficiente de difusão**

A predição dos coeficientes de difusão para sistemas multicomponente é difícil, especialmente para soluções concentradas não ideais. Young et al. (1980) apresentaram a seguinte correlação para proteínas:

$$D_{pi} = 8,31 \cdot 10^{-8} \frac{T}{\mu M_i^{1/3}} \quad (30)$$

$D_{pi}$  em  $\text{cm}^2\text{s}^{-1}$ , M é a massa molar da proteína em g, T é a temperatura em K e  $\mu$  é a viscosidade do solvente em cP. Essa correlação apresenta bons resultados para propósitos de engenharia, pois 75% das 301 proteínas estudadas têm um coeficiente de difusão dentro de um intervalo de 20% dos valores preditos por ela (Young et al., 1980).

### **Material e Métodos**

O fracionamento das proteínas do soro por SAB foi realizado por Rojas (2002). Os experimentos de CEM foram conduzidos em uma coluna de 1 cm x 10 cm, empacotada com o gel Sephadex<sup>®</sup> G-25 médio (diâmetro médio de partícula de 100  $\mu\text{m}$ ; limite de exclusão molecular de 5000 Da), acoplada ao sistema cromatográfico ÄKTA Purifier (Pharmacia<sup>®</sup>). As proteínas  $\alpha$ -la e a  $\beta$ -lg foram utilizadas a partir de um isolado protéico de soro (Davisco<sup>®</sup>). A quantificação das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg foi feita conforme Rojas (2002). As porosidades do leito e da partícula e os valores de porosidade acessível da partícula para os diferentes solutos foram determinados por Rojas (2002). Os valores das porosidades do leito e da partícula são de 0,40234 e de 0,80,



respectivamente. Os valores de porosidade acessível da partícula para os solutos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Porosidade acessível da partícula para os diferentes solutos

Soluto	$\epsilon_p^a$
$\alpha$ -la	0,08
$\beta$ -lg	0,04
PEG 1500	0,70
Fosfato de potássio	0,80

## Resultados e discussão

### Efeitos dos parâmetros de transferência de massa na formação dos picos

Por meio do modelo matemático desenvolvido, estudou-se o efeito dos parâmetros adimensionais,  $Pe$ ,  $Bi$  e  $\eta$ , sobre a transferência de massa dos sistemas em estudo. Essa análise de sensibilidade é importante pois permite estabelecer quais dos parâmetros devem ser estimados com maior acurácia. Todas as simulações foram realizadas considerando  $\tau_{imp} = 0,013$ .

### Efeito do número de Peclet

A influência do número de Peclet sobre a resolução da  $\alpha$ -la, do PEG, da  $\beta$ -lg e do sal é mostrada nas Figuras 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Nessas simulações os parâmetros  $Bi$  e  $\eta$  foram fixos e iguais a 5. Pode-se observar que quando o valor de  $Pe_L$  é pequeno, o pico fica muito largo e assimétrico, situação indesejável do ponto de vista prático, uma vez que isso dificultaria o processo de separação. Quando os valores de  $Pe_L$  são maiores que 250, os picos formados apresentam boa resolução e, além disso, eles são muito semelhantes para  $Pe_L$  igual a 250 e  $Pe_L$  igual a 1000, indicando que para valores maiores que 250, variações no número de  $Pe_L$  pouco alteram a forma dos picos.

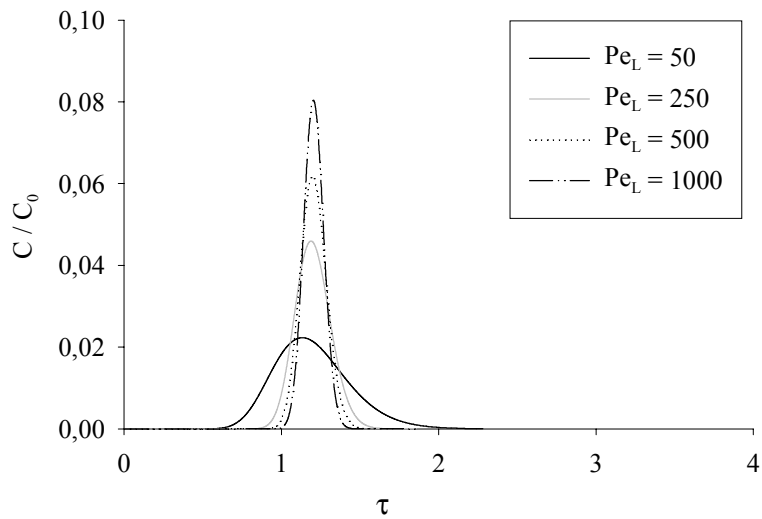


Figura 1 – Efeito do número de Peclet sobre a resolução da  $\alpha$ -la.

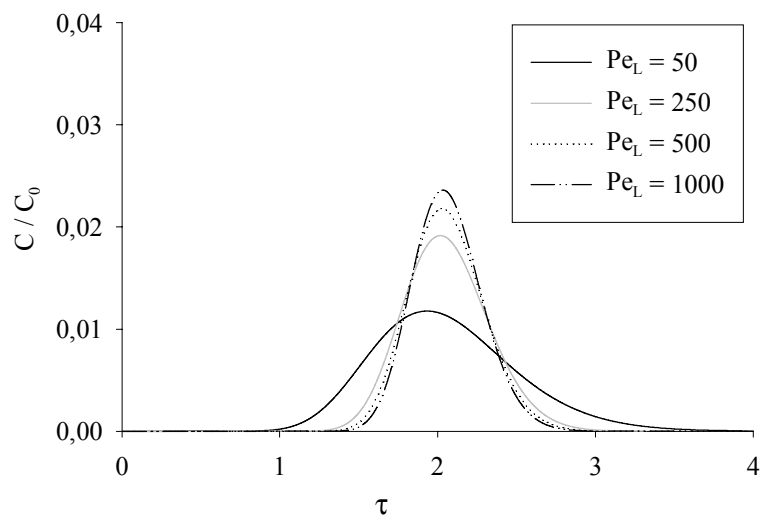


Figura 2 – Efeito do número de Peclet sobre a resolução do PEG.

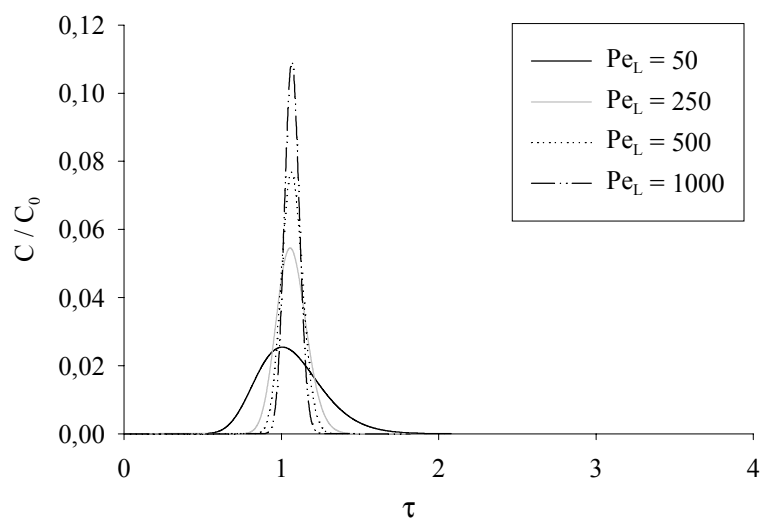


Figura 3 – Efeito do número de Peclet sobre a resolução da  $\beta$ -lg.

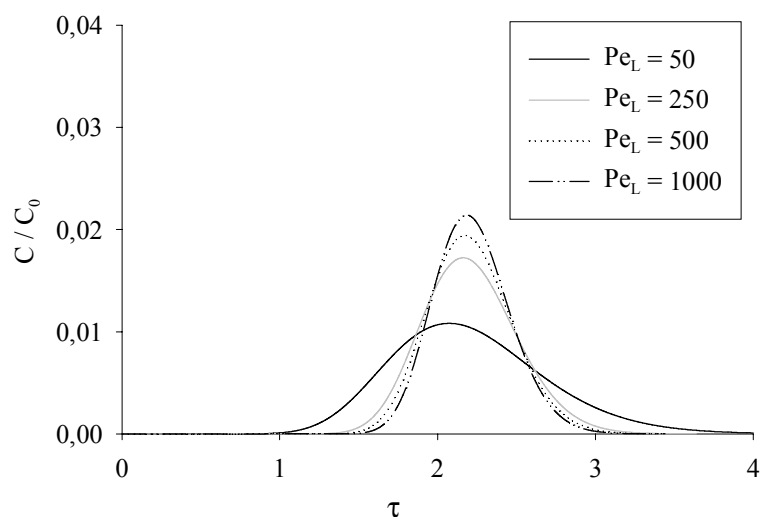


Figura 4 – Efeito do número de Peclet sobre a resolução do sal.

### Efeito do número de Biot

O número de Biot está relacionado com a razão entre a resistência à transferência de massa no filme e o coeficiente de difusão. Valores altos de Biot indicam que o processo de transferência de massa é limitado pela difusão intrapartícula. A influência do número de Biot na resolução da  $\alpha$ -la, do PEG, da  $\beta$ -lg e do sal é mostrada nas Figuras 5, 6, 7 e 8, respectivamente. Nessas simulações os parâmetros  $Pe_L$  e  $\eta$  foram fixos e iguais a 250 e 5, respectivamente. Observa-se que o número de Biot praticamente não influencia na formação dos picos das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg. Isso provavelmente aconteceu porque, como essas proteínas possuem um baixo valor de porosidade acessível da partícula, a maior parte delas passa pela coluna sem penetrar na partícula, e portanto, a influência de um parâmetro que depende do transporte de massa dentro da partícula é muito pequena. Isso não acontece com o PEG e com o sal, que possuem altos valores de porosidade acessível da partícula. Nesses casos, observa-se que quando o valor de Bi é pequeno, o pico torna-se muito largo e assimétrico, situação essa, indesejável do ponto de vista prático. Observa-se ainda que quando os valores de Bi são maiores que 5 os picos formados apresentam boa resolução, e que o pico para Bi igual a 5 é muito semelhante para o pico formado quando Bi é igual a 100, indicando que para valores maiores que 5, variações no Bi pouco alteram a forma dos picos.

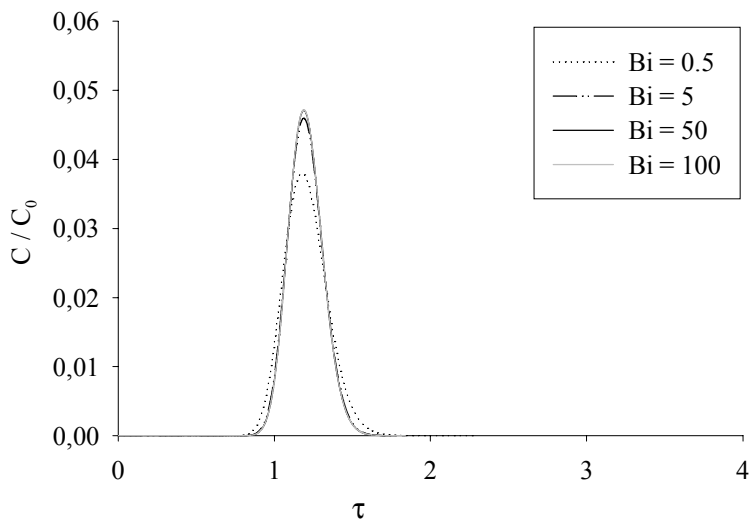


Figura 5 – Efeito do número de Biot sobre a resolução da  $\alpha$ -la.

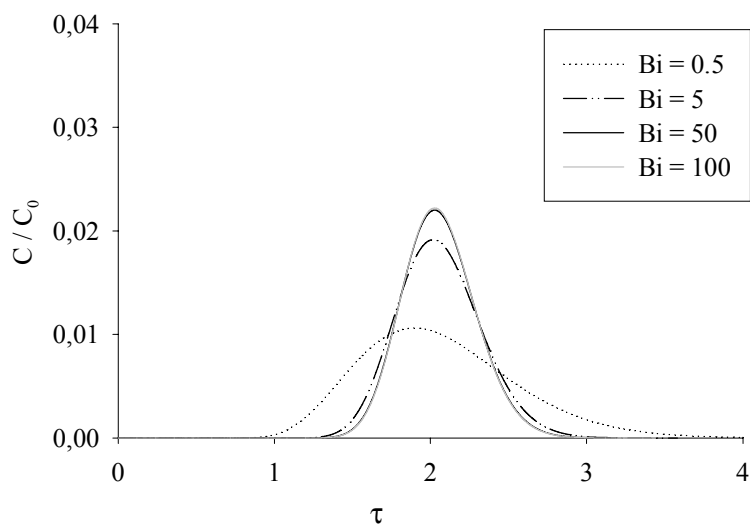


Figura 6 – Efeito do número de Biot sobre a resolução do PEG.

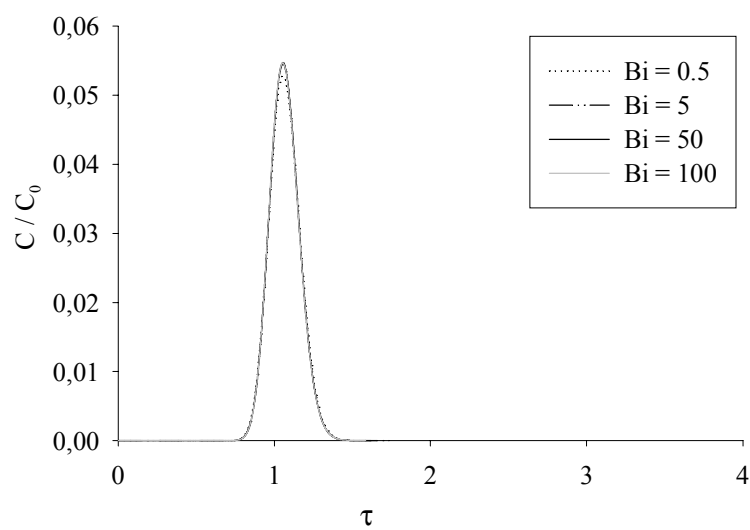


Figura 7 – Efeito do número de Biot sobre a resolução da  $\beta$ -lg.

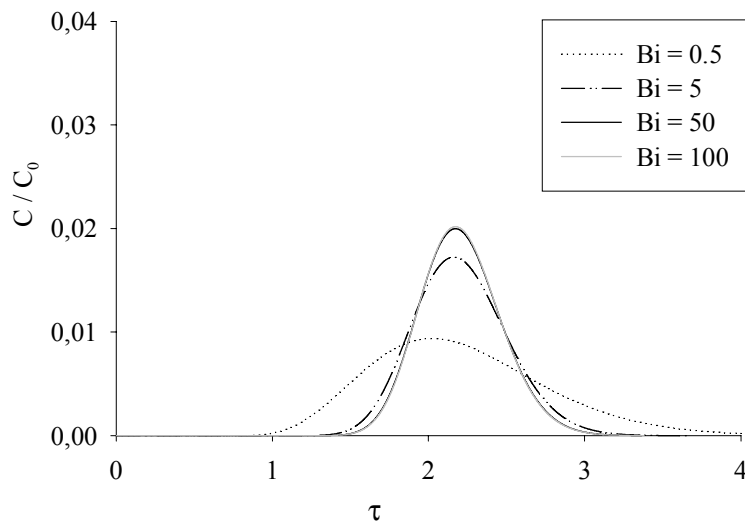


Figura 8 – Efeito do número de Biot sobre a resolução do sal.

### Efeito do parâmetro $\eta$

A influência do parâmetro  $\eta$  na resolução da  $\alpha$ -la, do PEG, da  $\beta$ -lg e do sal é mostrada nas Figuras 9, 10, 11 e 12, respectivamente. Nessas simulações os parâmetros  $Pe_L$  e  $Bi$  foram fixos e iguais a 250 e 5, respectivamente. Observa-se que o parâmetro  $\eta$  praticamente não influencia na formação dos picos da  $\beta$ -lg e que influencia muito pouco na formação dos picos da  $\alpha$ -la. Isso provavelmente aconteceu porque o parâmetro  $\eta$  depende da difusão intrapartícula e essas proteínas penetram muito pouco nas partículas devido aos baixos valores de porosidade acessível delas, sendo o da  $\beta$ -lg ainda menor que o da  $\alpha$ -la. Já nos casos do PEG e do sal, observa-se que, quando o valor de  $\eta$  é muito pequeno, o pico formado é muito largo e assimétrico, característica indesejável, como já mencionado anteriormente. Observa-se ainda que, quando os valores de  $\eta$  são maiores que 5, os picos formados apresentam boa resolução, e que o pico para  $\eta$  igual a 50 é muito semelhante para o pico formado quando  $\eta$  é igual a 100, indicando que para valores maiores que 50, variações no  $\eta$  pouco alteram a forma dos picos.

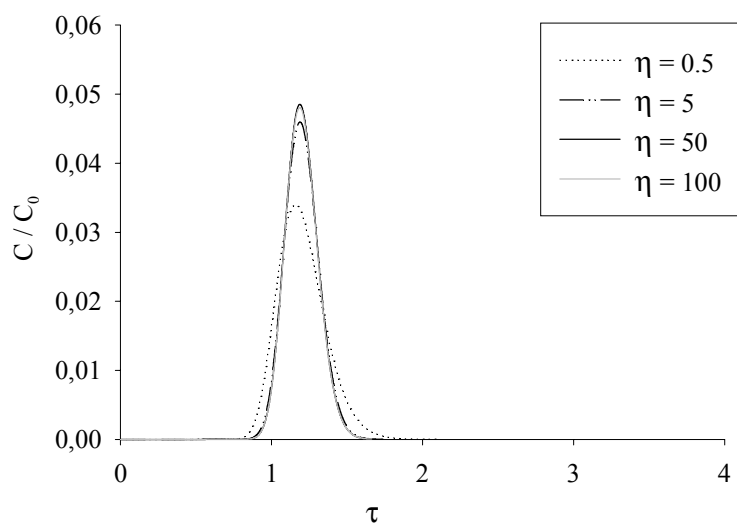


Figura 9 – Efeito do parâmetro  $\eta$  sobre a resolução da  $\alpha$ -la.

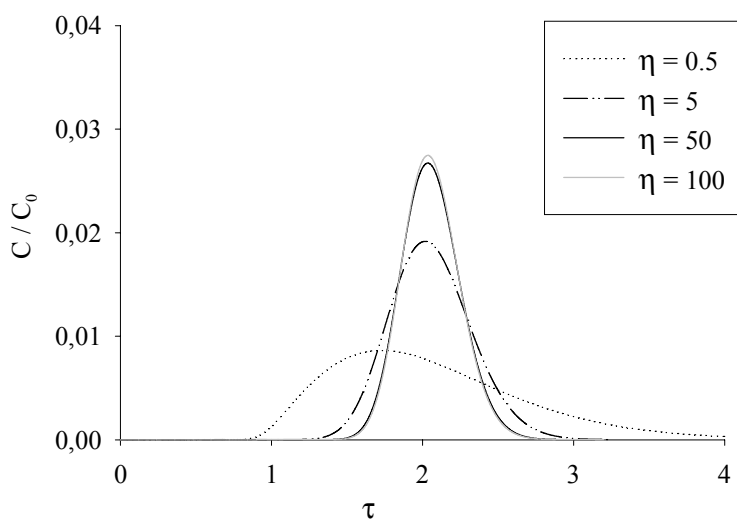


Figura 10 – Efeito do parâmetro  $\eta$  sobre a resolução do PEG.

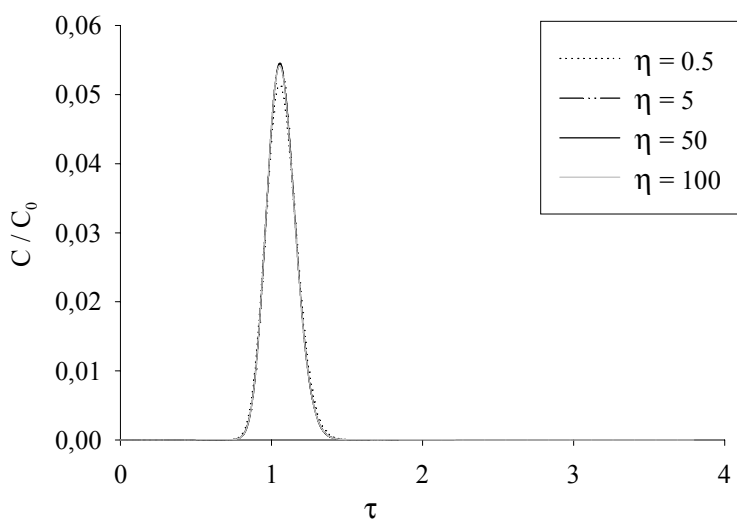


Figura 11 – Efeito do parâmetro  $\eta$  sobre a resolução da  $\beta$ -lg.

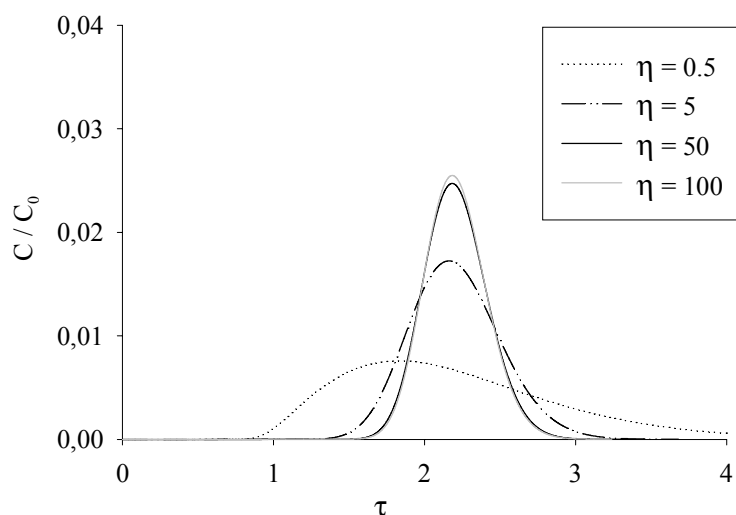


Figura 12 - Efeito do parâmetro  $\eta$  sobre a resolução do sal.

A partir da análise desses três parâmetros de transferência de massa, pode-se concluir que se os processos de cromatografia de exclusão molecular para purificação da  $\alpha$ -la presente na fase polimérica e da  $\beta$ -lg presente na fase salina do SAB forem realizados em condições tais que os valores de  $Pe_L$  sejam maiores que 250 para todos solutos, e os valores de  $Bi$  e  $\eta$  forem maiores que 5 para o PEG e o sal, os cromatogramas obtidos apresentariam boa resolução, sendo possível a purificação dessas proteínas. Sendo assim, foram feitas simulações dos processos de separação considerando  $Pe_L$  igual a 250 e  $Bi$  e  $\eta$  iguais a 5 para todos os solutos. Na Figura 13 pode-se visualizar o cromatograma referente ao processo de purificação da  $\alpha$ -la e na Figura 14 o cromatograma referente ao processo de purificação da  $\beta$ -lg.

### Comparação com dados experimentais

Para avaliar a adequação do modelo proposto, comparou-se cromatogramas obtidos experimentalmente com cromatogramas simulados pelo modelo. Foi injetado na coluna cromatográfica 0,5 mL da fase salina a uma vazão de 2,0 mL/min. O resultado experimental e simulado pelo modelo é apresentado na Figura 13. Já no caso da fase polimérica, injetou-se 0,5 mL a uma vazão de 4 mL/min e o resultado experimental e simulado pode ser visto na Figura 14. Todo o procedimento experimental foi realizado segundo Rojas (2002). Nas simulações, os parâmetros de transferência de massa foram obtidos

pelas correlações empíricas já apresentadas e seus valores são mostrados na Tabela 3. A Tabela 4 apresenta os valores correspondentes para os parâmetros de transferência de massa adimensionais. Observando as Figuras 13 e 14, pode-se concluir que o modelo conseguiu prever os picos com boa acurácia, indicando que ele é adequado para a simulação do processo.

Tabela 3 – Parâmetros de transferência de massa estimados pelas correlações

Soluto \ Parâmetro	$\alpha$ -la	$\beta$ -lg	PEG 1500	Fosfato de potássio
$D_b$ ( $10^{-3}$ cm <sup>2</sup> /s)	4,1760	2,0978	4,1760	2,0978
$D_p$ ( $10^{-6}$ cm <sup>2</sup> /s)	1,0344	0,9443	2,1778	5,3710
$K$ ( $10^{-3}$ cm <sup>2</sup> /s)	1,1380	0,8085	1,9651	3,0485

Tabela 4 – Parâmetros de transferência de massa adimensionais

Soluto \ Parâmetro	$\alpha$ -la	$\beta$ -lg	PEG 1500	Fosfato de potássio
$Pe_L$	508,41	506,04	508,41	506,04
$Bi$	42,31	107,02	6,42	3,55
$\eta$	0,25	0,14	2,88	16,19

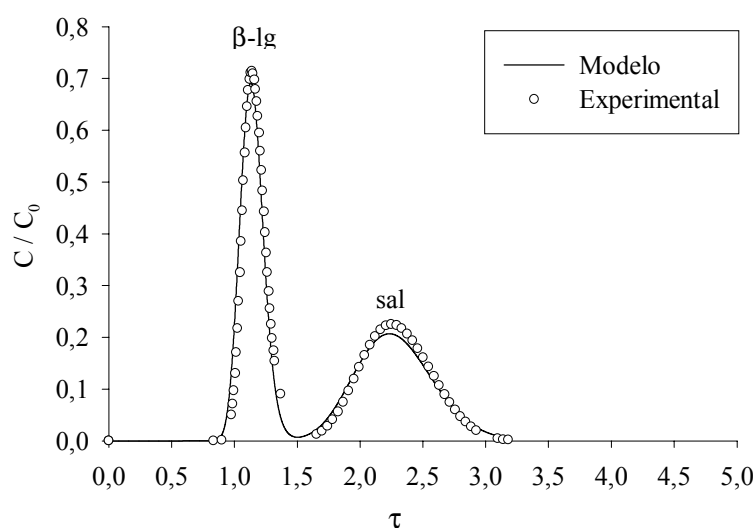


Figura 13 – Cromatograma para a fase salina.



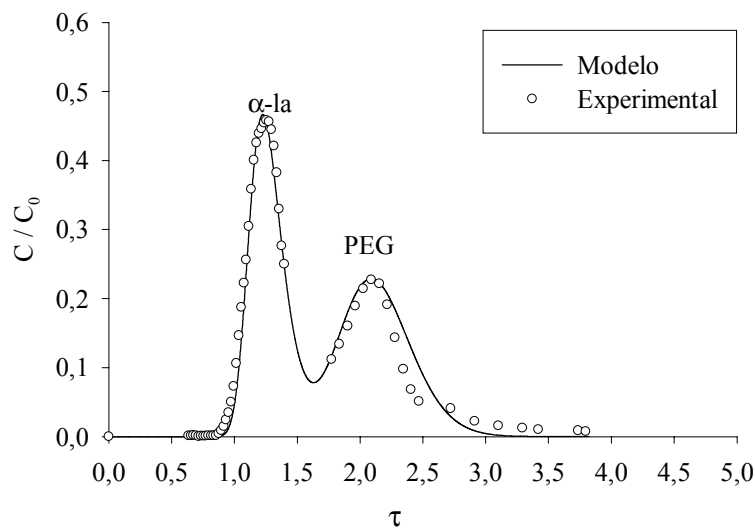


Figura 14 – Cromatograma para a fase polimérica.

### **Avaliação de desvios na estimativa dos parâmetros de transferência de massa**

Uma vez que nas simulações realizadas foram utilizados valores de parâmetros de transferência de massa estimados por correlações empíricas, foi feita uma análise de qual seria o impacto de um erro envolvido na estimativa desses parâmetros nos cromatogramas simulados pelo modelo. As Figuras 15, 16 e 17 mostram a influência dos parâmetros de transferência de massa  $D_b$ ,  $D_p$  e  $k$ , respectivamente, no cromatograma da fase salina ( $F = 2$  mL/min; volume injetado = 0,5 mL), quando se altera o valor desses parâmetros para a metade e para o dobro do valor estimado pelas correlações empíricas. Observa-se que, dentro desse intervalo, somente o parâmetro  $D_b$  exerce uma certa influência na formação dos picos da  $\beta$ -lg, enquanto que os picos do sal são influenciados pelos três parâmetros. Entretanto, mesmo essas alterações não iriam comprometer os resultados das simulações, uma vez que as resoluções dos cromatogramas são bastante semelhantes.

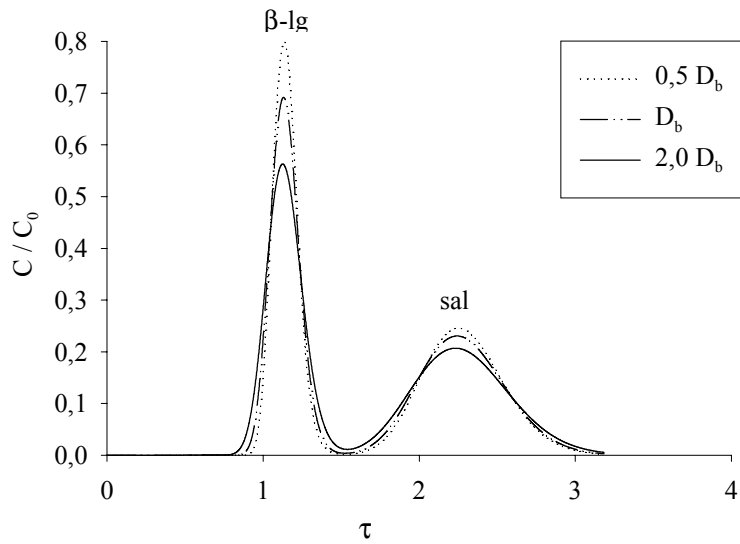


Figura 15 – Influência do coeficiente de dispersão axial no cromatograma da fase salina.

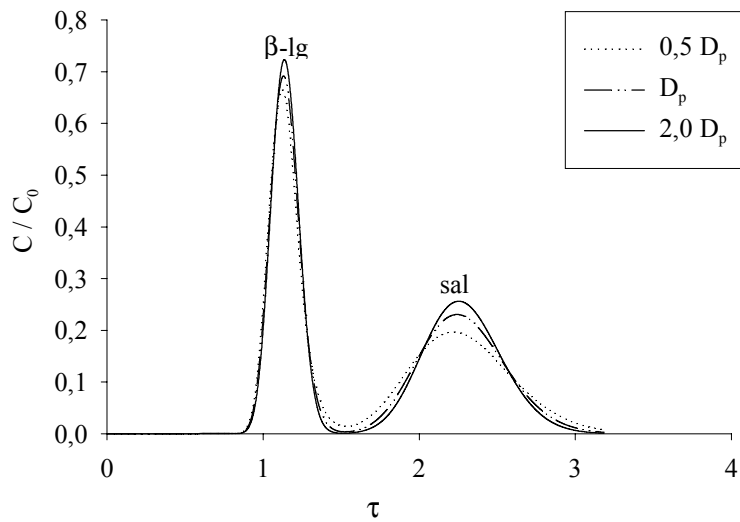


Figura 16 – Influência do coeficiente de difusão no cromatograma da fase salina.

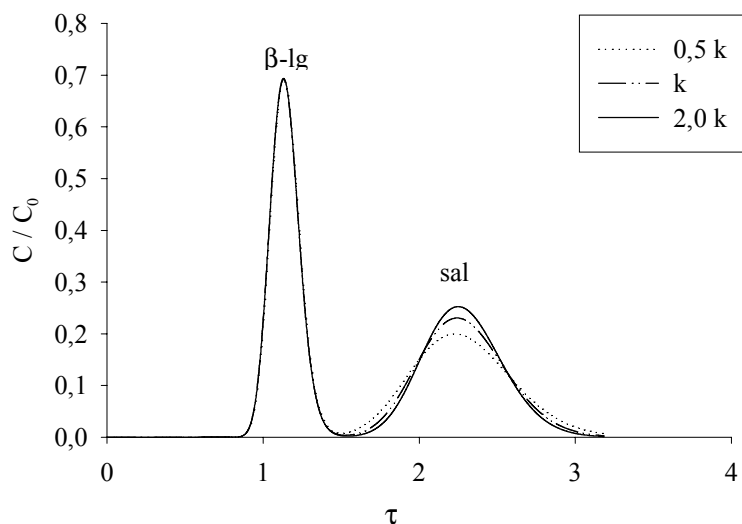


Figura 17 – Influência do coeficiente de transferência de massa no cromatograma da fase salina.

As Figuras 18, 19 e 20 mostram a influência dos parâmetros de transferência de massa  $D_b$ ,  $D_p$  e  $k$ , respectivamente, nos cromatogramas da fase polimérica ( $F = 4$  mL/min; volume injetado = 0,5 mL), quando se altera o valor desses parâmetros para a metade e para o dobro do valor estimado pelas correlações empíricas. Observa-se que, dentro desse intervalo, o parâmetro  $k$  praticamente não exerce influência na formação dos picos da  $\alpha$ -la que é influenciada apenas pelos parâmetros  $D_b$  e  $D_p$ , enquanto que os picos do PEG são influenciados pelos três parâmetros. No entanto, nota-se que apenas as alterações devido aos desvios nos valores do coeficiente de dispersão axial comprometeriam de forma significativa os resultados das simulações, pois nesse caso, as resoluções dos cromatogramas são bastante distintas.

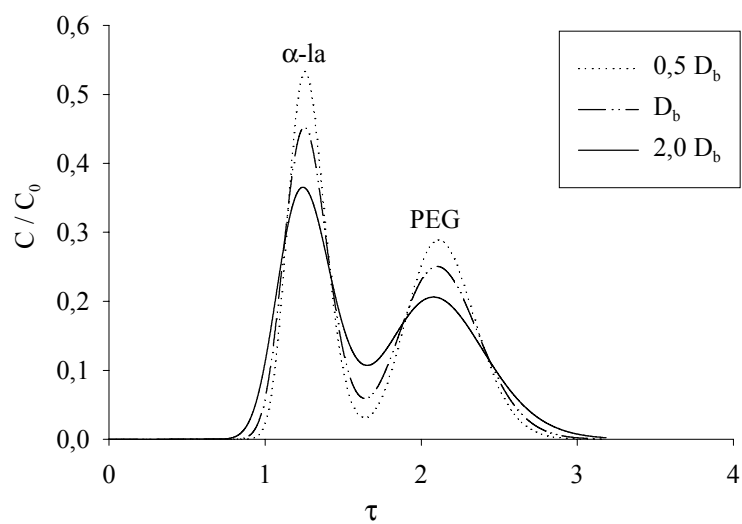


Figura 18 – Influência do coeficiente de dispersão axial no cromatograma da fase polimérica.

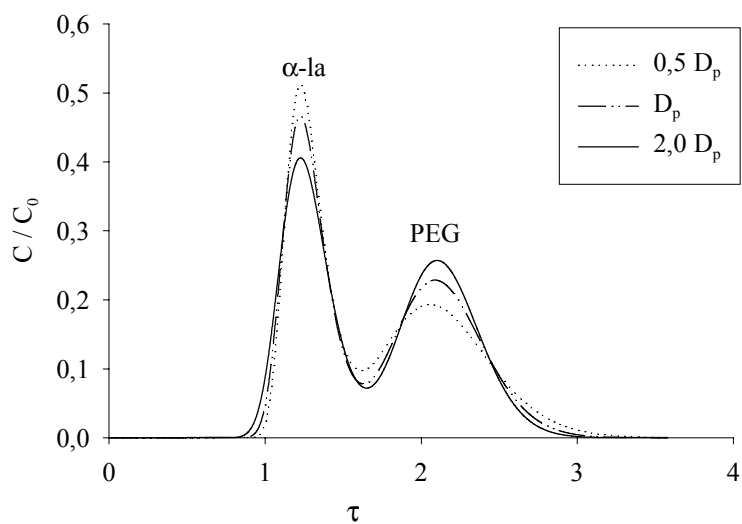


Figura 19 – Influência do coeficiente de difusão no cromatograma da fase polimérica.

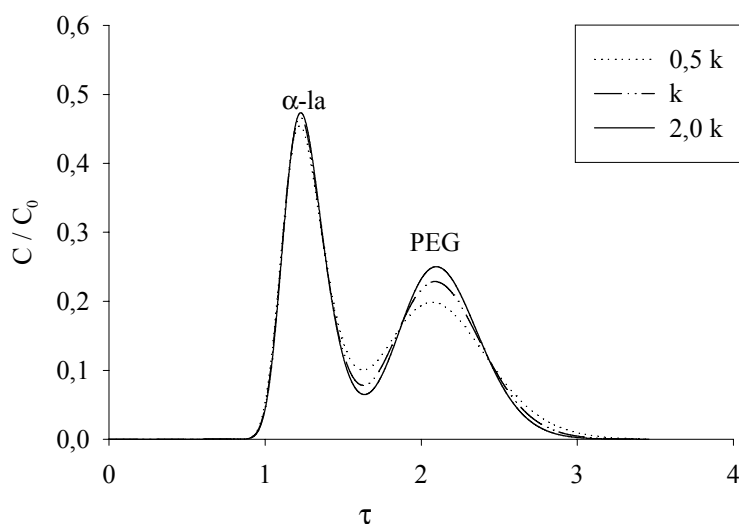


Figura 20 – Influência do coeficiente de transferência de massa no cromatograma da fase polimérica.

## Conclusões

O procedimento numérico para a solução do modelo de transferência de massa da CEM que considera dispersão axial, difusão dentro da partícula, resistência à transferência de massa na superfície da partícula e porosidade acessível da partícula foi eficiente para a simulação do processo de purificação das proteínas do soro,  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg, presentes nas fases polimérica e salina, respectivamente, provenientes do processo de fracionamento dessas proteínas pelo SAB composto por 18% de PEG 1500 e 18% de fosfato de potássio. A concordância dos picos simulados com os picos obtidos experimentalmente demonstra que o modelo proposto é adequado para a simulação dos sistemas em estudo. A análise nos desvios dos parâmetros de transferência de massa em relação aos valores estimados por correlações empíricas mostrou que um erro grande na estimação do coeficiente de dispersão axial poderia comprometer o resultado da simulação do cromatograma para a fase polimérica e que um erro na estimação dos outros parâmetros de transferência de massa não comprometeriam de forma significativa o resultado da simulação. No caso do cromatograma da fase salina, erros na estimação dos três parâmetros de transferência de massa não comprometeriam o resultado da simulação.

## Símbolos usados

### Símbolo Descrição

$B_{i_i}$	número de Biot de transferência de massa para o componente $i$
$C_{bi}$	concentração do componente $i$ na fase móvel
$C_{fi}$	concentração do componente $i$ na alimentação
$C_{0i}$	concentração usada para adimensionalização, $\max\{c_{fi}(t)\}$
$C_{pi}$	concentração do componente $i$ na fase líquida da fase estacionária
$c_{bi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase móvel
$c_{fi}$	concentração adimensional do componente $i$ na alimentação
$c_{pi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase líquida da fase estacionária
$D_{bi}$	coeficiente de dispersão axial do componente $i$
$D_{pi}$	coeficiente de difusão do componente $i$
$k_i$	coeficiente de transferência de massa para o componente $i$
$L$	altura do leito de partículas
$n$	número de nós em $z$
$Pe_{Li}$	número de Peclet para o componente $i$
$R$	coordenada radial para a partícula
$Re$	número de Reynolds
$R_p$	raio da partícula
$r$	coordenada radial adimensional para a partícula
$Sc$	número de Schmidt
$Sh$	número de Sherwood
$t$	tempo
$v$	velocidade intersticial da fase móvel
$Z$	coordenada axial
$z$	coordenada axial adimensional
$\Delta z$	incremento na direção axial

### Letras gregas

$\varepsilon_b$	fração de volume vazio do leito
$\varepsilon_p$	porosidade da partícula
$\varepsilon_{pi}^a$	porosidade da partícula acessível ao componente $i$
$\eta_i$	número adimensional para o componente $i$
$\xi_i$	número adimensional para o componente $i$
$\tau$	tempo adimensional
$\Delta\tau$	incremento de tempo adimensional
$\tau_{imp}$	tempo de duração adimensional de injeção de um pulso retangular de amostra

## Referências bibliográficas

ASENJO, J. A. **Separation processes in biotechnology**. New York: Marcell Dekker, 1968. 801p.

BURNOUF, T. Integration of chromatography with traditional plasma protein fractionation methods, **Bioseparation**, London, v.1, p.383-396, 1991.

CAYOT, P.; LORIENT, D. Structure-function relationships of whey proteins. In: DAMADARAN, S.; PARAF, A. **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, Inc. 1997. p.225-256.

CHUNG, S. F.; WEN, C. Y. Longitudinal dispersion of liquid flowing through fixed and fluidized beds, **AIChE Journal**, New York, v.14, p.857, 1968.

FISCHER, L. **Gel filtration chromatography**. Amsterdam: Elsevier, 1980. 335p.

GU, T. **Mathematical modeling and scale-up of liquid chromatography**. New York: Springer, 1995. p.9-38.

JOSIC, D. et al. **Journal of chromatography A**, Amsterdam, v.796, p.289, 1998.

KAERSGAARD, P.; BARINGTON, K. A. **Journal of chromatography B**. Amsterdam, v.715, p.357, 1998.

KIM, D. H.; JOHNSON, A. F. Computer model for gel permeation chromatography of polymers. **ACS symposium series**, Washington, v.245, p.25-45, 1984.

LI, Z.; GU, Y.; GU, T. Mathematical modeling and scale-up of size-exclusion chromatography. **Biochemical engineering journal**, Manchester, v.2, p.145-155, 1998.

MCINTOSHI, G. H. et al. Whey proteins as functional food ingredients? **International Dairy Journal**, Oxford, v.8, p.425-434, 1998.

MCKENZIEY, H. A. **Milk proteins, chemistry and molecular biology**. New York: Academic Press, 1970. 286p.

MOORE, J. C. Gel permeation chromatography I, new method for molecular weight distribution of high polymers. **Journal of polymer science part A**, Chichester, v.2, p.835-843, 1964.

MORR, C.; HÁ, E. W. Whey protein concentrates and isolates processing and functional properties. **Critical reviews in food science and nutrition**, Amherst, v.33, n.6, p.431-476, 1993.

REGESTER, G. O. et al. Whey proteins as nutritional and functional food ingredients. **Food Australia**, Waterloo, v.48, p.123-127, 1996.

SIMPSON, J. M. Conventional chromatography. In: HARRISON, R. G. **Protein purification process engineering**. New York: Marcel Dekker, 1995. p.209-258.

SMITHERS, G. W. et al. New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.79, p.1454-1459, 1996.

SPIEKER, A.; KLOPPENBURG, E.; GILLES, E. Computer modeling of chromatographic bioseparation. In: SUBRAMANIAN, G. **Bioseparation and bioprocessing**. Weinheim: WILEY-VCH, 1998. v.1, p.329-362.

TRUEI, Y. et al. Large-scale gradient elution chromatography. **Advances in biochemical engineering/biotechnology**, Berlin, v.47, p.1-43, 1992.

WHEELWRIGHT, S. M. **Protein purification: design and scale up of downstream processing**. Munich: Hanser Publishers, 1991. p.204-215.

YAMAMOTO, S. Estimation of optimum fractionation conditions in liquid chromatography, **Kemikaru Enjiniyaringu**, v.36, p.513-517, 1991.

YAU, W. W.; KIRKLAND, J. J.; BLY, D. D. **Modern size-exclusion liquid chromatography practice of gel permeation and gel filtration chromatography**. New York: Wiley-Interscience, 1979. 53p.

YOUNG, M. E.; CARROAD, P. A.; BELL, R. L. Estimation of diffusion coefficients of proteins. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.22, p.947, 1980.

ZUÑIGA, A. D. G. **Sistemas aquosos polietilenoglicol-sal: separação de  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina do soro de queijo e hidrodinâmica em um extrator graesser**. 2000. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.



# **Modelagem e Simulação do Processo de Adsorção das Proteínas do Soro, $\alpha$ -Lactoalbumina e $\beta$ -Lactoglobulina, em Tanques Agitados**

## **Resumo**

Foi desenvolvido um procedimento numérico para a solução do modelo de transferência de massa para adsorção em tanques agitados que considera difusão dentro da partícula, resistência à transferência de massa no filme líquido na superfície da partícula e equilíbrio local. O modelo foi capaz de simular rapidamente, com um tempo de simulação variando de 10 segundos a 47 segundos, a adsorção simultânea das proteínas do soro,  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg), por uma resina de troca iônica. A partir do modelo desenvolvido várias simulações foram feitas para estudar o efeito dos parâmetros de transferência de massa, coeficiente de difusão e coeficiente de transferência de massa, nas cinéticas de adsorção das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg.

## **Summary**

A numerical procedure for the solution of the mass transfer model to adsorption in stirred tanks was developed that considers intraparticle diffusion, mass transfer resistance in the liquid film of the particle surface and local equilibrium. The model was capable to simulate quickly, with a simulation time varying of 10 seconds to 47 seconds, the simultaneous adsorption of whey proteins,  $\alpha$ -lactalbumin ( $\alpha$ -la) and  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -lg), by an ionic exchange resin. From the developed model some simulations had been made to study the effect of the mass transfer parameters, diffusion coefficient and mass transfer coefficient, in the adsorption kinetic of proteins  $\alpha$ -la and  $\beta$ -lg.

## Soro de queijo

O soro de queijo é um produto biológico proveniente das indústrias de laticínios e possui em sua composição substâncias como peptídeos, aminoácidos, lactose, ácido láctico, proteínas, resíduos de caseínas e de gordura do leite e minerais. A principal aplicação para o soro de queijo tem sido na alimentação animal, no entanto, alguns trabalhos têm sido dedicados na recuperação de importantes componentes do soro, como as proteínas, que uma vez separados e purificados adequadamente, podem ser utilizados nas indústrias de alimentos e farmacêutica (Carrère, 1993).

O soro contém uma rica e variada mistura de proteínas com várias propriedades físico-químicas e funcionais (Smithers et al., 1996). Segundo Morr e Há (1993), as proteínas do soro de queijo são de elevado valor funcional e podem ser empregadas como espumantes e emulsificantes e possuem capacidade para substituir outros ingredientes mais dispendiosos nas indústrias de alimentos. Elas constituem uma fonte excepcionalmente rica e balanceada de aminoácidos (Regester et al., 1996). As indústrias de alimentos exploram as propriedades funcionais das proteínas tais como absorção e ligação de água, capacidade de formação de gel, elasticidade, emulsificação entre outras, na produção de alimentos processados como carnes, pães, biscoitos, cereais matinais, massas, produtos de confeitaria, queijos, iogurtes e sorvetes (Cayot e Lorient, 1997).

A Tabela 1 apresenta a composição protéica do soro bovino. As proteínas que ocorrem em maior quantidade são a  $\alpha$ -la e a  $\beta$ -lg. Elas representam aproximadamente 70% da quantidade de proteínas no soro e são responsáveis pelas propriedades de hidratação, capacidade de formação de géis e propriedades relacionadas a atividades superficiais (propriedade emulsificante e espumante) (Cayot e Lorient, 1997).

Nas últimas décadas, tem havido crescente interesse pela utilização das proteínas do soro em formulações de produtos da indústria de alimentos destinados a crianças, diabéticos e consumidores de produtos enriquecidos (Wit, 1998).

Tabela 1 – Composição protéica do soro bovino

Proteína	Concentração média no soro (g/L)	Massa Molecular (kDa)
$\beta$ -Lactoglobulina	3-4	18.4
$\alpha$ -Lactoalbumina	1.5	14.2
Albumina do soro	0.3-0.6	69
Imunoglobulinas	0.6-0.9	150-900
Lactoperoxidase	0.06	78
Lactoferrina	0.05	78
Protease-peptona	0.5	4-20

Fonte: McKenzey (1970).

Segundo a avaliação da “Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scoring”, as proteínas do soro alcançam o valor biológico de 1,0 (em uma escala de 0 a 1), dada sua excelente digestibilidade e pelo fato de fornecer ou superar a quantidade recomendada de cada aminoácido essencial (USDEC News, 1999).

### **Alfa-lactoalbumina**

A  $\alpha$ -la é uma proteína globular que contém 123 resíduos de aminoácidos e possui uma massa molar de 14200 Da. O aminoácido triptofano é o mais abundante nessa proteína, representando, aproximadamente, 6%. É apropriada para a preparação de alimentos infantis e possui um custo relativamente baixo (Bramaud et al., 1997). O ponto isoelétrico é de 5,1, sendo facilmente desnaturada em pH 6,7, à temperatura de 65,2 °C (Morr e Há, 1993). A partir da  $\alpha$ -la são obtidos peptídeos que contêm triptofano, precursor da serotonina (Grasselli et al., 1997).

### **Beta-lactoglobulina**

A  $\beta$ -lg representa cerca do 50% do total das proteínas do soro, é constituída de 162 resíduos de aminoácidos e possui uma massa molar de, aproximadamente, 18400 Da. Tem ponto isoelétrico 5,3, é termolábil e apresenta mudanças conformacionais reversíveis a temperaturas inferiores a 70 °C. Temperaturas elevadas podem provocar a desnaturação e a polimerização

irreversível desta proteína, que é considerada um ótimo agente formador de géis (Morr e Há, 1993).

A  $\beta$ -lg pode ser usada para fortificação de bebidas e sucos de frutas, em razão de sua grande solubilidade, de sua estabilidade e de seu valor nutritivo. Preparados enzimáticos hidrolisados são empregados como suplemento na alimentação de convalescentes, já que muitos peptídeos da  $\beta$ -lg podem ser absorvidos diretamente pelo intestino. A partir de hidrolisados de  $\beta$ -lg são também preparados leites com baixo conteúdo de fenilalanina, usados na alimentação de lactantes com fenilcetonúria (Grasselli et al., 1997).

A aplicação direta do soro em leites infantis não deve ser feita, pois eleva o conteúdo de  $\beta$ -lg, quando comparado com o leite materno, que apresenta apenas resíduos desta proteína. A  $\beta$ -lg é conhecida como o principal componente alergênico do leite bovino, razão por que um dos objetivos do processamento das proteínas do soro é a redução do seu conteúdo, ao mesmo tempo em que são retidas as outras proteínas (Mäkinen-Kiljunen e Sorva, 1993).

### **Cromatografia preparativa**

Processos cromatográficos são freqüentemente utilizados para purificação de moléculas, principalmente de origem biológica. O grande sucesso das separações cromatográficas de proteínas é a sua habilidade de atingir elevado grau de pureza a partir de misturas com reduzidas concentrações dos compostos de interesse (Boschetti e Coffman, 1994).

O termo cromatografia refere-se a um grupo de técnicas de separação que são caracterizadas por uma distribuição das moléculas a serem separadas entre duas fases, uma estacionária e a outra móvel. Moléculas com uma alta tendência a permanecerem na fase estacionária moverão ao longo do sistema com uma velocidade menor que aquelas que têm mais afinidade pela fase móvel (Janson e Rydén, 1998).

Várias versões de cromatografia líquida são utilizadas, diferindo principalmente nos tipos de fases estacionárias. Uma destas, cromatografia por

exclusão molecular, é baseada em princípios muito diferentes que os das outras versões de cromatografia líquida (Janson e Rydén, 1998).

A cromatografia é um poderoso método de separação, pois pode separar vários componentes facilmente, sob condições experimentais onde as duas fases de um sistema estão sempre próximas do equilíbrio. Isto ocorre devido à rápida transferência de massa entre as duas fases. O poder de separação de uma coluna, sob um dado conjunto de condições experimentais, é uma função da cinética de transferência de massa e do coeficiente de dispersão axial. O fenômeno de transferência de massa em uma coluna cromatográfica engloba os efeitos da difusão, da resistência à transferência de massa, das cinéticas de adsorção e dessorção e da viscosidade (Guiochon et al., 1994).

O processo de cromatografia em coluna provou ser uma técnica extremamente eficiente para a separação de moléculas em extratos biológicos. Desde o desenvolvimento dos primeiros trocadores iônicos a base de celulose por Peterson e Sober (1956) e do primeiro meio prático de exclusão molecular por Porath e Flodin (1959), tem sido introduzido uma ampla variedade de adsorventes que exploram as várias propriedades da proteína para o seu fracionamento. Abaixo são listados as mais importantes dessas técnicas e os métodos que dominam a separação (Janson e Rydén, 1998):

1. Exclusão molecular: tamanho e forma;
2. Cromatografia de troca iônica: carga líquida e distribuição dos grupos carregados;
3. “Cromatofocusing”: ponto isoelétrico;
4. Cromatografia de interação hidrofóbica: hidrofobicidade;
5. Cromatografia de fase reversa: hidrofobicidade;
6. Cromatografia de afinidade com íon metálico imobilizado: complexação por metais;
7. Cromatografia covalente: Conteúdo de grupos tiois expostos;
8. Cromatografia de afinidade: afinidades bioespecíficas por ligantes, inibidores, receptores, anticorpos, etc.

Normalmente esses métodos têm requerimentos muito diferentes com relação às condições cromatográficas. Isto se aplica à força iônica, pH e vários

aditivos como detergentes, agentes redutores e metais. Por meio de ajustes apropriados da composição da fase móvel, as condições para adsorção e dessorção da proteína desejada podem ser otimizadas. Deve-se ressaltar que o resultado de uma separação cromatográfica particular normalmente depende de mais de um parâmetro. Em cromatografia de troca iônica, por exemplo, a interação dos grupos carregados é o parâmetro dominante, mas, a massa molar e os efeitos hidrofóbicos podem também contribuir em algum grau, dependendo das condições experimentais. Métodos altamente específicos, como aqueles baseados em bioafinidade, pode, em alguns casos, obter um soluto com elevada pureza em um único passo. Contudo, normalmente tem-se que combinar vários métodos cromatográficos para alcançar a purificação completa de um soluto a partir de um extrato biológico. Com a ampla variedade de meios cromatográficos disponíveis hoje, isso pode ser feito normalmente em um curto período de tempo (Janson e Rydén, 1998).

O desenvolvimento de técnicas e métodos para a separação e purificação de moléculas biológicas, tais como proteínas, tem sido um pré-requisito importante para muitos dos avanços feitos em biotecnologia nas últimas três décadas. O desenvolvimento de novos materiais e a utilização de instrumentos baseados em microprocessadores fez com que as separações de moléculas se tornassem mais fáceis de serem preditas e controladas, embora muito ainda tenha que ser desenvolvido nessa área. Na área de cromatografia, o desenvolvimento de novos materiais de empacotamento tem possibilitado um grande crescimento das técnicas de alta resolução desde escala analítica até escala industrial, em colunas com volumes de leito da ordem de centenas de litros (Janson e Rydén, 1998).

### **Adsorção**

A maioria dos tipos de cromatografia usados para separação de proteínas pode ser adequadamente tratada em conjunto sob o termo cromatografia de adsorção. Isso implica que as moléculas da amostra são adsorvidas na superfície da fase estacionária.

## Modelo de transferência de massa para adsorção em tanques agitados

Arves e Liapis (1987) apresentaram um modelo geral para prever o comportamento dinâmico da adsorção em tanques agitados. Este modelo leva em consideração a difusão dentro dos poros da partícula e a resistência à transferência de massa no filme de líquido na superfície da partícula. Horstmann e Chase (1989) e Carrère (1993) utilizaram um modelo similar para a adsorção de proteínas em resinas trocadoras de íons. As equações do modelo englobam um balanço de massa sobre a partícula e um balanço de massa na fase líquida externa à partícula. As seguintes considerações básicas foram utilizadas para a formulação do modelo:

1. O processo de adsorção é isotérmico.
2. Os adsorventes porosos são esféricos e uniformes com relação ao tamanho.
3. Existe equilíbrio local para cada componente entre a superfície do poro e o líquido estagnado dentro dos poros.
4. Os coeficientes de difusão e de transferência de massa são constantes e independentes de efeitos de misturas dos componentes.

Com essas considerações, as seguintes equações podem ser formuladas a partir do balanço de massa para cada componente nas fases extrapartícula e intrapartícula, respectivamente:

$$\frac{\partial C_{bi}}{\partial t} + \frac{3V_p k_i}{R_p V_b} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) = 0 \quad (1)$$

$$(1 - \varepsilon_p) \frac{\partial C_{pi}^s}{\partial t} + \varepsilon_p \frac{\partial C_{pi}}{\partial t} - \varepsilon_p D_{pi} \left[ \frac{1}{R^2} \frac{\partial}{\partial R} \left( R^2 \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} \right) \right] = 0 \quad (2)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno

$$t = 0 \Rightarrow C_{bi} = C_{0i} \quad (3)$$

$$t = 0 \Rightarrow C_{pi} = 0 \quad (4)$$

$$R = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = 0 \quad (5)$$

$$R = R_p \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = \frac{k_i}{\varepsilon_p D_{pi}} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) \quad (6)$$

Utilizando os termos adimensionais:

$$c_{bi} = \frac{C_{bi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi} = \frac{C_{pi}}{C_{0i}}; \quad r = \frac{R}{R_p}; \quad \tau = \frac{t D_{pi}}{R_p^2}; \quad \text{Bi} = \frac{k_i R_p}{\varepsilon_p D_{pi}}.$$

O sistema de equações diferenciais parciais pode ser transformado nas seguintes formas adimensionais:

$$\frac{dc_{bi}}{d\tau} = -\frac{3V_p}{V_b} \text{Bi} (c_{bi} - c_{pi, r=1}) \quad (7)$$

$$\frac{\partial}{\partial \tau} [(1 - \varepsilon_p) c_{pi}^s + \varepsilon_p c_{pi}] - \varepsilon_p \left[ \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} \right) \right] = 0 \quad (8)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno adimensionalizadas:

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{bi} = 1 \quad (9)$$

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{pi} = 0 \quad (10)$$

$$r = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = 0 \quad (11)$$



$$r = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = \text{Bi}(c_{bi} - c_{pi,r=1}) \quad (12)$$

As Equações (1) e (2) são acopladas via  $C_{pi,R=R_p}$  que é a concentração do componente  $i$  na superfície da partícula. Na Equação (2),  $C_{pi}^s$  é a concentração do componente  $i$  na fase sólida do adsorvente com base na unidade de volume do sólido, excluindo os poros. Ela está diretamente associada com as isotermas de adsorção que estão acopladas ao sistema de equações diferenciais parciais com base na consideração 3. As concentrações  $C_{bi}$  e  $C_{pi}$  são baseadas na unidade de volume da fase extrapartícula.

### **Isoterma de adsorção**

No estudo de equilíbrio, podemos definir isoterma de equilíbrio como sendo uma relação que representa a quantidade (concentração) de um determinado componente em um certo volume ou massa de fase estacionária em função da concentração desse mesmo componente na fase líquida, no estado de equilíbrio. Logo, a isoterma é uma equação que representa a relação funcional de  $C_{pi}^s$  com  $C_{pi}$ . Assim, para se resolver o sistema de equações algébricas representado pelas equações 7 e 8, é necessário o conhecimento da isoterma de equilíbrio. As isotermas mais utilizadas atualmente no equilíbrio sólido-líquido são a de Langmuir e a de Freundlich. Essas isotermas têm permitido uma correta descrição dos dados experimentais em vários estudos envolvendo soluções diluídas de um componente fortemente adsorvido em um solvente puro (Guiochon et al., 1994; Spieker et al., 1998).

A isoterma de Langmuir (1916) consegue explicar de forma adequada os dados de adsorção adquiridos em baixas ou moderadas concentrações. Em altas concentrações, por outro lado, os coeficientes de atividade das espécies em solução são dependentes da concentração, e, dessa forma, desvios do modelo de Langmuir são observados. Essa isoterma pode ser escrita na forma:

$$C_{pi}^S = \frac{q_m C_{pi}}{k_d + C_{pi}} \quad (13)$$

### Estratégia de solução numérica do modelo

A Equação (8) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $r$ , utilizando a técnica de diferenças finitas centrais com  $n$  nós ao longo de  $r$ , gerando as seguintes equações diferenciais ordinárias:

- Centro da partícula:

$$\left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right)_1 = \frac{6\varepsilon_p}{\Delta r^2} (c_{pi}|_2 - c_{pi}|_1) \quad (14)$$

- Interior da partícula:

$$\begin{aligned} \left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right)_j &= \left( \frac{\varepsilon_p}{\Delta r^2} - \frac{\varepsilon_p}{r\Delta r} \right) c_{pi}|_{j-1} - \frac{2\varepsilon_p}{\Delta r^2} c_{pi}|_j \\ &+ \left( \frac{\varepsilon_p}{\Delta r^2} + \frac{\varepsilon_p}{r\Delta r} \right) c_{pi}|_{j+1} \end{aligned} \quad (15)$$

- Superfície da partícula:

$$\begin{aligned} \left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right)_j &= \frac{2\varepsilon_p}{\Delta r^2} c_{pi}|_{j-1} - \left( 2\varepsilon_p \text{Bi} + \frac{2\varepsilon_p \text{Bi}}{\Delta r} + \frac{2\varepsilon_p}{\Delta r^2} \right) c_{pi}|_j \\ &+ \left( 2\varepsilon_p \text{Bi} + \frac{2\varepsilon_p \text{Bi}}{\Delta r} \right) c_{bi} \end{aligned} \quad (16)$$

O índice subscrito após as barras indica o nó ao longo de  $r$ . Na Equação (15),  $j$  deve variar de 1 a  $n$ . Assim, foram geradas  $n$  equações diferenciais ordinárias para a partícula e 1 equação para o líquido fora da partícula, ou seja,  $n + 1$  equações diferenciais ordinárias para cada soluto, totalizando  $(n + 1)N_c$  equações diferenciais ordinárias, sendo  $N_c$  o número de componentes. As

equações diferenciais ordinárias resultantes foram resolvidas utilizando o método implícito de diferenças finitas, ou seja diferenças finitas com o passo à frente. Isso resultou em um sistema de equações algébricas, não linear, com  $(n + 1)N_c$  equações em cada incremento de tempo, que é resolvido utilizando o método de Gauss-Seidl. Nesse trabalho foi utilizada uma tolerância de  $10^{-8}$  como critério de convergência do método Gauss-Seidl. O perfil de concentração na fase extrapartícula e intrapartícula foi acompanhado visualmente de forma gráfica durante todo o tempo da simulação. Essas características foram implementadas em um programa desenvolvido no Visual Basic 6.0. Todas as simulações foram realizadas em um AMD Athlon<sup>®</sup> 750 MHz. O tempo gasto nessas simulações variou de 10 segundos a 47 segundos.

### Simulações

Nas simulações da adsorção das proteínas do soro em tanques agitados foi utilizado o modelo de isoterma de Langmuir. A adsorção foi feita na resina de troca iônica Accel Plus QMA<sup>®</sup>, cuja densidade da partícula é 2,32 g/mL, com porosidade e diâmetro da partícula de 0,63 e 0,0046 cm, respectivamente. Os parâmetros da isoterma de adsorção para a  $\alpha$ -la e para a  $\beta$ -lg nessa resina foram obtidos por Ferreira (2001), e são apresentados na Tabela 2. Em todas as simulações foram considerados valores de concentração inicial para a  $\alpha$ -la e para a  $\beta$ -lg de 1,5 mg/mL e 4 mg/mL, respectivamente. O volume líquido no tanque é 100 mL e a massa de resina é de 5 g.

Tabela 2 - Parâmetros da isoterma de Langmuir

Proteína	$\alpha$ -la	$\beta$ -lg
Parâmetro		
$q_m$ (mg/g)	71,48	179,23
$K_d$ (mg/mL)	1,08	3,71

### Influência do coeficiente de difusão

Para avaliar a influência do coeficiente de difusão na cinética de transferência de massa das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg fixou-se o valor do coeficiente

de transferência de massa em  $2 \times 10^{-3}$  cm/s, valor esse que representa uma baixa resistência à transferência de massa no filme. As Figuras 1 e 2 mostram as cinéticas de adsorção das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg, respectivamente, para diferentes valores de coeficiente de difusão. Observa-se que para valores de coeficiente de difusão acima de  $1,0 \times 10^{-6}$  cm<sup>2</sup>/s a transferência de massa é extremamente rápida, ou seja, a resistência à transferência de massa por difusão é baixa. No entanto, para valores abaixo de  $5,0 \times 10^{-7}$  cm<sup>2</sup>/s a cinética já não é tão rápida, e a difusão torna-se um fator limitante à transferência de massa. Coeficientes de difusão de proteínas em matrizes cromatográficas são da ordem de  $10^{-7}$  cm<sup>2</sup>/s (Spieker et al., 1998). Dessa forma, modelos para adsorção de proteínas não devem desprezar a resistência à transferência de massa por difusão, a menos que a resistência à transferência de massa no filme seja muito maior que a resistência devido à difusão, o que normalmente não ocorre em processos de cromatografia preparativa.

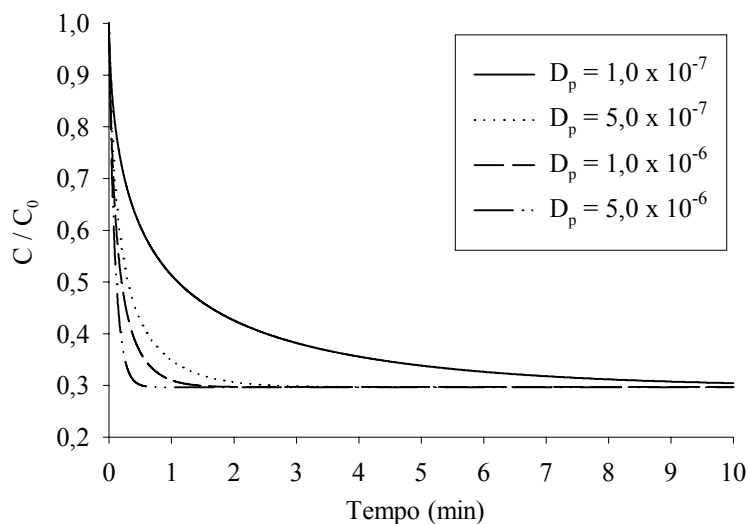


Figura 1 – Cinética de transferência de massa da proteína  $\alpha$ -la para diferentes valores de  $D_p$ . Os valores de  $D_p$  estão em cm<sup>2</sup>/s.

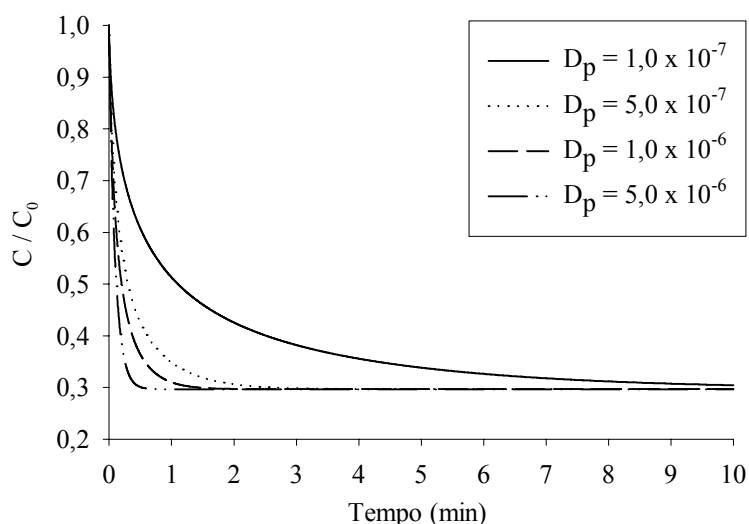


Figura 2 – Cinética de transferência de massa da proteína  $\beta$ -lg para diferentes valores de  $D_p$ . Os valores de  $D_p$  estão em  $\text{cm}^2/\text{s}$

### Influência do coeficiente de transferência de massa

Para avaliar a influência do coeficiente de transferência de massa na cinética de transferência de massa das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg fixou-se o valor do coeficiente de difusão em  $5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ , valor esse que representa uma baixa resistência à transferência de massa por difusão. As Figuras 3 e 4 mostram as cinéticas de transferência de massa das proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg, respectivamente, para diferentes valores de coeficiente de transferência de massa. Observa-se que para valores de coeficiente de transferência de massa acima de  $5,0 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$  a cinética é extremamente rápida, ou seja, a resistência à transferência de massa por difusão é baixa. No entanto para valores acima de  $5,0 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$  a cinética já não é tão rápida, e a transferência de massa no filme torna-se um fator limitante. A espessura do filme  $e$ , portanto, o coeficiente de transferência de massa, é determinado pelas condições hidrodinâmicas e depende da velocidade do líquido em torno da partícula (Guiochon et al., 1994).

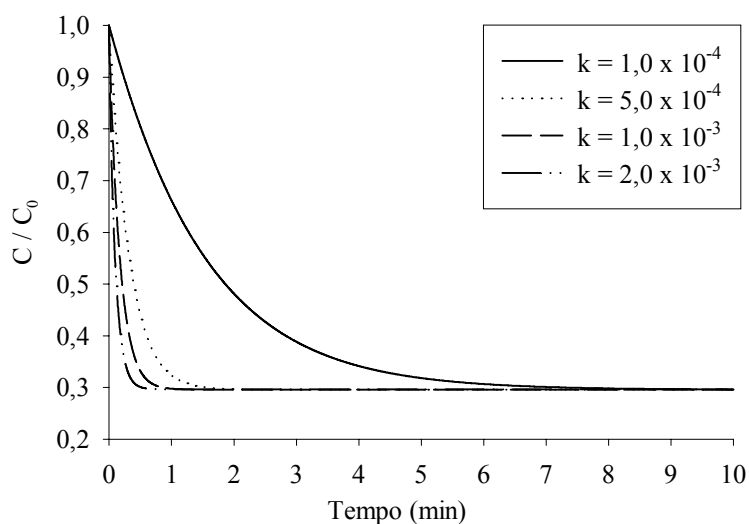


Figura 3 – Cinética de transferência de massa da proteína  $\alpha$ -la para diferentes valores de  $k$ . Os valores de  $k$  estão em cm/s.

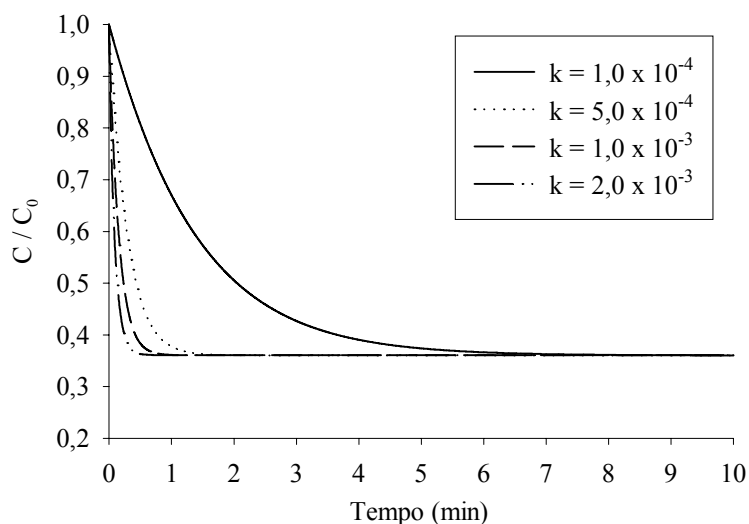


Figura 4 – Cinética de transferência de massa da proteína  $\beta$ -Ig para diferentes valores de  $k$ . Os valores de  $k$  estão em cm/s

### Conclusões

O procedimento numérico para a solução do modelo de transferência de massa em tanques agitados que considera difusão dentro da partícula, resistência à transferência de massa no filme líquido na superfície da partícula e equilíbrio instantâneo na superfície da partícula foi eficiente para a simulação de um processo de adsorção em troca iônica sendo capaz de simular a adsorção simultânea das proteínas do soro  $\alpha$ -la e  $\beta$ -Ig por uma resina de troca iônica com um tempo de simulação inferior a 1 minuto em um PC de 750 MHz. O modelo

proposto pode ser útil na análise da cinética de transferência de massa em sistemas cromatográficos.

## Símbolos usados

### Símbolo Descrição

$B_i$	número de Biot de transferência de massa para o componente $i$
$C_{bi}$	concentração do componente $i$ na fase líquida extrapartícula
$C_{0i}$	concentração inicial na fase líquida
$C_{pi}$	concentração do componente $i$ na fase líquida intrapartícula
$C_{pi}^s$	concentração do componente $i$ na fase sólida da partícula
$c_{bi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase líquida extrapartícula
$c_{pi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase líquida intrapartícula
$c_{pi}^s$	concentração adimensional do componente $i$ na fase sólida da partícula
$D_{pi}$	coeficiente de difusão do componente $i$
$k_d$	constante na isoterma de Langmuir
$k_i$	coeficiente de transferência de massa para o componente $i$
$n$	número de nós em $r$
$q_m$	constante na isoterma de Langmuir
$R$	coordenada radial para a partícula
$R_p$	raio da partícula
$r$	coordenada radial adimensional para a partícula
$t$	Tempo
$V_b$	Volume de líquido no tanque
$V_p$	Volume de adsorvente no tanque
$\Delta r$	incremento na direção radial

### Letras gregas

$\epsilon_p$	porosidade da partícula
$\tau$	tempo adimensional
$\Delta\tau$	incremento de tempo adimensional



## Referências bibliográficas

ARVES, B. H.; LIAPIS, A. I. The modeling and analysis of the elution stage of biospecific adsorption in fixed beds. **Biotechnology and bioengineering**, New York, v.30, p.638-649, 1987.

BOSCHETTI, E.; COFFMAN, J. L. Enhanced diffusion chromatography and related sorbents for biopurifications. In: SUBRAMANIAN, G. **Bioseparation and bioprocessing**. Weinheim: WILEY-VCH, 1998. v.1, p.157-198.

BRAMAUD, C.; AIMAR, P.; DAVEEE, G. Whey protein fractionation: Isoelectric precipitation of  $\alpha$ -lactoalbumin under gentle heat treatment. **Biotechnology and bioengineering**, New York, v. 56, p.391-397, 1997.

CARRÈRE, H. **Extraction des proteines du lactoserum par chromatographie d'échange d'ions en lit fluifisé**. 1993, 210 f. Tese (Doutorado), Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, França, 1993.

CAYOT, P.; LORIENT, D. Structure-function relationships of whey proteins. In: DAMADARAN, S.; PARAF, A. **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p.225-256.

FERREIRA, R. C. **Separação de  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina de proteínas do soro de queijo por adsorção em colunas de leito fixo**. 2001. 81f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

GRASSELLI, M. et al. Que hacer com el suero de queso. **Ciencia Hoy**, Buenos Aires, v.8, n.43, p.27-35, 1997.

GUIOCHON, G.; SHIRAZI, S. G.; KATTI, A. M. **Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography**. London: Academic Press, 1994. 697 p.

HORSTMANN, B. J.; CHASE, H. A. Modelling the affinity adsorption of immunoglobulin g to protein a immobilized to agarose matrices. **Chemical engineering research and design**, Warwickshire, v.67, n.3, p.243-254, 1989.

JANSON, J.; RYDÉN, L. **Protein purification: principles, high resolution methods, and applications**. New York: Wiley-VCH, 1998. 695p.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of American Chemical Society**, Washington, v.30, p.2263-2295, 1916.

MÄKINEN-KILJUNEN, S.; SORVA, R. Bovine  $\beta$ -lactoglobulin levels in hydrolyzed protein formulas for infant feeding. **Clinical & Experimental Allergy**, London, v.23, p.287-291, 1993.

MCKENZIEY, H. A. **Milk proteins, chemistry and molecular biology**. New York: Academic Press, 1970. 286p.

MORR, C.; HÁ, E. W. Whey protein concentrates and isolates processing and functional properties. **Critical reviews in food science and nutrition**, Amherst, v.33, n.6, p.431-476, 1993.

PETERSON, E. A.; SOBER, H. A. Chromatography of proteins. I. Cellulose ion-exchange adsorbents. **Journal of the American Chemical Society**, Columbus, v.78, p.751-755, 1956.

PORATH, J.; FLODIN, P. Gel filtration: a method for desalting and group separation. **Nature**, London, v.193, p.1657-1659, 1959.

REGESTER, G. O. et al. Whey proteins as nutritional and functional food ingredients. **Food Australia**, Waterloo, v.48, p.123-127, 1996.

SMITHERS, G.W. et al. New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. **Journal of dairy science**, Savoy, v.79, p.1454-1459, 1996.

SPIEKER, A.; KLOPPENBURG, E.; GILLES, E. Computer modeling of chromatographic bioseparation In: SUBRAMANIAN, G. **Bioseparation and bioprocessing**. Weinheim: WILEY-VCH, 1998. v.1, p.329-362.

USDEC NEWS. O uso de produtos de soro em iogurtes e produtos lácteos fermentados. **The U.S. Dairy Export Council**, New York, v.2, n.2, 1999.

WIT, J.N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **Journal of dairy science**, Savoy, v.81, p.597-608, 1998.

# **SimuCromWin: Um programa computacional para a simulação de processos cromatográficos**

## **Resumo**

O software SimuCromWin simula processos cromatográficos em computadores pessoais em um ambiente amigável ao usuário. Ele é capaz de simular os seguintes processos: (1) adsorção em tanques agitados, (2) adsorção em coluna de leito fixo, e (3) exclusão molecular em coluna leito fixo. SimuCromWin utiliza modelos de transferência de massa que consideram resistência à transferência de massa no filme, difusão dentro da partícula e, no caso de processos em coluna, dispersão axial. Nos processos de adsorção, o modelo utilizado pelo programa considera equilíbrio instantâneo entre a partícula e o líquido dentro da partícula. O modelo de equilíbrio utilizado é o modelo de Langmuir. Os valores dos parâmetros de transferência de massa podem ser inseridos pelo usuário, na forma adimensional ou não, ou podem ser estimados pelo programa por meio de correlações empíricas. SimuCromWin ajuda a otimizar parâmetros de separação ou de adsorção pela visualização do processo.

## **Summary**

The software SimuCromWin simulates chromatographic processes on a personal computer in a friendly user interface. It is capable to simulate the following processes: (1) adsorption in stirred tanks, (2) adsorption in fixed bed column, and (3) size exclusion in fixed bed column. SimuCromWin uses mass transfer models that consider mass transfer resistance in the film, intraparticle diffusion and, in the case of processes in column, axial dispersion. In the adsorption processes, the model used by the program considers instantaneous equilibrium between the particle and the liquid into the particle. The model equilibrium used was the Langmuir model. The values of the mass transfer parameters can be inserted for the user, in the dimensionless form or not, or it can be estimate by empirical correlations. SimuCromWin helps to optimize separation or adsorption parameters by visualization of the process.

## **Introdução**

O termo cromatografia refere-se a um grupo de técnicas de separação que são caracterizadas por uma distribuição das moléculas a serem separadas entre duas fases, uma estacionária e a outra móvel. Moléculas com uma alta tendência a permanecerem na fase estacionária moverão ao longo do sistema com uma velocidade menor que aquelas que têm mais afinidade pela fase móvel (Janson e Rydén, 1998).

Várias versões de cromatografia líquida são utilizadas, diferindo principalmente nos tipos de fases estacionárias. Uma destas, cromatografia por exclusão molecular, é baseada em princípios muito diferentes que os das outras versões de cromatografia líquida (Janson e Rydén, 1998).

O desenvolvimento de técnicas e métodos para a separação e purificação de moléculas biológicas tem sido um pré-requisito importante para muitos dos avanços feitos em biotecnologia nas últimas três décadas. O desenvolvimento de novos materiais e a utilização de instrumentos baseados em microprocessadores fez com que as separações de moléculas se tornassem mais fáceis de serem preditas e controladas, embora muito ainda tenha que ser desenvolvido nessa área. Na área de cromatografia, o desenvolvimento de novos materiais de empacotamento tem possibilitado um grande crescimento das técnicas de alta resolução desde escala analítica até escala industrial, em colunas com volumes de leito da ordem de centenas de litros (Janson e Rydén, 1998).

Quando se aplica uma operação cromatográfica para um novo sistema ou quando se deseja aumentar a escala do processo, é comum a realização de numerosos experimentos. Como geralmente os produtos são valiosos e disponíveis somente em pequenas quantidades, os experimentos são caros para serem conduzidos. Isto é especialmente verdadeiro para a separação de proteínas. Dessa forma, torna-se necessário prever o desempenho do processo por meio da modelagem matemática e da simulação computacional para minimizar o número de experimentos requeridos (Kempe et al., 1999). Estudos experimentais usando solutos biológicos são caros e complexos. A simulação desses sistemas usando modelos computacionais pode ser uma alternativa eficiente e econômica para propostas de otimização e de aumento de escala. Embora alguns experimentos

ainda sejam necessários, a modelagem computacional e a simulação numérica podem reduzir amplamente o número de experimentos (Spieker et al., 1998).

Foi desenvolvido um programa computacional em Visual Basic 6.0 que simula processos cromatográficos em um ambiente amigável ao usuário.

## **Modelos**

### **Adsorção**

A maioria dos tipos de cromatografia usados para separação de biomoléculas pode ser adequadamente tratada em conjunto sob o termo cromatografia de adsorção. Isso implica que as moléculas da amostra são adsorvidas na superfície da fase estacionária.

### **Isotermas de equilíbrio**

No estudo de equilíbrio, podemos definir isoterma de equilíbrio como sendo uma relação que representa a quantidade (concentração) de um determinado componente em um determinado volume ou massa de fase estacionária em função da concentração desse mesmo componente na fase líquida, no estado de equilíbrio. Logo, a isoterma é uma equação que representa a relação funcional de  $C_{pi}^s$  com  $C_{pi}$ . As isotermas mais utilizadas atualmente no equilíbrio sólido-líquido são a de Langmuir e a de Freundlich. Essas isotermas têm permitido uma correta descrição dos dados experimentais em vários estudos envolvendo soluções diluídas de um componente fortemente adsorvido em um solvente puro (Guiochon et al., 1994; Spieker et al., 1998).

A isoterma de Langmuir (1916) consegue explicar de forma adequada os dados de adsorção adquiridos em baixas ou moderadas concentrações. Em altas concentrações, por outro lado, os coeficientes de atividade das espécies em solução são dependentes da concentração, e, dessa forma, desvios do modelo de Langmuir são observados. Essa isoterma pode ser escrita na forma:

$$C_{pi}^s = \frac{q_m C_{pi}}{k_d + C_{pi}} \quad (1)$$

A derivação da isoterma de Langmuir pode ser considerada como a base da maioria dos tratamentos teóricos do fenômeno de adsorção. Essa isoterma corresponde a um modelo de adsorção altamente idealizado, e considera as seguintes hipóteses:

- As moléculas são adsorvidas em sítios discretos da superfície, denominados sítios de adsorção. Cada sítio pode acomodar apenas uma única espécie.
- A energia de cada sítio de adsorção da superfície é igual e independente da população de espécies adsorvidas, portanto, todos os sítios têm a mesma entalpia de adsorção e independem do grau de cobertura da superfície.
- A quantidade máxima da espécie adsorvida corresponde à formação da monocamada.
- A adsorção é localizada e ocorre pela colisão das moléculas com sítios vagos da superfície.
- A velocidade de dessorção depende apenas da quantidade de material adsorvido na superfície.

Essas condições podem não ser válidas na adsorção líquido-sólido, especialmente em altas concentrações. Na prática, os dados experimentais de adsorção são bastante concordantes com a isoterma de Langmuir em uma área relativamente extensa de concentrações. Assim, o modelo de Langmuir aparece como a primeira escolha de equação empírica para ajuste de resultados experimentais, considerando a adsorção de um único componente (Guiochon et al., 1994).

### **Modelo de transferência de massa para adsorção em tanques agitados**

Arves e Liapis (1987) apresentaram um modelo geral para prever o comportamento dinâmico da adsorção em tanques agitados. Este modelo leva em consideração a difusão dentro dos poros da partícula e a resistência à transferência de massa no filme de líquido na superfície da partícula. Horstmann e Chase (1989) e Carrère (1993) utilizaram um modelo similar para a adsorção de proteínas em resinas trocadoras de íons. As equações do modelo englobam um

balanço de massa sobre a partícula e um balanço de massa na fase líquida externa à partícula. As seguintes considerações básicas foram utilizadas para a formulação do modelo:

1. processo de adsorção é isotérmico.
2. Os adsorventes porosos são esféricos e uniformes com relação ao tamanho.
3. Existe equilíbrio local para cada componente entre a superfície do poro e o líquido estagnado dentro dos poros.
4. Os coeficientes de difusão e de transferência de massa são constantes e independentes de efeitos de misturas dos componentes.

Com essas considerações, as seguintes equações podem ser formuladas a partir do balanço de massa para cada componente nas fases extrapartícula e intrapartícula, respectivamente:

$$\frac{\partial C_{bi}}{\partial t} + \frac{3V_p k_i}{RV_b} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) = 0 \quad (2)$$

$$(1 - \varepsilon_p) \frac{\partial C_{pi}^s}{\partial t} + \varepsilon_p \frac{\partial C_{pi}}{\partial t} - \varepsilon_p D_{pi} \left[ \frac{1}{R^2} \frac{\partial}{\partial R} \left( R^2 \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} \right) \right] = 0 \quad (3)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno

$$t = 0 \Rightarrow C_{bi} = C_{0i} \quad (4)$$

$$t = 0 \Rightarrow C_{pi} = 0 \quad (5)$$

$$R = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = 0 \quad (6)$$

$$R = R_p \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = \frac{k_i}{\varepsilon_p D_{pi}} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) \quad (7)$$

Utilizando os termos adimensionais:

$$c_{bi} = \frac{C_{bi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi} = \frac{C_{pi}}{C_{0i}}; \quad r = \frac{R}{R_p}; \quad \tau = \frac{tD_{pi}}{R_p^2}; \quad \text{Bi} = \frac{k_i R_p}{\varepsilon_p D_{pi}}.$$

O sistema de equações diferenciais parciais pode ser transformado nas seguintes formas adimensionais:

$$\frac{dc_{bi}}{d\tau} = -\frac{3V_p}{V_b} \text{Bi}(c_{bi} - c_{pi,r=1}) \quad (8)$$

$$\frac{\partial}{\partial \tau} [(1 - \varepsilon_p)c_{pi}^s + \varepsilon_p c_{pi}] - \varepsilon_p \left[ \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} \right) \right] = 0 \quad (9)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno adimensionalizadas:

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{bi} = 1 \quad (10)$$

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{pi} = 0 \quad (11)$$

$$r = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = 0 \quad (12)$$

$$r = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = \text{Bi}(c_{bi} - c_{pi,r=1}) \quad (13)$$

As Equações (2) e (3) são acopladas via  $C_{pi,R=R_p}$  que é a concentração do componente  $i$  na superfície da partícula. Na Equação (2),  $C_{pi}^s$  é a concentração do componente  $i$  na fase sólida do adsorvente com base na unidade de volume do sólido, excluindo os poros. Ela está diretamente associada com as isotermas de



adsorção que estão acopladas ao sistema de equações diferenciais parciais com base na consideração 3. As concentrações  $C_{bi}$  e  $C_{pi}$  são baseadas na unidade de volume da fase móvel.

### Estratégia de solução numérica do modelo para tanque agitado

A Equação (9) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $r$ , utilizando a técnica de diferenças finitas centrais com  $m$  nós ao longo de  $r$ , gerando as seguintes equações diferenciais ordinárias:

- Centro da partícula:

$$\left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right) \Big|_1 = \frac{6\varepsilon_p}{\Delta r^2} (c_{pi}|_2 - c_{pi}|_1) \quad (14)$$

- Interior da partícula:

$$\begin{aligned} \left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right) \Big|_j &= \left( \frac{\varepsilon_p}{\Delta r^2} - \frac{\varepsilon_p}{r\Delta r} \right) c_{pi}|_{j-1} - \frac{2\varepsilon_p}{\Delta r^2} c_{pi}|_j \\ &+ \left( \frac{\varepsilon_p}{\Delta r^2} + \frac{\varepsilon_p}{r\Delta r} \right) c_{pi}|_{j+1} \end{aligned} \quad (15)$$

- Superfície da partícula:

$$\begin{aligned} \left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right) \Big|_m &= \frac{2\varepsilon_p}{\Delta r^2} c_{pi}|_{m-1} - \left( 2\varepsilon_p \text{Bi} + \frac{2\varepsilon_p \text{Bi}}{\Delta r} + \frac{2\varepsilon_p}{\Delta r^2} \right) c_{pi}|_m \\ &+ \left( 2\varepsilon_p \text{Bi} + \frac{2\varepsilon_p \text{Bi}}{\Delta r} \right) c_{bi} \end{aligned} \quad (16)$$

O índice subscrito após as barras indica o nó ao longo de  $r$ . Na Equação (15),  $j$  deve variar de 2 a  $m - 1$ . Assim, foram geradas  $m$  equações diferenciais ordinárias para a partícula e 1 equação para o líquido fora da partícula, ou seja,  $m + 1$  equações diferenciais ordinárias para cada componente, totalizando  $(n + 1)N_c$

equações diferenciais ordinárias, sendo  $N_c$  o número de componentes. As equações diferenciais ordinárias resultantes foram resolvidas utilizando o método implícito de diferenças finitas, ou seja diferenças finitas com o passo à frente. Isso resulta em um sistema de equações algébricas, não linear, com  $(m + 1)N_c$  equações em cada incremento de tempo, que é resolvido utilizando o método de Gauss-Seidl.

### **Modelo de transferência de massa para adsorção em leito fixo**

Para o processo de adsorção em leito fixo, o modelo de transferência de massa mais complexo normalmente usado considera uma fase líquida móvel, uma fase líquida estagnada dentro dos poros, e uma fase adsorvida. Transferência de massa no filme entre a fase móvel e a superfície da partícula, e difusão dentro das partículas são consideradas nesse modelo. Considera-se uma distribuição unidimensional de concentração na direção axial da coluna e uma distribuição unidimensional de concentração na direção radial da partícula. Nesse modelo, a transferência de massa por difusão dentro da partícula é considerada como um possível fator limitante. Isso é especialmente verdade para moléculas grandes como proteínas e para partículas adsorventes maiores (Spieker et al., 1998).

As seguintes considerações básicas são necessárias para a formulação do modelo (Gu et al., 1993):

1. O processo de adsorção multicomponente em leito fixo é isotérmico.
2. O leito é empacotado com adsorventes porosos que são esféricos e uniformes com relação ao tamanho.
3. Os gradientes de concentração na direção radial do leito são desprezados.
4. Existe equilíbrio local para cada componente entre a superfície do poro e o líquido estagnado dentro dos poros.
5. Os coeficientes de difusão e de transferência de massa são constantes e independentes de efeitos de misturas dos componentes.

Com essas considerações básicas, as seguintes equações podem ser formuladas a partir do balanço de massa para cada componente nas fases móvel e estacionária, respectivamente.

$$-D_{bi} \frac{\partial^2 C_{bi}}{\partial Z^2} + v \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} + \frac{\partial C_{bi}}{\partial t} + \frac{3k_i(1-\varepsilon_b)}{\varepsilon_b R_p} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) = 0 \quad (17)$$

$$(1-\varepsilon_p) \frac{\partial C_{pi}^s}{\partial t} + \varepsilon_p \frac{\partial C_{pi}}{\partial t} - \varepsilon_p D_{pi} \left[ \frac{1}{R^2} \frac{\partial}{\partial R} \left( R^2 \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} \right) \right] = 0 \quad (18)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno

$$t = 0 \Rightarrow C_{bi} = C_{bi}(0, Z) \quad (19)$$

$$t = 0 \Rightarrow C_{pi} = C_{pi}(0, R, Z) \quad (20)$$

$$Z = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = \frac{v}{D_{bi}} (C_{bi} - C_{fi}(t)) \quad (21)$$

$$Z = L \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = 0 \quad (22)$$

$$R = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = 0 \quad (23)$$

$$R = R_p \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = \frac{k_i}{\varepsilon_p D_{pi}} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) \quad (24)$$

Utilizando os termos adimensionais:

$$c_{bi} = \frac{C_{bi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi} = \frac{C_{pi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi}^s = \frac{C_{pi}^s}{C_{0i}}; \quad r = \frac{R}{R_p}; \quad z = \frac{Z}{L}; \quad \tau = \frac{vt}{L};$$

$$Pe_{Li} = \frac{vL}{D_{bi}}; \quad Bi_i = \frac{k_i R_p}{\varepsilon_p D_{pi}}; \quad \eta_i = \frac{\varepsilon_p D_{pi} L}{R_p^2 v}; \quad \xi_i = \frac{3Bi_i \eta_i (1-\varepsilon_b)}{\varepsilon_b}$$

O sistema de equações diferenciais parciais pode ser transformado nas seguintes formas adimensionais:

$$-\frac{1}{Pe_{Li}} \frac{\partial^2 c_{bi}}{\partial z^2} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} + \xi_i (c_{bi} - c_{pi,r=1}) = 0 \quad (25)$$

$$\frac{\partial}{\partial \tau} [(1 - \varepsilon_p) c_{pi}^s + \varepsilon_p c_{pi}] - \eta_i \left[ \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} \right) \right] = 0 \quad (26)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno adimensionalizadas:

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{bi} = c_{bi}(0, z) \quad (27)$$

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{pi} = c_{pi}(0, r, z) \quad (28)$$

$$z = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = Pe_{Li} \left( c_{bi} - \frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} \right) \quad (29)$$

$$z = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = 0 \quad (30)$$

$$r = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = 0 \quad (31)$$

$$r = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = Bi_i (c_{bi} - c_{pi,r=1}) \quad (32)$$

A condição de contorno na alimentação (equação 29) depende do modo de operação da coluna:

Para adsorção frontal:

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} = 1 \quad (33)$$

Para eluição:

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} = \begin{cases} 1, & \text{se } 0 \leq \tau \leq \tau_{imp} \\ 0 & \text{em caso contrário} \end{cases} \quad (34)$$

Para deslocamento, após a introdução da amostra (na forma de adsorção frontal):

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} = \begin{cases} 0, & \text{se } i \text{ é um componente da amostra} \\ 1, & \text{se } i \text{ é um deslocador} \end{cases} \quad (35)$$

### Estratégia de solução numérica do modelo de adsorção em leito fixo

A Equação (25) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $z$ , utilizando a técnica de diferenças finitas centrais com  $n$  nós ao longo de  $z$ . A equação (26) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $r$ , pelo método da colocação ortogonal, utilizando os polinômios simétricos definidos por Finlayson (1980), com dois pontos de colocação interior. Essas discretizações geraram as seguintes equações diferenciais ordinárias:

Para a fase móvel:

- Nó na entrada da coluna:

$$\left. \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \right|_1 = \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} c_{bi}|_2 + \xi_i c_{pi}|_1^3 + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} \right) c_{bi}|_1 \quad (36)$$

- Nós interiores da coluna ( $j = 2; 3; \dots; n - 1$ ):

$$\frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \Big|_j = \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} - \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi} \Big|_{j+1} + \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi} \Big|_{j-1} + \xi_i c_{pi} \Big|_j^3 - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi} \Big|_j \quad (37)$$

- Nó na saída da coluna:

$$\frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \Big|_n = \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} \right) c_{bi} \Big|_{n-1} + \xi_i c_{pi} \Big|_n^3 - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi} \Big|_n \quad (38)$$

Para a partícula:

- Primeiro ponto de colocação interior ( $r \cong 0,5385$ ):

$$\left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right) \Big|_j^1 = -13,6 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^1 + 20,433 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^2 - 6,833 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^3 \quad (39)$$

- Segundo ponto de colocação interior ( $r \cong 0,9062$ ):

$$\left( \varepsilon_p \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} + (1 - \varepsilon_p) \frac{\partial c_{pi}^s}{\partial \tau} \right) \Big|_j^2 = 14,57 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^1 - 91,4 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^2 + 76,83 \frac{\eta_i}{\varepsilon_p} c_{pi} \Big|_j^3 \quad (40)$$

- O valor de  $C_{pi} \Big|_j^3$  (concentração na superfície da partícula) é obtido a partir da condição de contorno em  $r = 1$ :

$$C_{pi} \Big|_j^3 = \frac{\text{Bi}_i}{14 + \text{Bi}_i} c_{bi} \Big|_j - \frac{0,9483}{14 + \text{Bi}_i} c_{pi} \Big|_j^1 + \frac{14,9483}{14 + \text{Bi}_i} c_{pi} \Big|_j^2 \quad (41)$$

O índice subscrito após as barras indica o nó ao longo de  $z$  e o índice sobrescrito o ponto de colocação ortogonal (1 e 2 são pontos interiores e 3 é a superfície da partícula, ou seja,  $r = 1$ ). Nas Equações (39) a (41),  $j$  deve variar de 1 a  $n$ . Assim, foram geradas  $n$  equações diferenciais ordinárias para a fase móvel

e  $2n$  equações para a partícula, ou seja,  $3n$  equações diferenciais ordinárias para cada soluto, totalizando  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias, sendo  $N_s$  o número de solutos. As concentrações  $C_{pi}^s$  e  $C_{pi}$  estão relacionadas pela isoterma de equilíbrio. As  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias resultantes foram resolvidas simultaneamente utilizando o método de Euler. Para evitar problemas relacionados a instabilidade e convergência, o programa SimuCromWin diminui o incremento no tempo ( $\Delta\tau$ ) e/ou aumenta o número de nós em  $z$  ( $n$ ) sempre que algum valor de concentração  $C_{bi}$  estiver fora do seu domínio com uma determinada tolerância. Isso é feito sempre que  $C_{bi}$  estiver fora do intervalo  $[-0,001; 1,001]$ .

### **Cromatografia de exclusão molecular**

Kim e Johnson (1984) introduziram um modelo que considera uma fração de volume de poro para levar em conta o efeito da exclusão molecular das partículas. Gu (1995) propôs o uso de uma porosidade acessível da partícula, isto é, fração do volume do poro acessível para uma macromolécula, para descrever o efeito da exclusão molecular em um modelo de transferência de massa que considera dispersão axial, transferência de massa no filme e difusão dentro das partículas.

As seguintes considerações são necessárias para formular o modelo:

1. A coluna é isotérmica;
2. Não há interação entre os diferentes solutos;
3. Os coeficientes de difusão e de transferência de massa permanecem constantes;
4. As partículas são esféricas e de tamanho uniforme;
5. A densidade de empacotamento é a mesma ao longo da coluna;
6. Os gradientes de concentração na direção radial do leito são desprezados.

Com essas considerações, as seguintes equações podem ser formuladas a partir do balanço de massa diferencial para um soluto na fase móvel e na fase estacionária, respectivamente.

$$-D_{bi} \frac{\partial^2 C_{bi}}{\partial Z^2} + v \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} + \frac{\partial C_{bi}}{\partial t} + \frac{3k_i(1-\varepsilon_b)}{\varepsilon_b R_p} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) = 0 \quad (42)$$

$$\frac{\partial C_{pi}}{\partial t} - D_{pi} \left[ \frac{1}{R^2} \frac{\partial}{\partial R} \left( R^2 \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} \right) \right] = 0 \quad (43)$$

com as seguintes condições iniciais e de contorno

$$t = 0 \Rightarrow C_{bi} = C_{bi}(0, Z) \quad (44)$$

$$t = 0 \Rightarrow C_{pi} = C_{pi}(0, R, Z) \quad (45)$$

$$Z = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = \frac{v}{D_{bi}} (C_{bi} - C_{fi}(t)) \quad (46)$$

$$Z = L \Rightarrow \frac{\partial C_{bi}}{\partial Z} = 0 \quad (47)$$

$$R = 0 \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = 0 \quad (48)$$

$$R = R_p \Rightarrow \frac{\partial C_{pi}}{\partial R} = \frac{k_i}{\varepsilon_{pi}^a D_{pi}} (C_{bi} - C_{pi, R=R_p}) \quad (49)$$

Utilizando os termos adimensionais:

$$c_{bi} = \frac{C_{bi}}{C_{0i}}; \quad c_{pi} = \frac{C_{pi}}{C_{0i}}; \quad r = \frac{R}{R_p}; \quad z = \frac{Z}{L}; \quad \tau = \frac{vt}{L};$$

$$Pe_{Li} = \frac{vL}{D_{bi}}; \quad Bi_i = \frac{k_i R_p}{\varepsilon_{pi}^a D_{pi}}; \quad \eta_i = \frac{\varepsilon_{pi}^a D_{pi} L}{R_p^2 v}; \quad \xi_i = \frac{3Bi_i \eta_i (1-\varepsilon_b)}{\varepsilon_b}$$



O sistema de equações diferenciais parciais pode ser transformado nas seguintes formas adimensionais:

$$-\frac{1}{\text{Pe}_{Li}} \frac{\partial^2 c_{bi}}{\partial z^2} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} + \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} + \xi_i (c_{bi} - c_{pi,r=1}) = 0 \quad (50)$$

$$\frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} - \frac{\eta_i}{\varepsilon_{pi}^a} \left[ \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} \right) \right] = 0 \quad (51)$$

Com as seguintes condições iniciais e de contorno adimensionalizadas:

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{bi} = c_{bi}(0, z) \quad (52)$$

$$\tau = 0 \Rightarrow c_{pi} = c_{pi}(0, r, z) \quad (53)$$

$$z = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = \text{Pe}_{Li} \left( c_{bi} - \frac{C_{fi}(\tau)}{C_{0i}} \right) \quad (54)$$

$$z = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{bi}}{\partial z} = 0 \quad (55)$$

$$r = 0 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = 0 \quad (56)$$

$$r = 1 \Rightarrow \frac{\partial c_{pi}}{\partial r} = \text{Bi}_i (c_{bi} - c_{pi,r=1}) \quad (57)$$

A condição de contorno na alimentação (Equação 54) utiliza a seguinte função:

$$\frac{C_{fi}(\tau)}{C_{oi}} = \begin{cases} 1 & \text{se } 0 \leq \tau \leq \tau_{\text{imp}} \\ 0 & \text{em caso contrário} \end{cases} \quad (58)$$

### Estratégia de solução numérica do modelo de CEM

A Equação (50) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $z$ , utilizando a técnica de diferenças finitas centrais com  $n$  nós ao longo de  $z$ . A equação (51) foi discretizada, em relação à coordenada espacial  $r$ , pelo método da colocação ortogonal, utilizando os polinômios simétricos definidos por Finlayson (1980), com dois pontos de colocação interior. Essas discretizações geraram as seguintes equações diferenciais ordinárias:

Para a fase móvel:

- Nó na entrada da coluna:

$$\left. \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \right|_1 = \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} c_{bi}|_2 + \xi_i c_{pi}|_1^3 + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i + \frac{2}{\Delta z} + \text{Pe}_{Li} \right) c_{bi}|_1 \quad (59)$$

- Nós interiores da coluna ( $j = 2; 3; \dots; n - 1$ ):

$$\begin{aligned} \left. \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \right|_j = & \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} - \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi}|_{j+1} + \left( \frac{1}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \frac{1}{2\Delta z} \right) c_{bi}|_{j-1} + \xi_i c_{pi}|_j^3 \\ & - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi}|_j \end{aligned} \quad (60)$$

- Nó na saída da coluna:

$$\left. \frac{\partial c_{bi}}{\partial \tau} \right|_n = \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} \right) c_{bi}|_{n-1} + \xi_i c_{pi}|_n^3 - \left( \frac{2}{\text{Pe}_{Li} \Delta z^2} + \xi_i \right) c_{bi}|_n \quad (61)$$

Para a partícula:

- Primeiro ponto de colocação interior ( $r \cong 0,5385$ ):

$$\left. \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} \right|_j^1 = -13,6 \frac{\eta_i}{\varepsilon_{pi}^a} c_{pi}|_j^1 + 20,433 \frac{\eta_i}{\varepsilon_{pi}^a} c_{pi}|_j^2 - 6,833 \frac{\eta_i}{\varepsilon_{pi}^a} c_{pi}|_j^3 \quad (62)$$

- Segundo ponto de colocação interior ( $r \cong 0,9062$ ):

$$\left. \frac{\partial c_{pi}}{\partial \tau} \right|_j^2 = 14,57 \frac{\eta_i}{\varepsilon_{pi}^a} c_{pi}|_j^1 - 91,4 \frac{\eta_i}{\varepsilon_{pi}^a} c_{pi}|_j^2 + 76,83 \frac{\eta_i}{\varepsilon_{pi}^a} c_{pi}|_j^3 \quad (63)$$

- O valor de  $C_{pi}|_j^3$  (concentração na superfície da partícula) é obtido a partir da condição de contorno em  $r = 1$ :

$$C_{pi}|_j^3 = \frac{Bi_i}{14 + Bi_i} c_{bi}|_j - \frac{0,9483}{14 + Bi_i} c_{pi}|_j^1 + \frac{14,9483}{14 + Bi_i} c_{pi}|_j^2 \quad (64)$$

Foram geradas  $n$  equações diferenciais ordinárias para a fase móvel e  $2n$  equações para a partícula, ou seja,  $3n$  equações diferenciais ordinárias para cada soluto, totalizando  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias, sendo  $N_s$  o número de solutos. As  $3nN_s$  equações diferenciais ordinárias resultantes foram resolvidas utilizando o mesmo procedimento descrito no item anterior.

### Parâmetros de transferência de massa

O programa SimuCromWin permite ao usuário escolher a forma de entrada dos parâmetros de transferência de massa, se na forma adimensional ou não. Além disso, caso o usuário não conheça os valores dos parâmetros de transferência de massa ele tem a opção de escolher que o programa estime tais parâmetros por meio de correlações empíricas. Assim, foram incorporadas ao programa as seguintes correlações empíricas:

- Coeficiente de dispersão axial: Correlação de Chung e Wen (1968):

$$Pe_L = \frac{\nu L}{D_b} \frac{L}{2R_p \varepsilon_B} (0,2 + 0,011 Re^{0,48}) \quad (65)$$

$$Re = \frac{2R_p \varepsilon_B \nu \rho}{\mu} \quad (66)$$

- Coeficiente de transferência de massa: Correlação de Truei et al. (1992):

$$Sh = \frac{k_i 2R_p}{D_{pi}} = 2 + 1,45 Re^{1/2} Sc^{1/3} \quad (67)$$

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D_{pi}} \quad (68)$$

- Para o coeficiente de difusão: Correlação de Young et al. (1980):

$$D_{pi} = 8,31 \cdot 10^{-8} \frac{T}{\mu M_i^{1/3}} \quad (69)$$

## A interface do usuário

No projeto da interface do usuário procurou-se atender as seguintes regras:

1. Consistência: A interface do usuário deve ser consistente em relação à sintaxe, terminologia, ações e layout. Ações requeridas em uma situação devem ser semelhantes às requeridas em situações similares. Terminologia consistente deve ser utilizada em toda estrutura – em menus, avisos, sistema de mensagens e manuais. O layout mostrado deve ser consistente, por exemplo, todos os menus devem seguir o mesmo formato e todas as mensagens de erro devem aparecer no mesmo local.

2. Permitir uso de atalhos: Usuários experientes de um sistema são mais bem servidos se houver atalhos disponíveis para eles. Tais atalhos permitem

reduzir o número de passos necessários para executar uma ação, aumenta a velocidade da interação e aumenta sua produtividade.

3. Oferecer feedback informativo: Cada ação conduzida pelo usuário deve resultar em algum feedback do sistema. A idéia de feedback para ações fracassadas (mensagens de erro) é bastante familiar. Contudo, feedback para ações bem sucedidas é também importante. Ações freqüentes e secundárias podem produzir realimentação modesta, enquanto ações pouco freqüentes e principais devem produzir resposta mais significativa. O feedback pode ser um simples som, uma frase ou uma sentença.

4. Projetar diálogos para indicar conclusão: Cada seqüência de ações deve ter um início, um meio e um fim. O feedback no término da seqüência dá ao usuário uma sensação de conclusão e alívio, sinaliza ao usuário que aquela seqüência pode ser abandonada, e indica que o usuário pode começar a trabalhar na próxima seqüência de ações.

5. Oferecer uma manipulação de erro simples: Sempre que possível, deve-se fazer um sistema de tal forma que o usuário não cometa erros graves. Forneça recursos que permitam que o usuário desfça operações prontamente. Nos casos onde a mensagem de erro é necessária, ela deve ser simples, apontar a fonte exata do erro e oferecer informação de como corrigir o erro. O usuário deve ser capaz de corrigir o erro sem ter que recomeçar toda a seqüência de passos.

6. Permitir reverter ações com facilidade: Sempre que possível, as ações devem ser reversíveis. Isto aumenta a produtividade, uma vez que o usuário não terá que voltar para o início e refazer todas as ações anteriores. Isto também encoraja o usuário a explorar o sistema e se tornar um usuário mais eficiente.

7. Manter uma interação centrada no usuário: Usuários devem se sentir como os iniciadores da ação em uma interação homem-computador, não como os executores da ação. O computador é a ferramenta, e o homem é o usuário dessa ferramenta; a interface deve refletir essa relação. O usuário deve focalizar sua atenção nas tarefas que ele quer conduzir e não tratando com a interface do computador.

8. Reduzir a carga de memória de curto prazo: Os humanos são capazes de manter somente uma quantidade limitada de informação em sua memória de

curto prazo. Idealmente, a informação ativa na memória de curto prazo deve ser aquela relacionada à tarefa a ser executada e não ao computador. Telas devem ser projetadas para reduzir a demanda da memória de curto prazo. Por exemplo, telas com várias páginas que requer que o usuário se lembre de informação de páginas anteriores devem ser evitadas. Menus devem ser usados ao invés de linguagens de comando. Deve-se fornecer ajuda para refrescar rapidamente a memória do usuário.

Seguindo estes preceitos, foi projetada uma interface gráfica de manipulação direta em um ambiente amigável ao usuário. No processo de adsorção em tanques agitados o usuário pode visualizar a concentração no líquido fora da partícula em função do tempo e o perfil radial da concentração dentro da partícula. Nos processos em coluna (adsorção e exclusão molecular) o usuário pode visualizar a concentração na saída da coluna em função do tempo e o perfil axial de concentração no líquido fora da partícula. Os gráficos podem ser salvos nos formatos \*.bmp, \*.jpg, \*.wmf, \*.gif, \*.emf, \*.png, e \*.pcx e os seus valores podem ser salvos nos formatos \*.xls e ASCII. A Figura 1 mostra a interface gráfica do programa SimuCromWin durante a simulação de um processo de cromatografia de exclusão molecular.

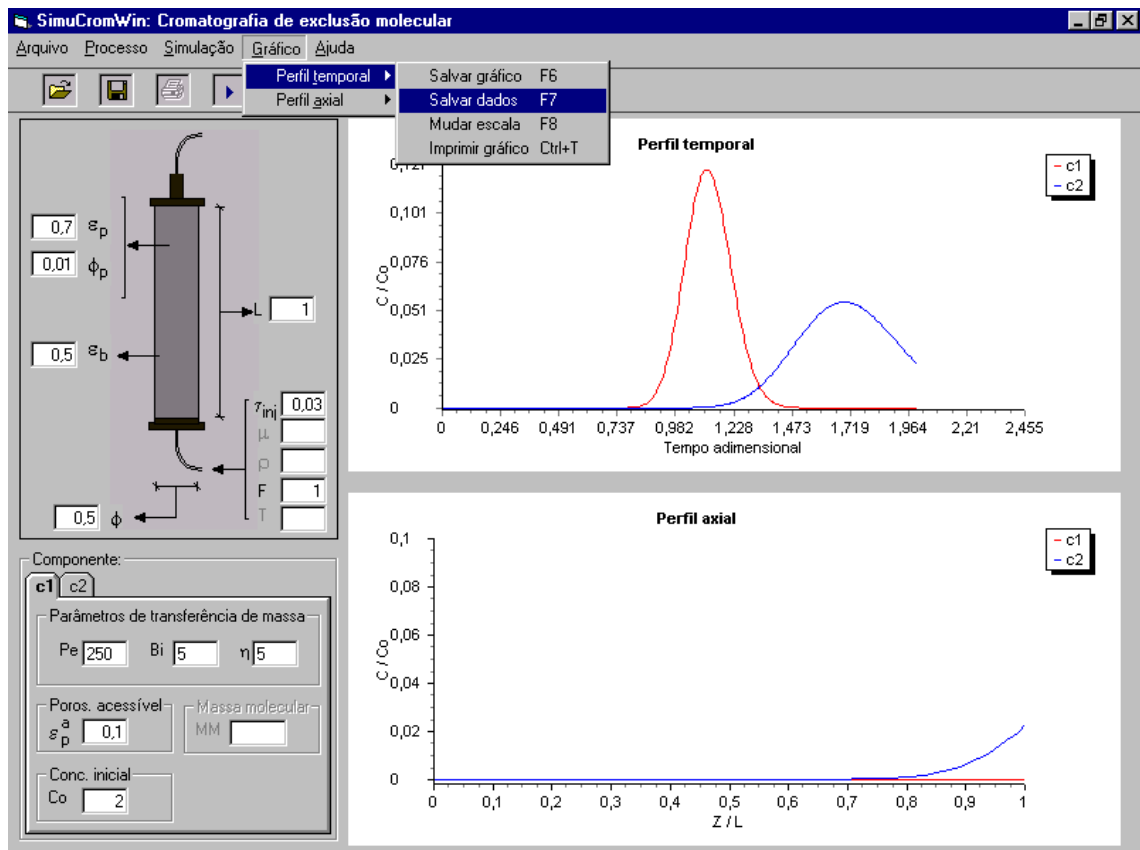


Figura 1 – Interface Gráfica do SimuCromWin.

## Exemplos

Três exemplos fictícios foram escolhidos para demonstrar as características do programa. O primeiro consiste na adsorção de uma proteína (MM = 12000 Da) por uma resina de troca iônica em um experimento em tanque agitado; o segundo trata da adsorção dessa proteína pela mesma resina, dessa vez empacotada em uma coluna de leito fixo; e o terceiro consiste da dessalinização (retirada do NaCl) dessa proteína em uma coluna de cromatografia de exclusão molecular.

No exemplo para o tanque agitado considerou-se um tanque de 20 cm de altura por 15 cm de diâmetro dotado de um sistema de agitação contendo quatro pás do tipo turbina, com diâmetro de 5 cm, que trabalha a uma velocidade de 200 revoluções por minuto. Dentro do tanque são adicionados 2,5 L de solução cuja concentração inicial da proteína é de 1 mg/mL, e 100 g da resina de troca iônica, cuja densidade da partícula é 2,3 g/mL, com porosidade e diâmetro da partícula de 0,6 e 0,01 cm, respectivamente. A densidade e a viscosidade da fase líquida

são 1 g/mL e 1 cP, respectivamente. Os parâmetros da isoterma de Langmuir são:  $q_m = 100$  mg/g e  $k_d = 0,5$  mg/mL. O processo é realizado à temperatura de 25 °C. A Figura 2 mostra a variação da concentração da solução com o tempo, curva esta gerada pelo programa SimuCromWin. O equilíbrio foi atingido após 29,6 minutos, sendo o valor da concentração da proteína na solução neste estágio de 0,137, ou seja, 86,3% da proteína original foi adsorvida. O programa SimuCromWin simulou todo o processo de adsorção em 195 segundos, ou seja, pouco mais de 3 minutos em um AMD Athlon® 750 MHz.

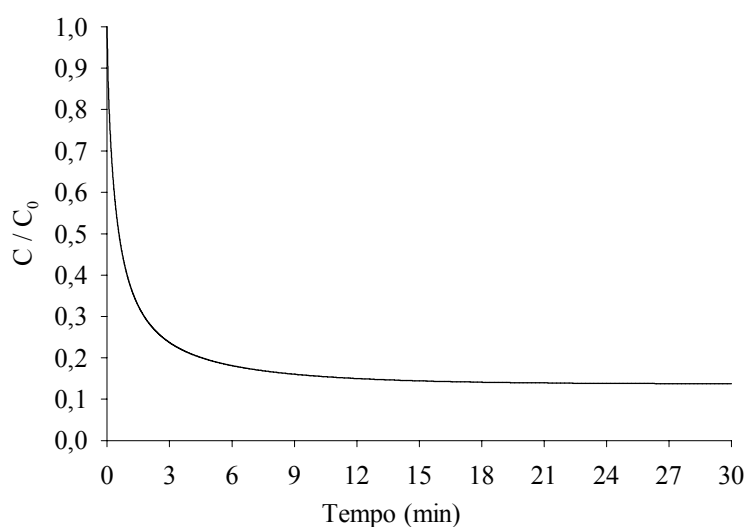


Figura 2 – Variação da concentração na fase líquida com o tempo para o primeiro exemplo.

No segundo exemplo, a adsorção é feita em uma coluna de 6 cm de altura por 3 cm de diâmetro empacotada com uma resina de troca iônica cuja densidade da partícula é 2,3 g/mL, com porosidade e diâmetro da partícula de 0,6 e 0,0046 cm, respectivamente. A porosidade do leito é de 0,5 e a vazão da fase móvel é 30 mL/min. A concentração da proteína na solução original é de 1 mg/mL. O processo é realizado à temperatura de 25 °C. A densidade e a viscosidade da fase móvel são 1 g/mL e 1 cP, respectivamente. Os parâmetros da isoterma de Langmuir são:  $q_m = 100$  mg/g e  $k_d = 0,5$  mg/mL. O processo de adsorção é interrompido quando a concentração da proteína na saída da coluna é 10% do valor na entrada da coluna. A Figura 3 mostra a curva de ruptura gerada pelo programa SimuCromWin para esse exemplo. A concentração adimensional da



proteína na saída da coluna atingiu o valor de 0,1 após 42 minutos de injeção da amostra (ou 1,26 L de solução injetada) e, nesse ponto, a coluna já havia adsorvido 1,22 g (sendo sua capacidade de 1,25 g) da proteína. O programa SimuCromWin simulou todo o processo de adsorção em 195 segundos, ou seja, pouco mais de 3 minutos em um AMD Athlon® 750 MHz.

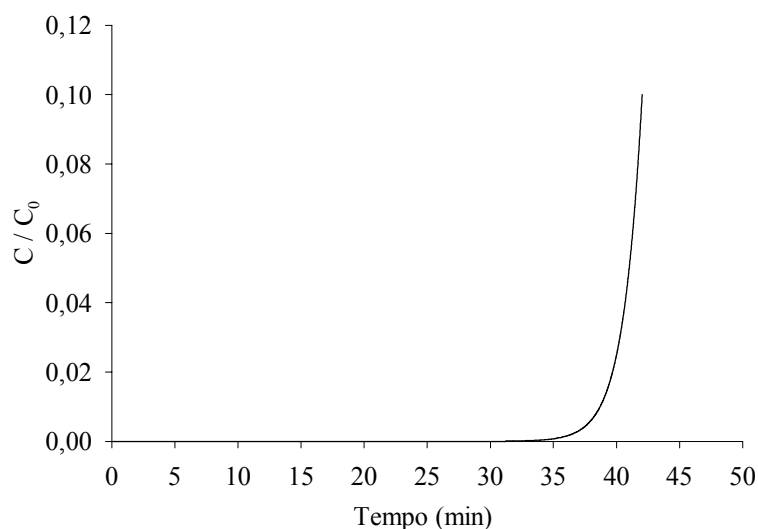


Figura 3 – Curva de ruptura para o exemplo 2.

No exemplo 3, a dessalinização da proteína é feita em uma coluna de 5 cm de altura por 2 cm de diâmetro empacotada com um gel com porosidade e diâmetro da partícula de 0,65 e 0,01cm, respectivamente. A porosidade do leito é de 0,3 e a vazão da fase móvel é 10 mL/min. O processo é realizado à temperatura de 25 °C. A densidade e a viscosidade da fase móvel são de 1 g/mL e 1 cP, respectivamente. Os valores de porosidade acessível da proteína e do NaCl são 0,05 e 0,65, respectivamente. O volume de amostra injetado é 0,5 mL. A Figura 4 mostra o cromatograma gerado pelo programa SimuCromWin para esse exemplo. O primeiro pico corresponde à proteína e o segundo ao sal. O tempo de separação foi de pouco mais de 2 minutos, conforme pode ser observado na Figura 4. O programa SimuCromWin simulou todo o processo em 97 segundos, ou seja, menos de 2 minutos em um AMD Athlon® 750 MHz.

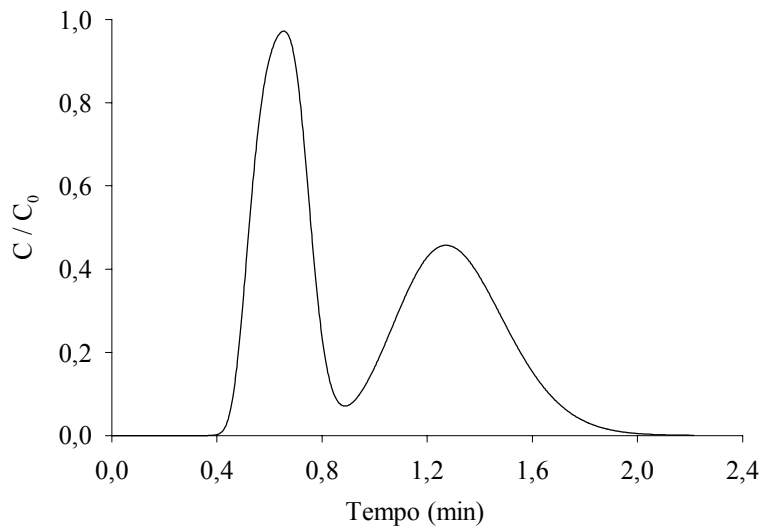


Figura 4 – Cromatograma do exemplo 2.

### Conclusões

SimuCromWin é uma ferramenta rápida e eficiente para a simulação de processos cromatográficos em tanques ou em colunas de leito fixo. Sua interface gráfica e a visualização dos processos de separação ou de adsorção são características que o tornam especialmente atrativo para profissionais que trabalham com cromatografia. Além disso, o programa também permite salvar gráficos em diversos formatos de arquivo, bem como exportar os dados dos gráficos para planilhas eletrônicas ou para arquivos no formato ASCII.

## Símbolos usados

### Símbolo Descrição

$B_i$	número de Biot de transferência de massa para o componente $i$
$C_{0i}$	concentração usada para adimensionalização, $\max\{c_{fi}(t)\}$
$C_{bi}$	concentração do componente $i$ na fase móvel
$c_{bi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase móvel
$C_{fi}$	concentração do componente $i$ na alimentação
$c_{fi}$	concentração adimensional do componente $i$ na alimentação
$C_{pi}$	concentração do componente $i$ na fase líquida da fase estacionária
$c_{pi}$	concentração adimensional do componente $i$ na fase líquida da fase estacionária
$C_{pi}^s$	concentração do componente $i$ na fase sólida da fase estacionária
$c_{pi}^s$	concentração adimensional do componente $i$ na fase sólida da fase estacionária
$D_{bi}$	coeficiente de dispersão axial do componente $i$
$D_{pi}$	coeficiente de difusão do componente $i$
$k_d$	constante na isoterma de Langmuir
$k_i$	coeficiente de transferência de massa para o componente $i$
$L$	altura do leito de partículas
$m$	número de nós em $r$
$n$	número de nós em $z$
$Pe_{Li}$	número de Peclet para o componente $i$
$q_m$	constante na isoterma de Langmuir
$R$	coordenada radial para a partícula
$r$	coordenada radial adimensional para a partícula
$Re$	número de Reynolds
$R_p$	raio da partícula
$Sc$	número de Schmidt
$Sh$	número de Sherwood
$t$	tempo
$v$	velocidade intersticial da fase móvel
$V_b$	volume de líquido no tanque
$V_p$	volume de adsorvente no tanque
$Z$	coordenada axial
$z$	coordenada axial adimensional
$\Delta z$	incremento na direção axial

### Letras gregas

$\varepsilon_b$	fração de volume vazio do leito
$\varepsilon_p$	porosidade da partícula
$\varepsilon_p^a$	porosidade acessível da partícula para o componente $i$
$\eta_i$	constante adimensional para o componente $i$
$\xi_i$	constante adimensional para o componente $i$

$\tau$	tempo adimensional
$\Delta\tau$	incremento de tempo adimensional
$\tau_{imp}$	tempo de duração adimensional para um pulso retangular da amostra

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARVES, B. H.; LIAPIS, A. I. The modeling and analysis of the elution stage of biospecific adsorption in fixed beds. **Biotechnology and bioengineering**, New York, v.30, p.638-649, 1987.

CARRÈRE, H. **Extraction des proteines du lactoserum par chromatographie d'échange 'dions en lit fluidisé**. 1993. 210f. Tese (Doutorado). Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, 1993.

CHUNG, S. F.; WEN, C. Y. Longitudinal dispersion of liquid flowing through fixed and fluidized beds, **AIChE Journal**, New York, v.14, p.857, 1968.

GU, T. **Mathematical modeling and scale-up of liquid chromatography**. Berlin: Springer Verlag, 1995. 123p.

GU, T.; TSAI, G.; TSAO, G. T. Modeling of nonlinear multicomponent chromatography. **Advances in biochemical engineering biotechnology**, Berlin, v.49, p.45-71, 1993.

GUIOCHON, G.; SHIRAZI, S. G.; KATTI, A. M. **Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography**. London: Academic Press, 1994. 697 p.

HORSTMANN, B. J.; CHASE, H. A. Modelling the affinity adsorption of immunoglobulin g to protein a immobilized to agarose matrices. **Chemical engineering research and design**, Warwickshire, v.67, n.3, p.243-254, 1989.

JANSON, J.; RYDÉN, L. **Protein purification: principles, high resolution methods, and applications**. New York: Wiley-VCH, 1998. 695p.

KEMPE, H. et al. Simulation of chromatographic process applied to separation of proteins. **Journal of chromatography A**, Amsterdam, v.846, p.1-12, 1999.

KIM, D. H.; JOHNSON, A. F. Computer model for gel permeation chromatography of polymers. **ACS symposium series**, Washington, v.245, p.25-45, 1984.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the american chemical society**, Washington, v.30, p.2263-2295, 1916.

SPIEKER, A.; KLOPPENBURG, E.; GILLES, E. Computer modeling of chromatographic bioseparation. In: SUBRAMANIAN, G. **Bioseparation and bioprocessing**. Weinheim: WILEY-VCH, 1998. v.1, p.329-362.

TRUEI, Y.-H. et al. Large-scale gradient elution chromatography. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, Berlin, v.47, p.1-43, 1992.

YOUNG, M. E.; CARROAD, P. A.; BELL, R. L. Estimation of diffusion coefficients of proteins. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.22, p.947, 1980.

## CONCLUSÕES GERAIS

O procedimento numérico para a solução do modelo de transferência de massa para adsorção em coluna de leito fixo que considera equilíbrio instantâneo na superfície da partícula foi eficiente para a simulação de um processo de adsorção em troca iônica sendo capaz de simular rapidamente a adsorção simultânea das proteínas do soro  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina pela resina Accel Plus QMA<sup>®</sup>. A concordância dos perfis simulados com os dados experimentais demonstra que o modelo proposto é adequado para a simulação do sistema em estudo.

O esquema proposto para a solução do modelo de transferência de massa para a cromatografia de exclusão molecular que considera dispersão axial, difusão dentro da partícula, resistência à transferência de massa na superfície da partícula e porosidade acessível da partícula foi eficiente para a simulação do processo de purificação das proteínas do soro,  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, presentes nas fases polimérica e salina, respectivamente, provenientes do processo de fracionamento dessas proteínas pelo SAB composto por 18% de PEG 1500 e 18% de fosfato de potássio. A concordância dos picos simulados com os picos obtidos experimentalmente demonstra que o modelo proposto é adequado para a simulação dos sistemas em estudo. A análise paramétrica mostrou que uma estimativa acurada do coeficiente de dispersão axial é o ponto chave para a simulação dos picos das proteínas  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, uma vez que, dentro do intervalo estudado, o coeficiente de difusão e o coeficiente de transferência de massa pouco influenciaram na formação desses picos. Já para a simulação dos picos do PEG 1500 e do fosfato de potássio, todos os parâmetros de transferência de massa devem ser estimados com boa precisão, uma vez que todos eles influenciam fortemente na formação desses picos.

A metodologia proposta para a solução do modelo de transferência de massa em tanques agitados que considera difusão dentro da partícula, resistência à transferência de massa no filme líquido na superfície da partícula e equilíbrio instantâneo na superfície da partícula foi eficiente para a simulação de um

processo de adsorção em troca iônica sendo capaz de simular a adsorção simultânea das proteínas do soro  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina por uma resina de troca iônica em menos de 1 minuto. O modelo proposto pode ser útil na análise da cinética de adsorção em sistemas cromatográficos.

O programa computacional desenvolvido mostrou ser uma poderosa ferramenta para a simulação de processos cromatográficos em tanques ou em colunas de leito fixo. Sua interface gráfica e a visualização dos processos de separação ou de adsorção são características que o tornam especialmente atrativo para profissionais que trabalham com cromatografia. Além disso, o programa também permite salvar gráficos em diversos formatos de arquivo, bem como exportar os dados dos gráficos para planilhas eletrônicas ou para arquivos no formato ASCII. O programa desenvolvido pode ser bastante útil para propósitos de otimização e de aumento de escala de processos cromatográficos.