UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

RAFAEL CAVALCANTE DOS SANTOS

ESTUDO DO EQUILÍBRIO DE ADSORÇÃO ENTRE OS ENANTIÔMEROS DO PRAZIQUANTEL E A FASE SÓLIDA CELULOSE TRIS 3-CLORO, 4-METIL FENILCARBAMATO POR MEIO DE REGRESSÃO NÃO LINEAR DE MODELOS DE ISOTERMAS

RIO DE JANEIRO
2016

RAFAEL CAVALCANTE DOS SANTOS

ESTUDO DO EQUILÍBRIO DE ADSORÇÃO ENTRE OS ENANTIÔMEROS DO PRAZIQUANTEL E A FASE SÓLIDA CELULOSE TRIS 3-CLORO, 4-METIL FENILCARBAMATO POR MEIO DE REGRESSÃO NÃO LINEAR DE MODELOS DE ISOTERMAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, no Mestrado Acadêmico, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientadores: Frederico Wanderley Tavares (EQ/UFRJ)
Amaro Gomes Barreto Junior (EQ/UFRJ)

RIO DE JANEIRO
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

S167e

Santos, Rafael Cavalcante

Estudo do Equilíbrio de Adsorção entre os Enantiômeros do Praziquantel e a Fase Sólida Celulose Tris 3-Cloro, 4-Metil Fenilcarbamato por Meio de Regressão Não Linear de Modelos de Isotermas / Rafael Cavalcante Santos. -- Rio de Janeiro, 2016.

xxxiii. 241 f.: il

Orientador: Frederico Wanderley Tavares.

Coorientador: Amaro Gomes Barreto Junior.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2016.

1. Praziquantel. 2. Cromatografia Preparativa. 3. Isotermas de Adsorção. 4. Termodinâmica Estatística. 5. Estimação de Parâmetros. I. Wanderley Tavares, Frederico , orient. II. Gomes Barreto Junior, Amaro, coorient. III. Título.

RAFAEL CAVALCANTE DOS SANTOS

ESTUDO DO EQUILÍBRIO DE ADSORÇÃO ENTRE OS ENANTIÔMEROS DO PRAZIQUANTEL E A FASE SÓLIDA CELULOSE TRIS 3-CLORO, 4-METIL FENILCARBAMATO POR MEIO DE REGRESSÃO NÃO LINEAR DE MODELOS DE ISOTERMAS

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Aprovado em 19 de Janeiro de 2016 por:

Frederico Wanderley Tavares, D.Sc. (EQ/UFRJ)
(Orientador – Presidente da Banca)

Amaro Gomes Barreto Junior, D.Sc. (EQ/UFRJ)
(Orientador)

Argimiro Resende Secchi, D.Sc. (COPPE/UFRJ)

Helvécio Vinícius Antunes Rocha, D.Sc.
(FARMANGUINHOS/FIOCRUZ)

Luiz Antônio D'Ávila, D.Sc. (EQ/UFRJ)

RIO DE JANEIRO
2016

Dedicatória

Dedico os méritos deste trabalho a *Deus*, que por meio de *Sua* maior obra e milagre - pessoas - orienta e corrige meus passos, palavras, ações e pensamentos.

Aos meus pais, *Sueli Pereira* e *Marco Aurélio*, e ao meu irmão *Rodrigo Cavalcante*. O esforço empreendido também é de vocês.

Por fim, dedico este trabalho a você, caro *leitor*. Seu interesse e curiosidade mantém vivos os conhecimentos, deste e de tantos outros trabalhos. Que estes conhecimentos bem lhe sirvam e, se assim for, use-os e compartilhe-os.

AGRADECIMENTOS

Antes de expressar meus agradecimentos, quero lembrar que este trabalho, assim como todos os outros que participei, é o fruto do esforço de muitas pessoas. Reconheço que todas as ações, seja o ensinamento de um novo conhecimento ou técnica, o empréstimo de um equipamento ou reagentes, discussões sobre carreira, felicidade, passado, presente, futuro e vida, e muitas outras, para mim, foram contribuições de muito peso para a realização de mais esta etapa.

Quero iniciar expressando minha gratidão a *Deus*. Por me conceder a vida e o privilégio de participar, junto com tantas outras pessoas, da construção e continuidade da ciência e de uma cultura de paz.

Agradeço aos meus pais, Sueli Pereira Cavalcante dos Santos e Marco Aurélio dos Santos, e ao meu irmão, Rodrigo Cavalcante dos Santos, pelo apoio, suporte e amor dedicados, ao longo desses anos.

Agradeço à Escola de Química, ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos e a seus profissionais, pela oportunidade de integrar o corpo de discentes desta bem sucedida instituição.

Agradeço profundamente aos meus orientadores, Prof. Amaro Gomes Barreto Junior e Prof. Frederico Wanderley Tavares. Como eu costumo dizer, eles foram as cabeças pensantes deste trabalho, eu fui apenas o executor das atividades. Sou muito grato pela confiança depositada em mim e por todos os conhecimentos passados. Agradeço por demonstrarem como deve ser a posição de um pesquisador frente à ciência e por serem exemplos de profissionais, sempre comprometidos e entusiasmados com o que fazem. Muito Obrigado.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Cromatografia e Adsorção (LABCADS/UFRJ) e do Applied Thermodynamics and Molecular Simulation (ATOMS/UFRJ), Marlon Gama, Arthur Braga, Hermes Ribeiro, Gabriel Duarte Barbosa, Cassia Guerra, Renata Cazelato Gaioto, Fellipe Carvalho de Oliveira, Iuri Segtovich, Caio Todling e Thiago Lyra Ganem, pela parceria e convivência. Agradeço, especialmente, ao Prof. Charlles Abreu e ao estudante Guilherme Carneiro por me apresentarem a disciplina de Termodinâmica Estatística e Simulação Molecular. Tal conhecimento foi de grande valor para a execução deste trabalho. Muito Obrigado.

Agradeço imensamente à colaboração do Prof. Luiz Antônio D'Ávila e ao Laboratório de Combustíveis da Escola de Química (LABCOM/UFRJ), que nos forneceu toda a estrutura para execução das atividades experimentais. Foi uma parceria muito produtiva e espero poder mantê-la e retribuí-la no futuro.

Agradeço também à Amanda Franco e Bruno Lima, Estevam Pandini, Liliam Junqueira e Robson Tosta, e à todos os funcionários do LABCOM pela simpatia e convivência saudável ao longo desses anos.

Agradeço especialmente à Cristiane Gimenes, Simone Brito, Luciana Dalla Vechia, Débora Andrade, Roberta Perroni e aos estudantes Tiago "Bim" Garcia, Stephany Macedo, Taís Matos, João Vítor Paiva, Carolina Travassos, Pedro Melo e Renato Carvalho. Agradeço por toda ajuda prestada, durante a execução da parte experimental deste trabalho, pela convivência agradável, pela amizade e pelas nossas conversas e discussões, durante os nossos muito bem servidos cafés da tarde. Parabéns pelo trabalho em equipe e organização, foi uma experiência gratificante e muito importante para minha vida. Muito Obrigado.

Por fim, agradeço à FAPERJ e ao CNPq, pelas bolsas de formação concedidas.

Á todos, reitero meus agradecimentos.

RESUMO

SANTOS, Rafael Cavalcante. Estudo do Equilíbrio de Adsorção entre os Enantiômeros do Praziquantel e a Fase Sólida Celulose Tris 3-Cloro, 4-Metil Fenilcarbamato Por Meio de Regressão Não Linear de Modelos de Isotermas. Dissertação – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

O Praziquantel (PZQ) é a droga quiral comumente utilizada contra todas as espécies de Schistossoma que afetam humanos. O (R)-PZQ é o responsável pela atividade esquistomicida, enquanto que o (S)-PZQ, não possui atividade anti-helmíntica, porém é responsável por conferir um gosto amargo intenso às formulações que o contenham. A separação cromatográfica é uma das técnicas apropriadas para a efetuar a separação entre esses enantiômeros. O objetivo deste trabalho foi a avaliar o equilíbrio de adsorção entre os enantiômeros do PZQ e uma fase sólida baseada em celulose. Foram realizados experimentos para caracterização da coluna cromatográfica quiral e para a obtenção de perfis de eluição em condições de sobrecarga. Os parâmetros de isotermas foram estimados por meio do método inverso. Obteve-se separação dos enantiômeros por linha de base para concentrações de 1,0 a 40,0 g/L PZQ. O transporte de massa na coluna aparenta ser pouco influenciado pela dispersão axial e pela transferência de massa no interior das partículas. Os perfis de concentração apresentaram uma forma simétrica em baixas concentrações de injeção,enquanto que, perfis com características típicas de Langmuir, foram observados em altas concentrações. Distorções nas bandas de eluição e nos tempos de retenção foram observadas em condições de sobrecarga. O modelo duplo-Langmuir e um modelo estatístico proposto neste trabalho, se ajustaram satisfatoriamente aos perfis experimentais. Do ponto de vista dos modelos, a fase estacionária é heterogênea e composta, majoritariamente, de um sítio seletivo e um sítio não-seletivo. A interação entre moléculas adsorvidas, foi o apontada para justificar os fenômenos observados. A competição com o solvente foi um fenômeno indicado, para justificar os "ombros" detectados. O modelo estatístico permitiu descrever os dados experimentais de adsorção e foi capaz de reproduzir a resposta de outros modelos mais comuns da literatura, o que demonstrou sua potencialidade de uso para projetos de adsorção competitiva.

Palavras-chave: Praziquantel, Isoterma de adsorção, Perfis de Sobrecarga.

ABSTRACT

SANTOS, Rafael Cavalcante. Study of Praziquantel Enantiomers and Celullose Tris 3-Chloro, 4-Methylphenylcarbamate Solid Phase Adsorption Equilibria Applying Nonlinear Regression and Isotherms Models. Dissertation – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

Praziquantel (PZQ) is the chiral drug commonly used against all of the *Schistossoma* species that affect human beings. (R)-PZQ is responsible for anti-helminthic activity. On the other hand, (S)-PZQ doesn't own any antiparasitic effect, however, it grants a bitter taste to the formulations. Chromatography is a useful technique to separate the PZQ enantiomers. The main goal of the present work was evaluate adsorption equilibria between PZQ enantiomers and a cellulose-based stationary phase. Experiments were done to characterize the chromatographic column and to generate the overloaded elution profiles. The data was used to estimate isotherms parameters by means of inverse method. The chromatographic process presented a baseline separation on the concentration range from 1,0 to 40,0 g/L of PZQ. The mass transport throughout the column appears to be unaffected by the mass transfer on the particles inner and by the axial dispersion. The concentration profiles presented a symmetric patterns at lower concentrations whereas, Langmuir-shape profiles were observed at higher concentrations. Deformations on the elution bands and on retention times were observed when using overloaded conditions. The double-Langmuir and the proposed Statistical isotherms were used to fit the experimental data successfully. On the theoretical point of view, the stationary phase is heterogeneous and composed by a selective and a non-selective site. The interaction between adsorbed molecules was the main factor appointed to explain the observed phenomena. The solvent competition was indicated to explain the "shoulders" detected on the chromatographic profile. The statistical model was able to well describe the experimental data obtained here. The statistical model was capable to reproduce the response obtained by other isotherms from literature what showed its potentiality in use this model to design processes with competitive adsorption.

Keywords: Praziquantel, Adsorption Isotherm, Overloaded Profiles.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO VIII

Tabela 8.1: Tempos de retenção das amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 116

Tabela 8.2: Número de pratos teóricos para o primeiro componente separado (Pico 1) em função de diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).* Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 122

Tabela 8.3: Número de pratos teóricos para o segundo componente separado (Pico 2) em função diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 122

Tabela 8.4: Valores de HETP em função da velocidade do eluente. *Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. ...124

Tabela 8.5: Valores calculados para o coeficiente de dispersão aparente (D_{app}) em função da velocidade do eluente. * Intervalo de confiança. 126

Tabela 8.6: Valores calculados para o número de Peclet (Pe) em função da velocidade do eluente. * Intervalo de confiança. 126

Tabela 8.7: Valores de Absorvância registrados pelo detector para cada concentração testada. Volume injetado de 200,0 µL.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 127

Tabela 8.8: Valores estimados e dispersão estatística para os parâmetros de ajuste do modelo de calibração. *Intervalo de confiança. 130

Tabela 8.9: Tempos para retenção da frente de massa para o Pico 1.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 140

Tabela 8.10: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente

significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 141

Tabela 8.11: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 1 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 144

Tabela 8.12: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 145

Tabela 8.13: Médias e desvios padrão paramétricos obtidos para o modelo Langmuir - sítio simples. 156

Tabela 8.14: Dados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo Langmuir - sítio simples. 157

Tabela 8.15: Médias e desvios padrão paramétricos obtidos para o modelo duplo-Langmuir. 165

Tabela 8.16: Dados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo duplo-Langmuir. 165

Tabela 8.17: Valores estimados para os parâmetros do modelo estatístico completo. [1.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para os componentes puros. [2.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para mistura racêmica. 173

Tabela 8.18: Resultados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo estatístico completo. 174

Tabela 8.19: Valores estimados para os parâmetros do modelo estatístico simplificado. [1.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para os componentes puros. [2.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para mistura racêmica. 182

Tabela 8.20: Resultados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo estatístico simplificado. 183

Tabela 8.21: Parâmetros para geração de diferentes curvas de adsorção a partir do modelo de isoterma estatístico. **A.** Langmuir com inversão de seletividade. **B.** Langmuir\Henry. **C.** Anti-langmuir\Langmuir. **D.** Langmuir\Anti-langmuir\Langmuir. 197

ANEXO

Tabela B.1: Tempos de retenção das amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 221

Tabela B.2: Resultados para a ANOVA dos dados de tempos de retenção do TTBB (α = 0,05). 222

Tabela B.3: Diferença entre médias de tempos de retenção de amostras de TTBB. Para n= 4 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 0,0093. 222

Tabela B.4: Resultados para o teste chi^2 e coeficiente de correlação, calculados para avaliação do ajuste do modelo referente aos tempos de retenção do traçador. 222

Tabela B.5: Tempos de retenção das amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 224

Tabela B.6: Número de pratos teóricos para o primeiro componente separado (Pico 1) em função de diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). * Valor inferior à 1%. ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 225

Tabela B.7: Número de pratos teóricos para o segundo componente separado (Pico 2) em função diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 225

Tabela B.8: Resultados para a ANOVA dos dados referentes ao número de pratos teóricos para o Pico1. (α = 0,05). 227

Tabela B.9: Resultados para a ANOVA dos dados referentes ao número de pratos teóricos para o Pico2. (α = 0,05). 227

Tabela B.10: Diferença entre médias de número de pratos teóricos para o primeiro componente separado (Pico 1). Para n= 3 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 17,24.....227

Tabela B.11: Diferença entre médias de número de pratos teóricos para o segundo componente separado (Pico 2). Para n= 3 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 17,24.....228

Tabela B.12: Valores de Absorvância registrados pelo detector para cada concentração testada. Volume injetado de 200,0 µL.*Letras diferentes na mesma

coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança. 229

Tabela B.13: Resultados para a ANOVA dos dados referentes à absorvância registrada pelo detector frente as várias concentrações testadas. (α = 0,05). 229

Tabela B.14: Diferença entre médias de absorvâncias para diferentes valores de concentração de PZQ (R + S). Para n= 3 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 8,27. 230

Tabela B.15: Matriz de covariâncias entre os parâmetros do modelo de ajuste utilizado para a elaboração da curva de calibração do detector..... 231

Tabela B.16: Matriz de correlação entre os parâmetros do modelo de ajuste utilizado para a elaboração da curva de calibração do detector..... 231

Tabela B.17: Valores de absorvância preditos pelo modelo de ajuste e sua respectiva dispersão estatística.* Intervalo de Confiança. 231

Tabela B.18: Tempos para retenção da frente de massa para o Pico 1.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 232

Tabela B.19: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 232

Tabela B.20: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 1. (α = 0,05)..... 233

Tabela B.21: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 2. (α = 0,05)..... 233

Tabela B.22: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 1 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 235

Tabela B.23: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*. 235

Tabela B.24: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 1 puro. (α = 0,05)..... 237

Tabela B.25: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 2 puro. (α = 0,05)..... 237

Tabela B.26: Diferença entre médias de tempos de retenção (frente de massa) para o primeiro componente puro (Pico 1). Para n_1= 6 e n_2 = 5 (réplicas por tratamento) e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 0,0396. 237

Tabela B.27: Diferença entre médias de tempos de retenção (frente de massa) para o segundo componente puro (Pico 2). Para n= 4 (réplicas por tratamento) e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 0,105. 238

Tabela C.1: Matriz de Covariâncias dos parâmetros do modelo Bi-Langmuir, gerada para os dados de puros e mistura racêmica..... 239

Tabela C.2: Matriz de Correlação dos parâmetros do modelo Bi-Langmuir, gerada para os dados de puros e mistura racêmica..... 239

Tabela C.3: Matriz de Covariâncias dos parâmetros do modelo estatístico completo, gerada para os dados de puros e mistura racêmica. 240

Tabela C.4: Matriz de Correlação dos parâmetros do modelo estatístico completo, gerada para os dados de puros e mistura racêmica. 240

Tabela C.5: Matriz de Covariâncias dos parâmetros do modelo estatístico simplificado, gerada para os dados de puros e mistura racêmica..... 240

Tabela C.6: Matriz de Correlação dos parâmetros do modelo estatístico simplificado, gerada para os dados de puros e mistura racêmica. 241

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO III

Figura 3.1: Estrutura química dos enantiômeros do praziquantel (à esquerda), com destaque para o centro quiral; Fonte: Extraído de MEYER et. al. (2009). Comprimidos de praziquantel racêmico, 600 mg; Fonte: GOOGLE IMAGENS (2014). 11

Figura 3.2: Exemplo de uma substância quiral: 2-Bromobutano. O carbono 2 é identificado como ocentro assimétrico por estar ligado à quatro grupamentos distintos. Fonte: Extraído de BRUICE (2013). 13

Figura 3.3: Estruturas químicas dos enantiômeros do 2-metil-1-Butanol (Acima). Estereoisômeros do 3-Bromo-2Butanol (Abaixo). Os pares 1-3, 1-4, 2-3 e 2-4 são diasteroisômeros. Fonte: Extraído de BRUICE (2013). 13

Figura 3.4: Estruturas químicas da Celulose tris 3-Cloro-4-metil fenilcarbamato (1) e Celulose tris 3,5-dimetil fenilcarbamato (2). Fonte: Elaborado pelo Autor. 19

CAPÍTULO IV

Figura 4.1: Diferentes formas de cálculo do desvio-padrão relacionado ao pico de um dado componente. Diferentes larguras são medidas à determinadas alturas e divididas por um fator numérico, necessário para a estimativa do desvio-padrão. Fonte: Elaborado pelo autor, baseado em FANALI *et al* (2013). 24

Figura 4.2: Modelo conceitual para a aplicação do balanço de massa diferencial. Fonte: Elaborado pelo autor, baseado em SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE, SEIDEL-MORGENSTERN (2012). 30

Figura 4.3: Ilustração do procedimento de discretização do domínio espacial da coluna cromatográfica em elementos finitos. Cada elemento é então subdividido em intervalos, cujos limites são tomados como pontos de colocação ortogonal. Fonte: Elaborado pelo Autor. 45

CAPÍTULO V

Figura 5.1: Potencial de interação de Lennard-Jones. No gráfico, r_e representa a distância em que forças repulsivas se equilibram com forças atrativas. Fonte: ROUQUEROL, ROUQUEROL, & KING (1998). 50

Figura 5.2: Ilustração evidenciando o deslocamento da nuvem eletrônica sobre as moléculas de HCl e H_2O. Os momentos dipolares apontam, convencionalmente, em direção à carga positiva (baixa densidade de elétrons). Fonte: BRUICE (2013).....51

Figura 5.3: Ilustração do quadrupolo presente na molécula do benzeno (**A**). Representação de uma carga distribuída assimetricamente (elipsoidal) - carga pontual de valor q e o quadrupolo evidenciando a distribuição não-simétrica (**B**). Fonte: Elaborado pelo Autor.....52

Figura 5.4: Ilustração demonstrando o efeito da polarização. Na imagem **A**, verifica-se o efeito de polarização (alinhamento dos dipolos), provocado por um campo elétrico de um íon positivo, sobre moléculas de água. Na imagem **B**, Verifica-se o efeito de polarização (indução de momento dipolar), provocado por uma molécula polar, sobre moléculas não polares. Fonte: Elaborado pelo Autor. 53

Figura 5.5: Classificação dos tipos de isotermas segundo GILES *et al.* (1974). (**A**) - tipo "C", (**B**) - tipo "L", (**C**) - tipo "H" e (**D**) - tipo "S". Fonte: Elaborado pelo autor, baseado em GILES (1974). 61

Figura 5.6: Classificação de isotermas segundo a IUPAC. * Evidencia-se nas isotermas tipo IV e V o fenômeno da histerese de adsorção. Fonte: Elaborado pelo Autor, baseado em BALBUENA & GUBBINS (1993). 63

Figura 5.7: Representação da fase sólida considerada no desenvolvimento do modelo para gás ideal reticulado. Fonte: Elaborado pelo Autor. 69

Figura 5.8: Representação da primeira consideração do modelo: N moléculas adsorvem em M sítios, sendo o número de sítios igual ao de moléculas (N = M). Fonte: Elaborado pelo Autor.....70

Figura 5.9: Representação para o caso do número de moléculas inferior ao número de sítios. Várias combinações são possíveis, além de combinações equivalentes, porém contabilizadas uma única vez. Fonte: Elaborado pelo Autor. 71

Figura 5.10: Representação do equilíbrio entre as fases adsorvida e fluida (reservatório de partículas). Fonte: Elaborado pelo Autor. 73

Figura 5.11: Representação de diferentes tipos de sítios. A distribuição das moléculas sobre cada tipo de sítios é descrita por uma função ξ distinta para cada tipo de sítio. Fonte: Elaborado pelo Autor. 75

Figura 5.12: Ilustração das possíveis configurações do sítio formado por duas regiões distintas. Uma única configuração é possível quando não há moléculas adsorvidas. Quando uma única molécula adsorve, duas funções de partição molecular, para cada região do sítio, são possíveis. Quando duas moléculas adsorvem, uma em cada sítio, a função de partição deve contabilizar a energia de

interação entre as mesmas, segundo as considerações do modelo. Fonte: Elaborado pelo Autor. 77

Figura 5.13: Ilustração do procedimento experimental básico para avaliação de dados de equilíbrio de adsorção pelo método em batelada. Fonte: Elaborado pelo autor. 80

Figura 5.14: Ilustração do procedimento experimental para avaliação de dados de equilíbrio de adsorção através do método da circulação. Fonte: Elaborado pelo autor. 81

Figura 5.15: Curva de Breaktrough utilizada para a avaliação de dados de equilíbrio de adsorção pelo método da análise frontal. Fonte: Elaborado pelo autor.....82

Figura 5.16: Curva gerada pela injeção de um pulso de concentração. Um único pulso é suficiente para a aplicação do método de análise de fronte disperso. Fonte: Elaborado pelo autor. 84

Figura 5.17: Aplicação do método da perturbação. Injeção de pequenos pulsos de amostra ligeiramente superior (ou inferior) à concentração de equilíbrio da coluna (C_a). Fonte: Elaborado pelo autor.....85

CAPÍTULO VI

Figura 6.1: Ilustração das premissas desenvolvidas para os sítios de adsorção "quiral e aquiral" e para os dois componentes de interesse (enantiômeros). O *sítio "quiral"* possui uma região com seletividade para um dos enantiômeros (região A, em azul) e uma outra região sem qualquer seletividade (região B, em cinza escuro). O *sítio "aquiral"* possui as duas regiões sem qualquer seletividade quiral (regiões A' e B', em cinza escuro). Fonte: Elaborado pelo autor. 90

Figura 6.2: Ilustração do modelo conceitual para adsorção de enantiômeros em uma fase sólida constituída de dois tipos de sítios. As imagens ilustram as possíveis configurações assumidas pelo componente 1 (esfera em vermelho) e pelo componente 2 (esfera em azul) ao adsorverem sobre as regiões A ou B dos sítios "quirais" (à esquerda) e "aquirais" (à direita). Fonte: Elaborado pelo autor. 92

CAPÍTULO VII

Figura 7.1: Ilustração do sistema cromatográfico utilizado. 1- Reservatórios de eluente, 2- Detector e Bomba, 3- Injetor manual, 4- Loop (2 mL), 5- Coluna Cromatográfica, 6- Coletor de frações automático, 7- Computador. Fonte: Elaborado pelo autor. 102

Figura 7.2: Ilustração do procedimento experimental para a obtenção das curvas de sobrecarga de praziquantel (R + S).....105

Figura 7.3: Ilustração do procedimento experimental para obtenção dos enantiômeros puros do praziquantel na forma sólida.....107

Figura 7.4: Ilustração do procedimento experimental para a elaboração da curva de calibração do detector.....109

CAPÍTULO VIII

Figura 8.1: Perfis de concentração de amostras de TTBB 97% (solução 1,0 g/L, 20,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.....117

Figura 8.2: Tempos de retenção (tempos mortos) das amostras de TTBB plotados contra os respectivos valores de vazão de etanol. 119

Figura 8.3: Comparação entre os tempos mortos (traçador) experimentais (○) e calculados (●), referentes ao procedimento de estimação do valor da porosidade total da coluna. 120

Figura 8.4: Altura equivalente de pratos teóricos como função da velocidade linear para ambos componentes. As barras de erro correspondem ao intervalo de confiança (probabilidade de 95%, segundo a distribuição t-student). 125

Figura 8.5: Curva de Calibração para a resposta do detector, obtida por regressão não-linear. Parâmetros (média ± $IC_{(95\%)}$): A = 4419 ± 3 mAU.L/g e B = 0,6188 ± 0,0006 L/g. 130

Figura 8.6: Perfis de concentração em condições de sobrecarga para amostras de praziquantel (R + S). Volume de injeção = 200,0 µL, Vazão = 2,0 mL/min. 134

Figura 8.7: Perfis de concentração obtidos para injeção de amostras de praziquantel em diversas concentrações de alimentação. Plotagem para comparação entre os cromatogramas. *Condições de operação: 2,0 mL/min (vazão), 200,0 µL (volume de injeção).....135

Figura 8.8: Perfis cromatográficos para concentrações de 25, 27, 33, 35 e 37 g/L de praziquantel racêmico. Volume de injeção = 200,0 µL, Vazão = 2,0 mL/min. 137

Figura 8.9: Perfis cromatográficos para concentrações de alimentação entre 15 a 40 g/L. Linha cheia - 15 g/L; Linhas Coloridas - concentrações de 20 à 40 g/L. 138

Figura 8.10: Derivada do sinal em relação ao tempo. Os tempos $t_{ab}1$ e $t_{ab}2$ caracterizam os tempos de retenção da frente de massa, identificando o primeiro ponto no qual ocorre a alteração repentina do comportamento do valor da derivada. 139

Figura 8.11: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o primeiro componente separado (Pico 1). 142

Figura 8.12: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o primeiro componente separado (Pico 2). 143

Figura 8.13: Perfis cromatográficos para concentrações de 0,57, 3,71, 5,02, 7,16, 14,11 e 16,81 g/L do Pico 1. Volume de injeção = 200,0 µL, Vazão = 2,0 mL/min. 146

Figura 8.14: Perfis cromatográficos para concentrações de 0,66, 3,67, 8,20, 14,56 e 22,18 g/L do componente 2 (Pico 2). 147

Figura 8.15: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o primeiro componente puro (Pico 1). 148

Figura 8.16: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o segundo componente puro (Pico 2). 148

Figura 8.17: Perfis cromatográficos para concentrações de alimentação de 0,57, 3,71, 5,02, 7,16, 14,11 e 16,81 g/L do componente 1 (Pico 1). 149

Figura 8.18: Perfis cromatográficos para concentrações de alimentação entre 0,66, 3,67, 8,20, 14,56 e 22,18 g/L do componente 2 (Pico 2). 149

Figura 8.19: Teste de malha de discretização. Variância calculada entre os perfis simulados para diferentes elementos finitos e o perfil de referência (500 elementos finitos), em função do número total de elementos. 154

Figura 8.20: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo Langmuir - sítio simples. 158

Figura 8.21: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma Langmuir - sítio simples. 160

Figura 8.22: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma Langmuir - sítio simples. 161

Figura 8.23: Perfis cromatográficos experimentais (○) e calculados (-) para as concentrações de alimentação de 1, 5, 10, 15, 20 e 40 g/L, 200,0 µL de volume

injetado e 2,0 de vazão de eluente. Perfis calculados obtidos utilizando-se a isoterma tipo langmuir competitivo.....163

Figura 8.24: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo Langmuir - sítio simples. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro.....164

Figura 8.25: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo duplo-Langmuir. 166

Figura 8.26: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma duplo-Langmuir.....168

Figura 8.27: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma duplo-Langmuir.....169

Figura 8.28: Comparação entre os perfis de concentração experimental (○) e calculado (-) para amostras de 200,0 µL de praziquantel racêmico, nas concentrações de 1, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 g/L. Cromatogramas simulados com modelo tipo duplo-Langmuir.....171

Figura 8.29: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo duplo-Langmuir. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro. 171

Figura 8.30: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo estatístico completo.....175

Figura 8.31: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística completa. 177

Figura 8.32: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística completa. 178

Figura 8.33: Comparação entre os perfis de concentração experimental (○) e calculado (-) para amostras de 200,0 µL de praziquantel racêmico, nas concentrações de 1 a 40 g/L. Cromatogramas simulados com modelo de isoterma estatística completa.....180

Figura 8.34: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo estatístico completo. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro. 181

Figura 8.35: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo estatístico simplificado.....183

Figura 8.36: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo estatístico simplificado. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro.....185

Figura 8.37: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística simplificada.....186

Figura 8.38: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística simplificada.....187

Figura 8.39: Comparação entre os perfis de concentração experimental (○) e calculado (-) para amostras de 200,0 µL de praziquantel racêmico, nas concentrações de 1 a 40 g/L. Cromatogramas simulados com modelo de isoterma estatística simplificado.....189

Figura 8.40: Derivada da isoterma estatística completa em função da concentração dos analitos na fase móvel, obtida para a mistura racêmica. 191

Figura 8.41: Perfis de eluição dos enantiômeros do praziquantel simulados ao longo da coluna cromatográfica. Perfis calculados com a isoterma estatística completa. A seta no gráfico interno indica o ombro formado na banda do Pico 1. Tempos: **1.** 0,1 min; **2.** 0,95 min; **3.** 1,95; **4.** 3,67 min. 194

Figura 8.42: Curvas para a isoterma de adsorção estatística, geradas com diferentes parâmetros, representando diferentes fenômenos. (●) Componente 1. (○) Componente 2. **A.** Langmuir com inversão de seletividade. **B.** Langmuir\Henry. **C.** Anti-langmuir\Langmuir. **D.** Langmuir\Anti-langmuir\Langmuir. 198

Figura 8.43: Derivadas das isotermas estatísticas, apresentando pontos de inflexão, em função da concentração de analito na fase móvel. (—) Componente 1. (····) Componente 2. **A.** Derivada referente a isoterma C. **B.** Derivada referente a isoterma D. 200

ANEXO

Figura A.1: Organização dos algoritmos computacionais para resolução do problema de estimação de parâmetros. 216

Figura B.1: Resíduos experimentais (tempo de retenção do traçador - TTBB) plotados contra valores normais esperados. 221

Figura B.2: Perfis de concentração de amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol. O eixo vertical corresponde à resposta do detector (mAU) e o eixo horizontal corresponde ao tempo (min)..... 223

Figura B.3: Resíduos experimentais (Número de pratos teóricos (N_{pt}) - Pico 1) plotados contra valores normais esperados. 226

Figura B.4: Resíduos experimentais (Número de pratos teóricos (N_{pt}) - Pico 2) plotados contra valores normais esperados. 226

Figura B.5: Resíduos experimentais calculados para os dados de absorvância (mAU) plotados contra valores normais esperados..... 230

Figura B.6: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa (Pico 1) plotados contra valores normais esperados. 234

Figura B.7: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa (Pico 2) plotados contra valores normais esperados. 234

Figura B.8: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa, do Pico 1 puro, plotados contra valores normais esperados..... 236

Figura B.9: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa, do Pico 2 puro, plotados contra valores normais esperados..... 236

LISTA DE SÍMBOLOS

$\boldsymbol{A_c}, \boldsymbol{A_{coluna}}$ → Área da coluna.

$\boldsymbol{a}$ → Atividade de um componente/ Constante de ajuste.

$\boldsymbol{a_{\ i/s}}$ → Número de sítios de adsorção contendo i/s moléculas.

$\boldsymbol{b}, \boldsymbol{B_i}$ → Constante de afinidade/Constante de Ajuste.

$\boldsymbol{B}$ → Matriz de sensibilidades.

$\boldsymbol{c}$ → Concentração de um componente.

$\boldsymbol{c_1}, \boldsymbol{c_2}$ → Parâmetro de cognição (1) e social (2).

$\overline{\boldsymbol{c_p}}$ → Concentração média nos poros da partícula.

$\boldsymbol{C_{injeção}}$ → Concentração da solução injetada.

$\boldsymbol{D_{A,B}}, \boldsymbol{D_{i,j}}$ → Difusividade do componente A(i) no componente B(j).

$\boldsymbol{d_p}$ → diâmetro da partícula.

$\boldsymbol{D_e}$ → Difusividade combinada (interior da partícula).

$\boldsymbol{D_{axial}}$ → Difusividade de um componente na fase fluida.

$\boldsymbol{D_{app}}$ → Coeficiente de dispersão aparente.

$\boldsymbol{D_p}, \boldsymbol{D_{poro}}$ → Difusividade nos poros.

$\boldsymbol{D_s}, \boldsymbol{D_{super}}$ → Difusividade na superfície do sólido.

$\boldsymbol{e_i}$ → Desvio entre dado experimental e calculado.

$\boldsymbol{E_s}$ → Energia de ativação.

$\boldsymbol{F}$ → Razão de fases.

$\boldsymbol{F_{obj}}$ → Função objetivo.

$\boldsymbol{f}$ → Fator de fricção/ Função densidade de probabilidade.

$\boldsymbol{G_{ads}}$ → Energia livre de Gibbs na fase adsorvida.

$\boldsymbol{G_Y}$ → Matriz de derivadas do vetor gradiente da função objetivo em relação à variável dependente.

$\boldsymbol{g_x}$ → Componente da aceleração da gravidade na direção x.

$\boldsymbol{h}$ → Intervalo de espaço.

$\boldsymbol{H_\alpha}$ → Matriz Hessiana.

$\boldsymbol{H_i}, \boldsymbol{H}$ → Constante de Henry/Entalpia.

$\boldsymbol{HETP}$ → Altura equivalente de pratos teóricos.

$\boldsymbol{J}$ → Fluxo difusivo.

$\boldsymbol{k_{água}}$ → Condutividade Térmica da água.

K_E → Constante de equilíbrio de Elovich.

K_{F-G} → Constante de equilíbrio de Fowler→Guggenheim.

K_0 → Constante de equilíbrio de Temkin.

K_1, K_n → Constante de interação.

k_{eff} → Constante de transferência de massa efetiva.

k_{filme} → Constante de transferência de massa no filme líquido.

k, k' → Fator de capacidade/Constante de Boltzmman.

k_{vel} → Constante de velocidade.

Lf → Função de Máxima Verossimilhança.

L, L_c, L_{coluna} → Comprimento da coluna cromatográfica.

L_f → Fator de carga.

M → Número de sítios.

M_q, M_{aq} → Número de sítios quirais (q) e aquirais (aq).

m → Massa adimensional.

$\dot{m}$ → Taxa de transferência de massa.

$m_{injeção}$ → Massa do componente injetada.

N_{exp} → Número de dados experimentais.

N_{par} → Número de parâmetros.

N_X → Número de variáveis independentes.

N_Y → Número de variáveis dependentes.

n_i, n → Número de moles.

n_{ads} → Número de moles na fase adsorvida.

n_i^{exc} → Número de moles em excesso.

N, N_{pt} → Número de pratos teóricos/Número de moléculas.

$\bar{N}$ → Média do número de moléculas em uma fase.

N_p → Número de partículas por unidade de volume.

P_e → Peclet de um componente genérico.

p → Pressão do sistema.

$Q(N, M, T)$ → Função de partição canônica.

q_i, q_{mol} → Função de partição molecular.

q_{sat}, Q_{max} → Concentração de saturação da fase sólida.

q_i, q → Concentração na fase adsorvente.

$\dot{q}$ → Taxa de transferência de calor.

$\overline{q}$ → Concentração média adsorvida na superfície.

$\overline{q_{ads}}$ → Concentração média no adsorvente.

r, r_p → Raio da partícula.

r_1, r_2 → Números aleatórios .

$r_{1,i}, r_{2,i}$ → Taxa para reação de primeira ordem (1) e segunda ordem (2) .

$r_{Y_{exp},Y_{calc}}$ → Coeficiente de correlação (variáveis experimentais e calculadas).

$r_{\alpha_i,\alpha_j}, \rho_{\alpha_{ij}}$ → Coeficiente de correlação entre parâmetros.

R → Constante dos gases perfeitos.

$\dot{R}_i$ → Taxa de reação do componente i.

R_S → Resolução.

S → Coordenada adimensionalizada.

S_{ads} → Entropia na fase adsorvida.

S_i → Coordenadas dos nós de uma malha de discretização.

T → Temperatura absoluta.

t → Tempo.

t_r → Tempo de retenção.

t_0 → Tempo morto.

u → Velocidade de um fluido genérico.

U → Energia interna.

V_a → Matriz de Covariância dos parâmetros.

V_Y → Matriz de erros experimentais (variável dependente).

$V_{Y_{pred}}$ → Matriz de erros experimentais preditos.

V_Z → Matriz de desvios entre dados experimentais e esperados.

V_{ads} → Volume do leito de partículas/Volume da fase adsorvida.

V_{coluna} → Volume da coluna.

V_{poros} → Volume dos poros.

V_{planta} → Volume do sistema cromatográfico sem a coluna.

$V_{sólido}$ → Volume da fase sólida.

V_{vazios} → Volume de vazios (coluna).

v → Velocidade da fase móvel.

$\dot{v}$ → Vazão.

v_{int} → velocidade intersticial.

v_p → velocidade de uma partícula.

w → Energia de interação entre duas moléculas adsorvidas/ peso inercial.

$X_{i,exp}$ → Variável independente (experimental).

$X_{i,calc}$ → Variável independente (calculada).

X → concentração adimensional.

x → coordenada x.

x_p → coordenada de uma partícula.

$Y_{i,exp}$ → Variável dependente (experimental).

$Y_{i,calc}$ → Variável dependente (calculada).

Y_{pred} → Valor predito para a variável dependente .

y → coordenada y.

$Z_{i,exp}$ → Vetor de variáveis genéricas (experimental).

Z_i → Vetor de variáveis genéricas (calculada).

z → coordenada z.

LETRAS GREGAS

α → Difusividade térmica.

α_{ij} → Seletividade de i em relação à j.

ρ_k → Densidade da partícula.

ε → Porosidade do leito.

ε_α → Vetor de erros paramétricos.

$\varepsilon_{Y_{exp}}$ → Vetor de erros experimentais (variável independente).

ε_p → Porosidade da Partícula.

ε_t → Porosidade total.

$\varepsilon_{A/R/LJ}$ → Energia potencial.

λ → Fator de empacotamento da coluna.

μ_t → Primeiro momento absoluto.

μ → Potencial químico/ Viscosidade de um componente genérico.

μ_{ads} → Potencial químico da fase adsorvida.

μ_{bulk} → Potencial químico da fase volumar.

μ^0 → Potencial químico (estado padrão).

$\boldsymbol{\Phi}$ → Potencial de interação.

$\boldsymbol{\pi}$ → Pressão de espalhamento.

$\boldsymbol{\rho}$ → Densidade de um componente genérico.

$\boldsymbol{\sigma}, \boldsymbol{\sigma_i}$ → Desvio padrão.

$\boldsymbol{\sigma^2}_{i,j}$ → Variância entre i e j.

$\boldsymbol{\tau}$ → Tempo adimensional/intervalo de tempo.

$\boldsymbol{\theta}$ → Cobertura superficial.

$\boldsymbol{\xi}$ → Função de partição Grande-Canônica para um tipo de sítio.

$\boldsymbol{\xi_q}, \boldsymbol{\xi_{aq}}$ → Função de partição Grande-Canônica para sítios quirais (q) e e aquirais (aq).

$\boldsymbol{\Xi}$ → Função de partição Grande-Canônica.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO.....1

1.1 Justificativa.....1

CAPÍTULO II - OBJETIVOS 7

2.2 Objetivos 7

2.2.1 Objetivos Gerais 7

2.2.2 Objetivos Específicos.....7

CAPÍTULO III - CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA DE SEPARAÇÃO DOS ENANTIÔMEROS DO PRAZIQUANTEL.....8

3.1 Uma Visão generalizada das enfermidades endêmicas 8

3.2 Esquistossomose: Descrição e Tratamentos 10

3.3 Praziquantel: Propriedades e Ação Farmacológica 11

3.4 Quiralidade e Atividade óptica 12

3.4.1 Conceitos Básicos e Classificação 12

3.4.2 Importância Biológica de Substâncias Quirais 14

3.4.3 Atividade óptica de compostos quirais.....15

3.5 Separações Cromatográficas Quirais e Processos Afins 16

3.6 Fases Estacionárias Quirais 18

CAPÍTULO IV - MODELAGEM MATEMÁTICA DE SISTEMAS CROMATOGRÀFICOS.....20

4.1 Definições e Conceitos Aplicados à Sistemas Cromatográficos 20

4.1.1 Porosidade.....20

4.1.2 Tempo Morto 21

4.1.3 Tempo de Retenção 21
4.1.4 Fator de Retenção 22
4.1.5 Seletividade 22
4.1.6 Resolução 22
4.1.7 Equação Básica da Cromatografia 23
4.1.8 Teoria dos Pratos Teóricos 23
4.1.9 Modos de Eluição da Fase Móvel 25
4.2 Princípios de Modelagem para Sistemas Cromatográficos 25
4.2.1 Transferência de Massa no Interior da Coluna 25
4.3 Balanço de Massa Diferencial 29
4.4 Modelos para Sistemas Cromatográficos 34
4.4.1 Modelo Ideal ou de Equilíbrio 34
4.4.2 Modelo de Equilíbrio Dispersivo 35
4.4.3 Modelo de Transporte 36
4.4.4 Modelo de Transporte-Dispersivo 36
4.4.5 Condições Iniciais e de Contorno 37
4.5 Avaliação da Eficiência de Separação e Parâmetros de Transferência de Massa 37
4.6 Métodos para Resolução de Modelos Cromatográficos 39
4.6.1 Soluções Analíticas de Alguns Modelos Cromatográficos 40
4.6.1.1 Modelo ideal - Solução geral de Golshan-Shirazi e Guiochon 40
4.6.1.2 Modelo Equilíbrio Dispersivo – Solução de Houghton e Haarhoff & Van der Linde 41
4.6.2 Métodos Numéricos Aplicados à Solução de Modelos Cromatográficos 43
4.6.2.1 Método de Diferenças Finitas 43
4.6.2.2 Método dos Elementos Finitos 44

CAPÍTULO V - TERMODINÂMICA DOS PROCESSOS DE ADSORÇÃO.....47

5.1 Introdução e Conceitos Físico-Químicos Básicos 47

5.1.1 Definições Básicas 47

5.1.2 Interações Intermoleculares Envolvidas no Fenômeno Adsortivo 48

5.1.3 Calor de Adsorção 53

5.2 Termodinâmica da adsorção: Abordagem Clássica 55

5.2.1 Derivação da Isoterma de Gibbs 55

5.2.2 Derivação da Isoterma de Langmuir 57

5.2.3 Descrição Termodinâmica da Adsorção em Interfaces Sólido-Líquido 58

5.3 Classificação e Descrição de Modelos de Isotermas de Adsorção 59

5.4 Modelos de Isotermas Não-Lineares em Separações Quirais 60

5.4.1 Modelo de Langmuir Modificado 63

5.4.2 Modelo de Freundlich 64

5.4.3 Modelo de Elovich 65

5.4.4 Modelo de Temkin 65

5.4.5 Modelo de Fowler-Guggenheim 66

5.4.6 Modelo de Kiselev 67

5.4.7 Modelo com Expansão em Termos Quadráticos 67

5.5 Modelos de Isotermas Baseados na Termodinâmica Estatística 68

5.5.1 Modelo para Gás Reticulado 68

5.5.2 Modelo de Isoterma Deduzido a Partir da Função de Partição Grande-Canônica 73

5.6 Métodos Experimentais para Avaliação de Modelos de Isotermas 78

5.6.1 Recomendações Técnicas Gerais para a Avaliação de Isotermas 78

5.6.2 Métodos Estáticos de Avaliação de Isotermas 79

5.6.2.1 Método em Batelada 79

5.6.2.2 Método de Sorção/Dessorção 80

5.6.2.3 Método da Circulação 81

5.6.3 Métodos Dinâmicos de Avaliação de Isotermas 82

5.6.3.1 Análise Frontal 82

5.6.3.2 Análise de Fronte Disperso 83

5.6.3.3 Método do Pico Máximo 84

5.6.3.4 Método da Perturbação 85

5.6.3.5 Método Inverso 86

CAPÍTULO VI - DESENVOLVIMENTO DE MODELO ESTATÍSTICO DE ISOTERMA PARA ADSORÇÃO DE ENANTIÔMEROS 87

6.1 Comentário Inicial sobre a Premência de um Modelo Estatístico Referente à Adsorção de Enantiômeros 87

6.2 Dedução do Modelo de Isoterma Estatístico para Adsorção de Enantiômeros - Caso Generalizado 88

6.3 Considerações para Simplificação do Modelo 97

CAPÍTULO VII - METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DE DADOS EXPERIMENTAIS E ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS 100

7.1 Metodologia para Obtenção de Dados Experimentais 100

7.1.1 Materiais e Equipamentos 100

7.1.2 Porosidade da Coluna e tempos mortos 102

7.1.3 Parâmetros de Dispersão e Eficiência de Separação da Coluna 103

7.1.4 Perfis de Concentração em Condições de Sobrecarga para Mistura Racêmica 104

7.1.5 Obtenção dos Enantiômeros Puros 105

7.1.6 Perfis de Concentração em Condições de Sobrecarga para os Enantiômeros Puros 108

7.1.7 Curvas de Calibração do Detector 108

7.1.8 Métodos Gerais para Acondicionamento, Manutenção e Regeneração da Coluna Cromatográfica 109

7.1.9 Avaliação Estatística dos Resultados Experimentais 110

7.2 Metodologias e Algoritmos Computacionais 111

7.2.1 Softwares e Equipamentos 111

7.2.2 Avaliação da Malha de Discretização da Coluna Cromatográfica 111

7.2.3 Algoritmo de estimação de parâmetros e alimentação de dados 112

7.2.4 Análise Estatística dos Resultados Computacionais 113

CAPÍTULO VIII - RESULTADOS E DISCUSSÃO 115

8.1 Determinação da Porosidade da Coluna e Tempos Mortos 115

8.1.1 Dados Experimentais Obtidos 115

8.1.2 Cálculo do Valor da Porosidade Total da Coluna (ε_t) 119

8.2 Determinação dos Parâmetros de Transferência de Massa da Coluna 121

8.2.1 Dados Experimentais para Cálculo de HETP como Função da Velocidade 121

8.2.2 Estimativa dos Parâmetros de Transferência de Massa da Fase Estacionária 123

8.3 Calibração do Detector 127

8.3.1 Dados Experimentais para Absorvância em Função de Concentração da Amostra 127

8.4 Separação Preparativa dos Enantiômeros do Praziquantel 131

8.5 Perfis de Sobrecarga Experimentais 132

8.5.1 Perfis de Concentração Experimentais - Mistura Racêmica 132

8.5.2 Refino Experimental para a Faixa de Altas Concentrações 136

8.5.3 Perfis de Concentração Experimentais - Componentes Puros 143

8.5.4 Análise dos Perfis de Concentração Experimentais para Mistura Racêmica e Componentes Puros 150

8.6 Aplicação de Modelos de Isotermas e Estimação de Parâmetros 152

8.6.1 Teste de Malha de Discretização 153

8.6.2 Estimação de Parâmetros para Enantiômeros Puros e Mistura Racêmica 155

8.6.2.1 Isoterma Tipo Langmuir - Sítio Simples 155

8.6.2.2 Isoterma tipo duplo-Langmuir 164

8.6.2.3 Isoterma Estatística - Modelo Completo 172

8.6.2.4 Isoterma Estatística - Modelo Simplificado 281

8.6.3 Análise dos Parâmetros Estimados e da Adequação dos Modelos de Isotermas 190

8.7 Análise e Discussão das Potenciais Aplicações do Modelo Estatístico Proposto 197

CAPÍTULO IX - CONSIDERAÇÕES FINAIS 201

9.1 Conclusão 201

CAPÍTULO X - PERSPECTIVAS FUTURAS 203

10.1 Perspectivas para trabalhos futuros 203

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 204

ANEXO A 216

A.1 Estruturação dos algoritmos computacionais para estimação de parâmetros 216

A.2 Organização dos dados para o arquivo ENTRADAR.DAT 219

ANEXO B 221

B.1 Dados de Tempos Mortos e Determinação de Porosidade 221

B.2 Cromatogramas - Injeção de Traçador TTBB em Altas Concentrações 223

B.3 Dados de Número de Pratos - Determinação da Curva de HETP 225

B.4 Detalhamento Estatístico dos Dados para Calibração do Detector 229

B.5 Tempos de Retenção dos Componentes para Mistura racêmica 232

B.6 Tempos de Retenção dos Componentes Puros 235

ANEXO C 239

C.1 Detalhamento Estatístico dos Resultados da Estimação de Parâmetros 239

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

O primeiro capítulo deste trabalho introduz as ideias e justificativas que permearam o desenvolvimento e a elaboração desta dissertação. A importância do tema, assim como sua utilidade prática e científica, são apresentadas face aos fatos e informações, relatados na literatura.

1.1 Justificativa

As doenças negligenciadas, muitas vezes denominadas de doenças tropicais negligenciadas, correspondem a um grupo de doenças infecciosas que afeta predominantemente as populações mais pobres e vulneráveis e contribui para a perpetuação dos ciclos de pobreza, desigualdade e exclusão social, em razão principalmente de seu impacto na saúde infantil, na redução da produtividade da população trabalhadora e na promoção do estigma social (WERNECK, HASSELMANN & GOUVÊA, 2011).

Essas doenças são assim denominadas porque os investimentos em pesquisa geralmente não revertem em desenvolvimento e ampliação de acesso a novos medicamentos, testes diagnósticos, vacinas e outras tecnologias para sua prevenção e controle. O problema é particularmente grave em relação à disponibilidade de medicamentos, já que as atividades de pesquisa e desenvolvimento das indústrias farmacêuticas são principalmente orientadas pelo lucro, e o retorno financeiro exigido dificilmente seria alcançado no caso de doenças que atingem populações marginalizadas, de baixa renda e pouca influência política, localizadas, majoritariamente, nos países em desenvolvimento. Um aspecto adicional que contribui para a manutenção dessa situação diz respeito à baixa

prioridade recebida por essas doenças no âmbito das políticas e dos serviços de saúde (WERNECK, HASSELMANN & GOUVÊA, 2011).

Dentre as doenças negligenciadas de maior interesse no cenário brasileiro, a Organização Mundial da Saúde (OMS) atualmente prioriza a esquistossomose, a dengue, a doença de Chagas, as leishmanioses, a hanseníase, a filariose linfática, a oncocercose, as helmintíases transmitidas pelo solo (p. ex.: ascaríase e ancilostomíase), o tracoma e a raiva (WERNECK, HASSELMANN & GOUVÊA, 2011).

A esquistossomose é a doença humana resultante da infecção por qualquer verme parasita do tipo *Schistossoma spp*. As várias espécies do gênero *Schistossoma* são trematódeos, membros da famíla *Schistosomatidae*, que são helmintos parasitas multicelulares dióicos e digenéticos, cujo habitat da forma adulta é o sistema vascular de vertebrados. Das espécies de *Schistossoma* conhecidas por infectarem humanos ou animais, cinco são responsáveis pela vasta maioria das infecções humanas. São esses: *Schistossoma haematobium, S. intercalatum, S. mansoni, S. japonicum* e *S. mekongi* (COOK & ZUMLA, 2008).

Os hospedeiros intermediários do *S. mansoni* são invertebrados do gênero Biomphalaria sendo as espécies mais importantes *Biomphalaria glabrata, Biomphalaria tenagophila* e a *Biomphalaria Straminea*. Para que indivíduos sejam infectados, é necessário que haja contato com corpos d'água contaminados com o molusco. Isto ocorre principalmente onde não há abastecimento de água potável e saneamento (VITORINO *et al.*, 2012).

Clinicamente a esquistossomose pode ser classificada em fase inicial e fase tardia. A fase inicial corresponde à penetração das cercárias na pele. Nessa fase, as manifestações alérgicas predominam caracterizadas por micropápulas eritematosas e pruriginosas, semelhantes à picada de inseto. A fase tardia inicia-se a partir de seis meses após a infecção, podendo surgir sinais de comprometimento de vários órgãos, com graus extremos de severidade como: hipertensão pulmonar e portal, ascite e ruptura de varizes do esôfago, que é o quadro irreversível da doença (CARDIM, 2010).

O objetivo primário do tratamento é a cura dos pacientes por meio da erradicação da infecção pelo *Schistossoma*. A cura cessa a deposição de ovos e previne danos adicionais aos órgãos; lesões já existentes, na maioria dos casos, irão regredir. O Praziquantel (PZQ) é o fármaco comumente utilizado e é efetivo contra todas as espécies de *Schistossoma* que afetam humanos. Ele é efetivo também contra outros tipos de infecções causadas por trematódeos oriundos de caramujos – clonorquíase, paragonimíase, opistorquíase – e em infecções devido à cestódeos adultos, *Taenia solium, T. saginata, Hymenolepsis nana* e *Diphyllobothrium spp* (COOK & ZUMLA, 2008). O enantiômero levógiro, (R)-(-)-PZQ, é o responsável pela atividade esquistomicida, enquanto que o enantiômero dextrógiro, (S)-(+)-PZQ, não possui atividade anti-helmíntica, porém é responsável por conferir um gosto amargo intenso às formulações que o contenham (FARIAS, 2013; MEYER *et al.*, 2009).

O Praziquantel tem sido utilizado no tratamento de verminoses em animais e crianças. A dose requerida varia com a idade, severidade da infecção, entre outros fatores e é baseada no peso corpóreo e altura dos indivíduos. Em crianças jovens, especialmente, o tamanho dos comprimidos, quando não impossibilita, dificulta a deglutição. Além disso, o gosto amargo acentuado, das fórmulas líquidas, provoca engasgos e vômitos tornando o tratamento um desafio (WOELFLE *et al.*, 2011). Alguns resultados revelam que os efeitos adversos relacionados ao tratamento utilizando a forma (R)-PZQ são praticamente os mesmos se comparados com o tratamento corrente, utilizando mistura racêmica. É importante ressaltar que embora o enantiômero dextrógiro, ((S)-PZQ), não possua atividade esquistomicida, a metabolização do mesmo resulta em produtos que apresentam alguma correlação com efeitos colaterais e toxicidade (WOELFLE *et al.*, 2011; MEYER *et al.*, 2009).

Atualmente, existem vários fármacos quirais no mercado mundial que ou já foram licenciadas na forma enantiomericamente pura (alguns antibióticos, captopril, enalapril) ou tiveram, recentemente, suas tecnologias antigas substituídas por novas sínteses assimétricas (naproxeno, terfenadina, diltiazem, etc.). Existem alguns poucos fatores envolvidos para justificar a comercialização de racematos e pode-se citar, entre estes, as diversas dificuldades existentes nas sínteses dos enantiômeros puros, muitas vezes envolvendo várias etapas, o que os torna de difícil acesso sob o ponto de vista econômico (LIMA, 1997).

No presente contexto, as pesquisas relacionadas ao praziquantel concentram-se na resolução de seus enantiômeros, buscando, em última análise, a elaboração de métodos e processos que viabilizem a produção da forma enantiomericamente ativa deste fármaco (WOELFLE *et al.*, 2011; MEYER *et al.*, 2009). A produção da forma (R)-PZQ esteve entre os temas de pesquisa do Programa Especial para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais (WHO/TDR) realizado entre 2008 e 2013 (WHO, 2015). No Brasil, o praziquantel é um dos fármacos classificados como medicamentos essenciais - satisfazem às necessidades prioritárias de cuidado da saúde pela população - para o tratamento da esquistossomose, sendo citado pela RENAME e publicado pelo Ministério da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

A obtenção de enantiômeros puros pode ser alcançada a partir de duas rotas completamente independentes. A primeira corresponde à síntese enantioseletiva, na qual apenas o enantiômero de interesse é obtido (ROSZKOWSKI *et al.*, 2006). A segunda corresponde à síntese da mistura racêmica e posterior separação entre os enantiômeros usando cristalização diasteroisomérica ou cromatografia quiral (KIM *et al.*, 1998, FRANCOTTE, 2001).

No caso do praziquantel, a síntese da mistura racêmica é um procedimento de baixo custo, quando comparada à síntese enantioseletiva (ROSZKOWSKI *et al.*, 2006). Este fato incentiva o uso deste tipo de síntese para aplicações preparativas e industriais, provocando o uso de cromatografia quiral para a preparação de (R)-PZQ enriquecido ou purificado.

A cromatografia preparativa quiral contempla métodos e técnicas necessárias à produção em larga escala de substâncias enantiomericamente puras. A cromatografia preparativa oferece um número de vantagens sobre outras técnicas, para o rápido acesso a materiais enantiomericamente puros, essas vantagens tangenciam a rapidez e a flexibilidade da técnica para desenvolver um método de resolução cromatográfica (COX, 2008).

Um ponto de importância no desenvolvimento de processos cromatográficos de larga escala é o estudo do equilíbrio de adsorção (isoterma de adsorção) entre os componentes a serem resolvidos, a fase móvel e a fase estacionária. A isoterma de adsorção relaciona a concentração de um produto na fase estacionária de um sistema cromatográfico àquela na fase móvel; graficamente ela é representada pela

concentração na fase estacionária como uma função da concentração na fase móvel (COX, 2008).

A isoterma é importante pois, conforme a carga na coluna é aumentada, a concentração na fase móvel é aumentada, isto por sua vez aumenta a concentração dos produtos na fase estacionária. A quantidade de fase estacionária presente na coluna é limitada e assim há uma determinada condição na qual a carga de amostra será tão alta que poderá sobrecarregar a coluna. Neste ponto, o que ocorre é ditado pela forma e pela curvatura da isoterma de adsorção. Caso se conheça algo sobre o comportamento da isoterma, então é possível compreender o que ocorre durante a separação preparativa e estabelecer condições de operação otimizadas. Quando as concentrações das amostras são muito baixas, por exemplo, na cromatografia analítica, a isoterma é uma simples linha reta. Quando as concentrações são altas, a isoterma é uma função de complexas interações entre as moléculas do soluto e dos sítios da fase estacionária, do soluto com a fase móvel e entre as próprias moléculas adsorvidas, apresentando um comportamento não-linear (COX, 2008; SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE, & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012).

Em face às informações apresentadas, o tema principal deste trabalho está centrado na investigação do processo de adsorção envolvendo os enantiômeros do praziquantel e uma fase sólida quiral, baseada em celulose.

Esta dissertação foi organizada em 10 capítulos ao todo. O presente capítulo foi destinado à apresentação geral do tema e das razões que motivaram o desenvolvimento deste trabalho. O **Capítulo II** foi destinado à apresentação dos objetivos gerais e específicos.

Os **Capítulos III, IV e V**, compõem a revisão bibliográfica, na qual se apresentam os fundamentos e conceitos relacionados aos tópicos relacionados às separações quirais, termodinâmica de adsorção e processos cromatográficos. Esta divisão foi implementada de modo a fornecer ao leitor uma visão abrangente, porém objetiva, dos diferentes assuntos, métodos e técnicas aplicados no presente trabalho.

O **Capítulo VI** trata da expansão de um modelo de isoterma estatístico, aplicado ao caso de separação de enantiômeros.

No **Capítulo VII** são descritos os métodos e materiais utilizados para a obtenção dos dados experimentais, assim como os procedimentos de análise dos mesmos.

O **Capítulo VIII** trata da exposição dos resultados obtidos e da interpretação dos mesmos, em face aos objetivos deste trabalho. As conclusões e perspectivas para novos estudos são apresentados nos **Capítulos IX e X** respectivamente.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi investigar o equilíbrio de adsorção dos enantiômeros do praziquantel sobre uma fase estacionária, apresentando seletividade quiral, por meio da aplicação de diferentes modelos de isotermas de adsorção.

2.1.2 Objetivos Específicos

Dentre os objetivos específicos, pode-se citar:

- Caracterizar as propriedades da fase estacionária utilizada, como a porosidade, tempos mortos e parâmetros relacionados à dispersão e transferência de massa.
- Calibrar o detector para a obtenção e conversão de dados, adequados à análise.
- Separar e purificar os enantiômeros do praziquantel.
- Gerar os perfis de concentração, em condições de sobrecarga, para as amostras compostas de mistura racêmica e componentes puros.
- Descrever dados de equilíbrio, oriundos da informação experimental, por meio do ajuste de modelos de isotermas de adsorção e técnicas de estimação de parâmetros (regressão não-linear).
- Avaliar a adequação e as limitações de cada modelo utilizado, por meio de análises estatísticas.
- Prospectar e interpretar informações relacionadas aos mecanismos físicos do processo de adsorção, propostos pelos modelos utilizados.

CAPÍTULO III

CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA DE SEPARAÇÃO DOS ENANTIÔMEROS DO PRAZIQUANTEL

3.1 Uma visão generalizada das enfermidades endêmicas

O emprego do termo “doenças negligenciadas” é relativamente recente e polêmico. Foi originalmente proposto na década de 1970, por um programa da Fundação Rockefeller como “*The Great Neglected Diseases*”, coordenado por Kenneth Warren. Em 2001 a Organização Não Governamental “Médicos Sem Fronteiras” (MSF) em seu documento “Fatal Imbalance” propôs dividir as doenças em Globais, Negligenciadas e Mais Negligenciadas (MSF 2001). Neste mesmo ano o Relatório da Comissão sobre Macroeconomia e Saúde (OMS, 2001) introduziu uma classificação similar, dividindo as doenças em Tipo I (equivalente às doenças globais dos MSF), Tipo II (Negligenciadas/MSF) e Tipo III (Mais Negligenciadas/MSF). Esta tipologia tem sido, desde então, utilizada para se referir a um conjunto de doenças causadas por agentes infecciosos e parasitários (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) que são endêmicas em populações de baixa renda vivendo, sobretudo, em países em desenvolvimento na África, Ásia e nas Américas (SOUZA, 2010).

O adjetivo “negligenciada” originalmente proposto tomou como base o fato de que por um lado elas não despertam o interesse das grandes empresas farmacêuticas multinacionais, que não veem nessas doenças compradores potenciais de novos medicamentos, e por outro o estudo dessas doenças vem sendo pouco financiado pelas agências de fomento. Para muitos a utilização do conceito de doenças emergentes e re-emergentes é mais adequada para se referir a este conjunto de doenças (SOUZA, 2010).

A Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO), em uma cartilha publicada em 2010, intitulada "Working to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases" elenca 17 principais doenças negligenciadas: dengue e outras doenças arbovirais, raiva, tracoma, úlcera de Bauru, bouba, lepra, doença de chagas, tripanossomíase africana, leishmaniose, cisticercose, dracunculiase, equinococose cística, trematodíases, filaríase limfática, oncorcercose, doenças causadas por helmintos do solo e esquistossomose. A organização estabeleceu que tais doenças compartilham algumas características em comum: afetam comunidades isoladas que residem em regiões empobrecidas de vários países; a transmissão dos agentes infecciosos, geralmente, não se expande para além dessas comunidades; provocam desfiguração e estigmatização dos indivíduos acometidos, levando à situações de morbidade e, em muitos casos, mortalidade (WHO, 2015; COOK & ZUMLA, 2008).

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) orienta seus investimentos em pesquisa pela Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Saúde (ANPPS) aprovada na II Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde, em 2004. Organizada em 24 sub-agendas, a Agenda também possui diversas linhas de pesquisa relacionadas às doenças negligenciadas, principalmente na sub-agenda de doenças transmissíveis. Por meio de dados epidemiológicos, demográficos e o impacto da doença, foram definidas, entre as doenças consideradas negligenciadas, sete prioridades de atuação que compõem o programa em doenças negligenciadas: dengue, doença de Chagas, leishmaniose, hanseníase, malária, tuberculose e esquistossomose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Ao longo dos anos, programas governamentais e ações humanitárias, tanto do setor público quanto privado, que promovem a distribuição de medicamentos para o tratamento de algumas doenças, têm sido desenvolvidos. Entretanto, o efeito sobre as endemias é insuficiente, devido ao grande número de pacientes afetados e à falta de incentivo econômico para o desenvolvimento de novos tratamentos. Além disso, a necessidade de monitoramento e tratamento dos casos identificados, divulgação e educação da população e a reforma do setor de saúde pública, necessários para que as intervenções sejam eficazes, consomem recursos adicionais. Assim, é improvável que as doenças negligenciadas sejam geridas efetivamente sem suporte internacional, para desenvolver tratamentos efetivos, subsídios para garantir o

acesso aos tratamentos para as comunidades pobres e desenvolvimento de práticas de controle de pragas e vetores (COOK & ZUMLA, 2008).

3.2 Esquistossomose: descrição e tratamentos

A esquistossomose mansônica (EM), enfermidade parasitária desencadeada pelo helminto *Schistosoma mansoni*, principalmente, permanece como uma importante doença no contexto da saúde pública brasileira (VITORINO *et al.*, 2012).

A esquistossomose encontra-se distribuída em várias regiões tropicais do globo. Nos continentes americano e africano é observada em mais de 74 países, com prevalência mundial estimada de 207 milhões de indivíduos. Na América Latina é encontrada no Brasil, Venezuela, Porto Rico, Antilhas e Suriname (COOK & ZUMLA, 2008; SOUZA, 2010).

Alguns estudos estimam que seis a sete milhões de pessoas no Brasil são portadores da doença, sendo grande parte da população acometida residente na região Nordeste do país (SILVA, 2012).

Os maiores focos ocorrem nas áreas de irrigação e em corpos d'água peridomiciliares, poluídos por fezes humanas e ricas em matéria orgânica, caracterizando um ambiente propício ao caramujo. Os focos endêmicos ocorrem em maior quantidade nas áreas rurais em comunidades de baixa renda das periferias das grandes cidades. Os moluscos eliminam as cercárias principalmente entre 11 e 17 horas, horário em que o sol está mais quente e a frequência de banhos nestes ambientes se intensificam. O período do ano de maior índice de transmissão é o verão. Em regiões de estações chuvosas e secas bem definidas, este período ocorre no início da estiagem (VITORINO *et al.*, 2012).

Os ovos do *s. mansoni* são eliminados junto com as fezes do hospedeiro infectado e, quando alcançam uma coleção hídrica, eclodem e liberam larvas ciliadas denominadas miracídios, que nadam ativamente e penetram nos moluscos. No molusco, transformam-se em esporocistos primários e secundários, dando origem às cercárias de cauda bifurcada, após 25 a 35 dias. Estas cercárias saem do corpo do molusco e ao entrarem em contato com o hospedeiro definitivo penetram através da pele, perdendo a cauda e transformando-se em esquistossômulos. Os esquistossômulos migram via circulação sanguínea e linfática, para o coração,

pulmão, fígado e veias mesentéricas, onde alcançam a maturidade em 28 a 48 dias após a penetração. Nas veias mesentéricas inferiores ocorrem a cópula, seguida de oviposição (CARDIM, 2010).

O Praziquantel (PZQ) é a droga comumente utilizada e é efetiva contra todas as espécies de Schistossoma que afetam humanos. Ele é efetivo também contra outros tipos de infecções causadas por trematódeos oriundos de caramujos e em infecções devido à cestódeos adultos. (COOK & ZUMLA, 2008).

3.3 Praziquantel: propriedades e ação farmacológica

O praziquantel apresenta-se na forma de um pó de coloração branca, massa molar de 312,4 g/mol, comercializado na forma de comprimidos. Esta substância possui um centro quiral (**Figura 3.1,** destacado em amarelo) apresentando, assim, atividade óptica. O enantiômero levógiro, (R)-(-)-PZQ, é o responsável pela atividade esquistomicida, enquanto que o enantiômero dextrógiro, (S)-(+)-PZQ, não possui atividade anti-helmíntica, porém é responsável por conferir um gosto amargo intenso às formulações líquidas que o contenham (FARIAS, 2013; MEYER *et al.*, 2009).

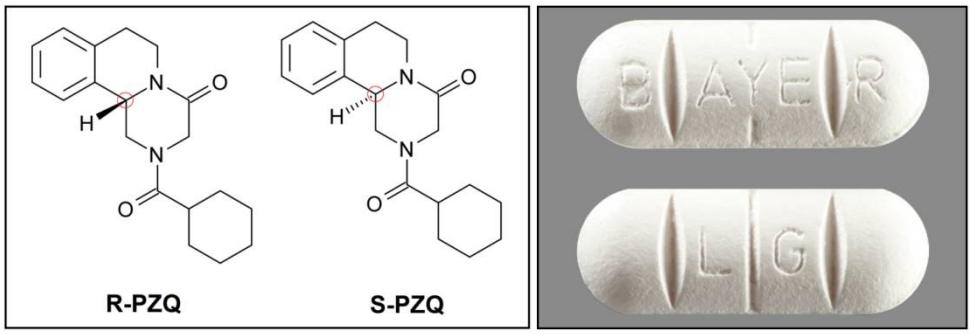


Figura 3.1: Estrutura química dos enantiômeros do praziquantel (à esquerda), com destaque para o centro quiral; Fonte: Extraído de MEYER *et. al.* (2009). Comprimidos de praziquantel racêmico, 600 mg; Fonte: GOOGLE IMAGENS (2014).

A ação anti-helmíntica do praziquantel deve-se provavelmente à inibição da bomba de Na+ e K+ dos esquistossomos, aumentando a permeabilidade da membrana do helminto a certos cátions monovalentes e divalentes, principalmente o cálcio que leva à intensificação da atividade muscular, seguida por contração e paralisia espática. Como consequência, os helmintos separam-se dos tecidos do hospedeiro e são rapidamente deslocados das veias mesentéricas para o fígado, ao passo que os helmintos intestinais são expelidos (SILVA *et al.*, 2012).

O Praziquantel é um medicamento de alta dosagem e possui baixa solubilidade. A dose requerida varia com a idade, severidade da infecção, entre outros fatores e é baseada no peso corpóreo e altura dos indivíduos. Entretanto, o tamanho do comprimido dificulta a deglutição, principalmente em crianças jovens, além disso o excessivo amargor da formulação líquida provoca engasgos e vômitos dificultando o tratamento (WOELFLE *et al.*, 2011).

Dentre os poucos estudos publicados, verifica-se que os efeitos adversos relacionados ao tratamento utilizando o enantiômero ativo (R-PZQ) são praticamente os mesmos se comparados com o tratamento utilizando mistura racêmica. Além disso, a metabolização do enantiômero inativo (S-PZQ) resulta em produtos que apresentam alguma correlação com efeitos colaterais e toxicidade (WOELFLE *et al.*, 2011; MEYER *et al.*, 2009).

3.4 Quiralidade e atividade óptica

Neste ponto, cabe uma revisão conceitual a respeito da única propriedade que permite discriminar substâncias quirais, presente na molécula do praziquantel e tantos outros compostos: a atividade óptica.

3.4.1 Conceitos básicos e classificação

O primeiro conceito revisado é a quiralidade de uma substância. Qualquer objeto quiral possui a propriedade da "lateralidade". Em geral, um objeto quiral não pode ser sobreposto com a sua imagem especular, de forma que todas as partes do mesmo coincidam. Para o caso de substâncias químicas, uma molécula é considerada quiral quando sua estrutura não é superponível com a sua imagem especular. Moléculas quirais apresentam a chamada isomeria óptica (SOLOMONS & FRYHLE, 2005).

O que caracteriza compostos quirais é a presença de um ponto assimétrico, ou seja, um carbono ligado a quatro grupamentos diferentes (**Figura 3.2**). Outro termo bastante recorrente refere-se ao centro quiral, o qual identifica o átomo que possui a assimetria. Em grande parte das moléculas conhecidas o centro quiral é o próprio carbono assimétrico, embora átomos de nitrogênio e fósforo também possam compor centros quirais, bastando para isso estarem ligados a quatro grupos diferentes (BRUICE, 2013).

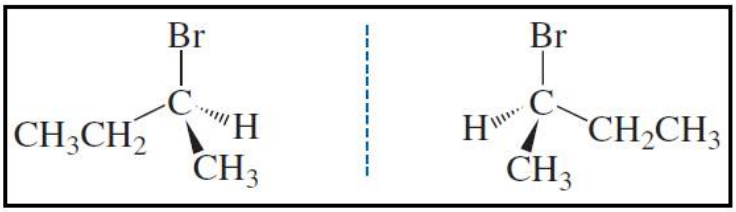


Figura 3.2: Exemplo de uma substância quiral: 2-bromobutano. O carbono 2 é identificado como ocentro assimétrico por estar ligado à quatro grupamentos distintos. Fonte: Extraído de BRUICE (2013).

Moléculas com apenas um único carbono assimétrico produzem dois estereoisômeros, conhecidos como enantiômeros. A presença de mais de um carbono assimétrico produz no máximo 2^n estereoisômeros, sendo n o número de carbonos assimétricos. Estereoisômeros com mais de um carbono assimétrico, que não são enantiômeros são conhecidos como diasteroisômeros (**Figura 3.3**) (MORRISON & BOYD, 2010).

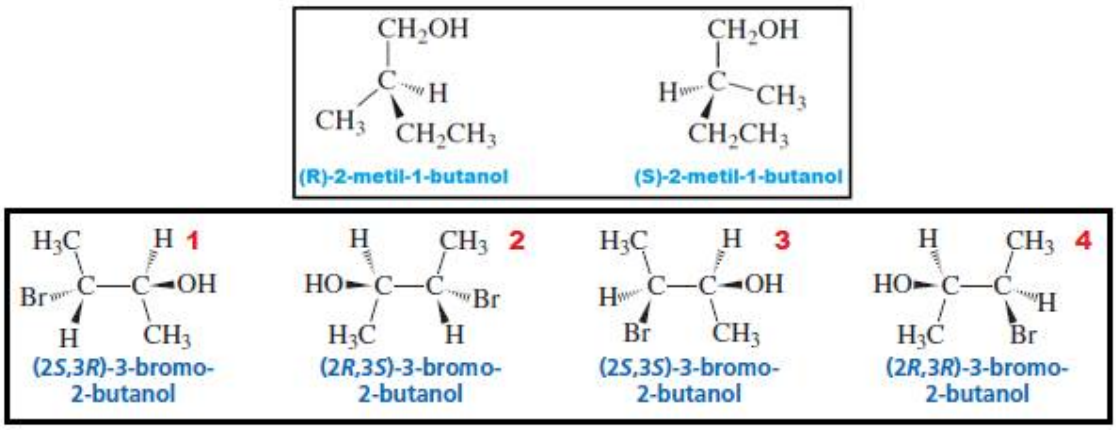


Figura 3.3: Estruturas químicas dos enantiômeros do 2-metil-1-butanol (acima). Estereoisômeros do 3-bromo-2butanol (abaixo). Os pares 1-3, 1-4, 2-3 e 2-4 são diasteroisômeros. Fonte: Extraído de BRUICE (2013).

A nomenclatura mais utilizada para identificar os estereoisômeros com um ou mais carbonos assimétricos baseia-se na classificação dos grupos ligados aos carbonos assimétricos presentes na molécula, segundo regras de prioridade estabelecidas por CAHN, INGOLD & PRELOG. Tal sistema de nomenclatura identifica as moléculas, segundo a configuração R/S de seus carbonos assimétricos.

3.4.2 Importância biológica de substâncias quirais

A quiralidade tem extrema importância para sistemas biológicos. A observação experimental tem mostrado que grande parte dos mecanismos moleculares, os quais permitem o adequado funcionamento das células e tecidos em vários organismos, envolvem a interação com substâncias quirais e que tais interações são bastante distintas a depender do isômero considerado (BRUICE, 2013; SOLOMONS & FRYHLE, 2005).

Os seres vivos são formados, em grande parte, por substâncias orgânicas quirais de baixa massa molecular, e por macromoléculas constituídas de monômeros quirais. Em adição à quiralidade dos monômeros e como consequência dela, as macromoléculas apresentam uma quiralidade resultante do arranjo tridimensional em suas estruturas terciárias. Assim, por meio de sua estrutura molecular quiral, seres vivos são capazes de diferenciar pares de enantiômeros (BARREIRO, FERREIRA & COSTA, 1997).

Alguns fármacos são conhecidos por apresentarem centros quirais em sua estrutura. O mecanismo de ação de muito fármacos envolve a ligação dos isômeros ópticos a alguma estrutura biológica (receptor), geralmente quiral, e a formação de um complexo diasteroisomérico, o qual desencadeia os eventos que constituem a atividade farmacológica. A depender do isômero que interage com o receptor são esperados os seguintes efeitos: a) todos os isômeros possuem a mesma atividade, porém com intensidades distintas; b) os isômeros possuem atividades antagônicas; c) somente um dos isômeros possui atividade biológica (BARREIRO, FERREIRA & COSTA, 1997).

Como exemplo, pode-se citar o Difosfato de Cloroquina, utilizado para o tratamento da malária. É conhecido que o enantiômero dextrógiro (+) possui maior atividade que a forma levógira (-), o qual apresenta uma ação atenuada. Por outro lado, o D-Etambutol é a forma ativa que apresenta forte atividade contra a tuberculose, entretanto o isômero L-Etambutol é responsável por infringir danos ao nervo ótico humano, levando à cegueira irreversível (FU *et al.*, 1986; LIM, 2004).

No caso do praziquantel, o enantiômero (R)-(-)-praziquantel possui a atividade biológica esquistomicida, enquanto que o enantiômero (S)-(+)-praziquantel não

possui qualquer atividade farmacológica conhecida, apresentando, porém, um sabor fortemente amargo.

As diferenças entre as atividades biológicas e os efeitos colaterias dos enantiômeros de substâncias farmacêuticas impuseram a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias para sua efetiva separação e purificação (ZAWIRSKA-WOJTASIAK, 2006).

3.4.3 Atividade óptica de compostos quirais

Isômeros ópticos, especificamente enantiômeros, compartilham as mesmas propriedades físico-químicas, como densidade, índice de refração, ponto de ebulição, ponto de fusão, solubilidade, etc. Entretanto, a única propriedade física que é diferente para cada enantiômero, e permite distinguí-los, é a atividade óptica resultante da interação com luz plano-polarizada (ZAWIRSKA-WOJTASIAK, 2006; BRUICE, 2013).

A luz plano-polarizada é produzida por meio da passagem de luz comum através de um polarizador, constituído de lentes polarizadas ou um prisma de Nicol (MORRISON & BOYD, 2010). A luz plano-polarizada propaga-se através de um único plano, em uma dada direção.

Enantiômeros podem ser reconhecidos e diferenciados por meio da medida do desvio que provocam no plano de propagação da luz polarizada. Cada enantiômero produz um mesmo ângulo de desvio da luz polarizada, porém em sentidos diferentes (positivo ou negativo).

O desvio da luz é medido, geralmente utilizando-se um polarímetro e é uma função da concentração do composto quiral (c), da temperatura (T), do comprimento de onda da luz utilizada (λ), da dimensão da célula (l) que contém a amostra e da medida da rotação registrada pelo polarímetro (α). Todas essas variáveis podem ser relacionadas pela **Eq. 3.1**, que define a rotação específica ($[\alpha]_{\lambda}^{T}$) de uma dada molécula quiral.

$$[\alpha]_{\lambda}^{T} = \frac{\alpha}{l.c} \qquad \textbf{(3.1)}$$

Na equação anterior é apresentada uma forma de medição da birrefrigência circular, que nada mais é que a rotação do plano da luz polarizada, criada por soluções de substâncias opticamente ativas.

Para a molécula exemplificada na **Figura 3.3**, 2-metil-1-butanol, o enantiômero R possui uma rotação específica de +5,75° enquanto que o enantiômero S possui uma -5,75°, à 20 ºC e 589 nm (BRUICE, 2013).

3.5 Separações cromatográficas quirais e processos afins

O reconhecimento das diferenças na atividade farmacológica de enantiômeros criou a necessidade de obtê-los de forma isolada. Atualmente, este problema não apenas afeta a indústria farmacêutica, mas também a indústria de agroquímicos e de aditivos alimentares, cujo interesse tem se desenvolvido nos últimos anos (SUBRAMANIAN, 2001).

Duas rotas independentes podem ser tomadas para a separação de enantiômeros. A primeira sendo a síntese enantioseletiva, por meio da qual obtém-se, unicamente, o enantiômero de interesse (ROSZKOWSKI *et al.*, 2006). A segunda rota corresponde a síntese da mistura racêmica e posterior separação entre os enantiômeros utilizando-se a cristalização diasteroisomérica ou a cromatografia quiral (KIM *et al.*, 1998, FRANCOTTE, 2001).

O desenvolvimento de rotas enantioseletivas tem a principal desvantagem de serem altamente onerosas em relação a custo e tempo. Além disso, frequentemente o excesso enantiomérico, obtido de um procedimento enantioseletivo de síntese, não é suficiente para cumprir os requerimentos das autoridades regulatórias. Neste caso, um passo de enriquecimento deve ser adicionado ao processo enantioseletivo (SUBRAMANIAN, 2001).

A síntese do praziquantel na forma de mistura racêmica é um procedimento de baixo custo, quando comparada à síntese enantioseletiva (ROSZKOWSKI *et al.*, 2006). Este fato é um incentivo à utilização daquele tipo de síntese para aplicações preparativas e industriais, juntamente com processos de separação para a preparação do enantiômero ativo do PZQ enriquecido ou purificado.

A cristalização é um processo comumente utilizado para separação de analitos de impurezas e subprodutos, porém este procedimento pode também ser utilizado para separação de enantiômeros a partir de misturas contendo excesso de um dos isômeros. De fato, a cristalização foi o primeiro método desenvolvido para resolução de enantiômeros, entretanto, em muitos casos, necessita-se de cristais puros de um dos componentes para iniciar o processo (SUBRAMANIAN, 2001).

A cristalização diasteroisomérica é uma outra técnica de resolução e é baseada na interação da mistura racêmica com um isômero de algum material quiral resultando na formação de dois derivados diasteroisoméricos (complexos ou sais). Como os compostos formados são diasteroisômeros, os mesmos possuem diferentes propriedades físicas e podem ser separados por métodos físicos, como cristalização fracionada (ANANDAMANOHARAN, 2010).

A principal vantagem da cromatografia quiral em relação à cristalização diasteroisomérica é que não há a etapa de separação do complexo diasteroisomérico, visto que este complexo é formado entre a espécie a ser separada e o seletor quiral transitoriamente no interior da coluna. Esta é a razão para o uso de cromatografia quiral ser muito mais frequente para a separação entre enantiômeros (REKOSKE, 2001).

Os processos cromatográficos são preferidos para separações em larga escala. A facilidade para o desenvolvimento de métodos, o curto tempo associado ao processo e a disponibilidade de diversos detectores, bombas e outros módulos, representam boas vantagens e compensam os clássicos custos atribuídos à instalação e operação desses sistemas (SUBRAMANIAN, 2001).

A fase estacionária utilizada deve fornecer um ambiente quiral adequado para a separação dos enantiômeros. Tal ambiente é fornecido pela presença de seletores quirais ou outras estruturas capazes de reconhecer enantiômeros diferencialmente (ex. certos tipos de proteínas) (SUBRAMANIAN, 2001; COX, 2007).

Processos de separação cromatográfica quiral semi-preparativos e preparativos podem ser concebidos usando sistemas com uma coluna e esquemas de injeções, coletas de frações e reciclos periódicos, operando manualmente ou de forma automatizada, de forma semi-contínua (GRILL *et al.*, 1998, SILVA JR *et al.*, 2009);

ou por sistemas com múltiplas colunas e esquemas de contínuas injeções (alimentação), coletas de frações e reciclos (NICOUD *et al.*, 1993, BARRETO JR *et al.*, 2008).

3.6 Fases estacionárias quirais

O desenvolvimento de fases estacionárias quirais para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com alta capacidade de carga e seletividade têm ganhado destaque no meio acadêmico e industrial, de tal forma que diferentes fases estacionárias quirais encontram-se comercialmente disponíveis. A maioria destas fases estacionárias são preparadas utilizando-se moléculas quirais de baixa massa molar ou polímeros com capacidade de reconhecimento quiral (IKAI & OKAMOTO, 2010).

Quase todos os polissacarídeos são de natureza quiral e opticamente ativos por causa de suas estruturas assimétricas. A maioria dos polímeros apresentam uma configuração específica ou estrutura de ordem superior decorrentes de sua quiralidade que é essencial para a resolução quiral das misturas racêmicas (SILVA JUNIOR, 2010). Diversas moléculas, tais como aminoácidos, ciclodextrinas, alcaloides, éteres e compostos aromáticos tem sido utilizadas como seletores quirais para a efetiva separação (IKAI & OKAMOTO, 2010).

Dentre os vários tipos de fases sólidas, a classe dos fenilcarbamatos de polissacarídeos se destaca. Principalmente, devido à possibilidade de alteração da seletividade quiral por meio da alteração dos grupos laterias ligados ao anel aromático. A celulose tris 3,5-dimetil fenilcarbamato é uma das mais eficientes fase quirais já produzidas, sendo utilizável em condições de separação em fase normal ou reversa. Na **Figura 3.4** são apresentadas duas estruturas de fenilcarbamatos de celulose.

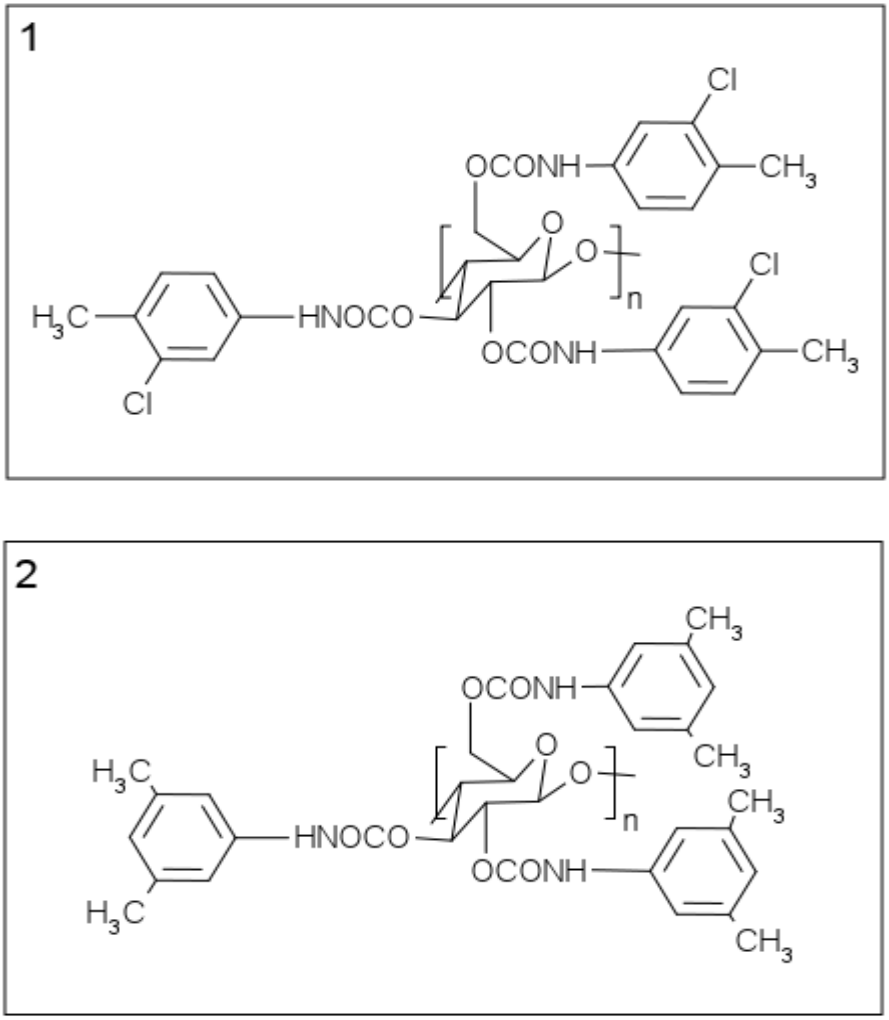


Figura 3.4: Estruturas químicas da Celulose tris 3-Cloro-4-metil fenilcarbamato (1) e Celulose tris 3,5-dimetil fenilcarbamato (2). Fonte: Adaptado de PHENOMENEX (2015a).

Alguns estudos mostram que para os fenilcarbamatos, a capacidade de reconhecimento quiral parece estar relacionada aos substituintes do grupo fenil. Grupos doadores de elétrons presentes nas posições meta e para fornecem maior seletividade quiral segundo a observação experimental (CHANKVETADZE, YASHIMA & OKAMOTO, 1994; IKAI & OKAMOTO, 2010).

CAPÍTULO IV

MODELAGEM MATEMÁTICA DE SISTEMAS CROMATOGRÁFICOS

Neste capítulo são revisados os conceitos fundamentais dos processos de separação cromatográfica. A modelagem matemática do processo é apresentada, tal como as simplificações e considerações que suscitam a classificação e denominação dos modelos em diferentes grupos, segundo suas características e restrições. São descritos os principais parâmetros relacionados ao transporte de massa e à eficiência de separação na coluna cromatográfica. Por fim, é desenvolvida uma breve revisão dos métodos de solução, analíticos e numéricos, de alguns dos modelos cromatográficos de maior aplicação. Esta revisão foi baseada, principalmente, nas literaturas de SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE, SEIDEL-MORGENSTERN (2012), GUIOCHON *et al.* (2006) e SUZUKI (1990).

4.1 Definições e conceitos aplicados à sistemas cromatográficos

A revisão de determinados conceitos relacionados à separação cromatográfica se faz necessária para a compreensão dos termos utilizados ao longo deste trabalho. A seguir, são descritas as principais grandezas utilizadas durante um experimento de separação cromatográfica.

4.1.1 Porosidade

A porosidade é a quantidade que se refere à fração de vazios presentes em um determinado material sólido. No caso de uma fase estacionária, que preenche uma coluna cromatográfica, é comum a menção de três tipos de porosidade: porosidade das partículas, porosidade do leito e porosidade total.

A porosidade das partículas (ε_p) é calculada como a razão entre o volume de vazios no interior de uma partícula sobre o volume ocupado pela partícula inteira.

A porosidade do leito (ε) se refere ao volume de vazios existentes no espaço interparticular, ou seja, ao volume existente entre as partículas.

A porosidade total (ε_t) é computada a partir da porosidade das partículas e do leito, por meio da **Eq. 4.1**.

$$\varepsilon_t = \varepsilon + (1 - \varepsilon)\varepsilon_p \quad \textbf{(4.1)}$$

4.1.2 Tempo morto

O tempo morto é definido como o tempo necessário para o deslocamento de uma substância não retida (incapaz de adsorver) entre o ponto de injeção e o ponto de detecção. Em condições ideais, pode ser definido pela **Eq. 4.2**, em que L é o comprimento da coluna, v é a velocidade da fase móvel e ε_t a porosidade total da fase estacionária.

$$t_0 = \frac{L}{v\varepsilon_t} \quad \textbf{(4.2)}$$

4.1.3 Tempo de retenção

O tempo de retenção (t_r) caracteriza-se como o tempo necessário para um dado analito deslocar-se, do ponto de alimentação ao ponto de detecção, considerando que seu movimento é retardado pelas interações com a fase sólida (adsorção). Assim, o tempo de retenção está diretamente relacionado à força de interação com a fase estacionária.

Para picos simétricos, o tempo de retenção corresponde ao valor do tempo em que a intensidade do sinal é máxima. Para picos assimétricos o valor exato do tempo de retenção é calculado por meio do *primeiro momento absoluto* (μ_t) (**Eq. 4.3**).

$$\mu_t = \frac{\int_0^\infty t.c(t).dt}{\int_0^\infty c(t).dt} \quad \textbf{(4.3)}$$

O tempo de retenção é uma grandeza de uso comum em cromatografia, no entanto, outros tipos de tempos de retenção podem ser usados, como, por exemplo, o tempo para abandono/retorno da linha de base, o tempo de retenção da frente de massa e o tempo de retenção da frente de dessorção.

4.1.4 Fator de retenção

O fator de retenção, também conhecido como fator de capacidade, é uma forma de normalizar o tempo de retenção, uma vez que o mesmo é uma função das interações entre analito - fase móvel - fase estacionária, geometria e porosidade das partículas e da coluna. A expressão para o cálculo do fator de retenção é mostrada na **Eq. 4.4**.

$$k_i = \frac{(t_r - t_0)}{t_0} \quad \textbf{(4.4)}$$

Essa grandeza é fortemente influenciada pela natureza do material de empacotamento, porém pode ser manipulada alterando-se a força de eluição do solvente. Quanto maior o fator de retenção, maior será o tempo de análise, entretanto, melhora-se a separação entre os componentes. Recomenda-se que um fator de retenção entre 2,0 e 5,0 representam um balanço adequado entre resolução e tempo de análise, porém um valor na faixa de 1,0 a 10,0 é aceitável (WESTON & BROWN, 1997).

4.1.5 Seletividade

A seletividade ou fator de separação é uma medida da diferença dos tempos de retenção entre dois picos e descreve o quão bem o sistema pode separar os dois componentes em questão. A seletividade é calculada por meio da **Eq. 4.5**. A seletividade pode ser aumentada alterando-se a composição e, assim, a força de eluição da fase móvel (WESTON & BROWN, 1997).

$$\alpha_{ij} = \frac{t_{r,i} - t_0}{t_{r,j} - t_0} = \frac{k_i}{k_j} \quad \textbf{(4.5)}$$

Na **Eq. 4.5**, os índices *i e j* identificam o componente mais retido e menos retido, respectivamente.

4.1.6 Resolução

A resolução é uma grandeza utilizada para descrever o grau de separação entre picos vizinhos. A resolução é dependente da seletividade (α_{ij}), do fator de retenção (k_i) e do número de pratos teóricos (*N*), definido na **Seção 4.1.8**.

A **Eq. 4.6** apresenta a fórmula comumente utilizada para o cômputo da resolução. Esta equação é válida na ocasião em que os picos comparados tenham a mesma largura da base.

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4}\frac{\alpha_{ij}-1}{\alpha_{ij}}\left(\frac{k_i}{1+k_i}\right) \quad \textbf{(4.6)}$$

A resolução pode ser melhorada de duas formas: aumentando-se o número de pratos ou aumentando-se a seletividade. O aumento do grau de compactação do leito, redução do tamanho das partículas ou a otimização da vazão de eluente são artifícios para proporcionar o aumento do número de pratos teóricos. A alteração da composição da fase móvel (força de eluição da mistura de solventes) e a otimização da temperatura da coluna são os meios mais práticos para melhorar a seletividade.

4.1.7 Equação básica da cromatografia

A **Eq. 4.7** é conhecida como a equação básica da cromatografia, pois é capaz de predizer o tempo de retenção de um dado componente, dado de que se conheça o tempo morto (t_0), a porosidade total da coluna (ε_t) e a inclinação da isoterma de adsorção, referente ao componente de interesse.

$$t_r = t_0\left(1 + \frac{1-\varepsilon_t}{\varepsilon_t}\right)H_i \quad \textbf{(4.7)}$$

Em condições ideais, isto é, baixas concentrações de analito (diluição infinita) a isoterma de adsorção é uma reta e sua inclinação é a conhecida constante de Henry (H_i). Assim, o tempo de retenção não se altera com a concentração, quando se trabalha na região linear da isoterma.

4.1.8 Teoria dos pratos teóricos

Uma das formas utilizadas para justificar a separação de componentes numa coluna cromatográfica é a teoria dos pratos teóricos.

Pensa-se na coluna cromatográfica como uma sucessão de finos "pratos", semelhante à uma coluna de destilação, os quais permitem o estabelecimento quase instantâneo do equilíbrio termodinâmico entre a fase adsorvida e a fase fluida. O soluto se move ao longo da coluna, transferindo-se progressivamente de prato em

prato. Quanto maior o número de pratos, mais eficiente é a coluna e melhor é a separação entre os componentes.

A altura equivalente de um prato teórico ($HETP$) é uma grandeza comumente utilizada para a medida da eficiência de separação e é diretamente relacionada ao número de pratos teóricos (N), conforme demonstrado na **Eq. 4.8**. Na equação a seguir, L é o comprimento da coluna.

$$HETP = \frac{L}{N} \tag{4.8}$$

Quanto menor o valor de $HETP$, um número maior de pratos teóricos podem ser "empacotados" e assim, mais eficiente é a separação.

O número de pratos teóricos é calculado com base no tempo de retenção e no desvio-padrão do pico do componente (**Eq. 4.9**).

$$N = \left(\frac{t_r}{\sigma}\right)^2 \tag{4.9}$$

O valor de σ, para um pico gaussiano, pode ser calculado utilizando-se a largura (w) medida à diversas alturas da linha de base, conforme mostrado na **Eq. 4.10**. A **Figura 4.1** ilustra algumas das diferentes formas de cálculo do número de pratos.

$$\sigma = \frac{w_{50\%}}{2{,}345} = \frac{w_{tangente}}{4} = \frac{w_{4{,}4\%}}{5} \tag{4.10}$$

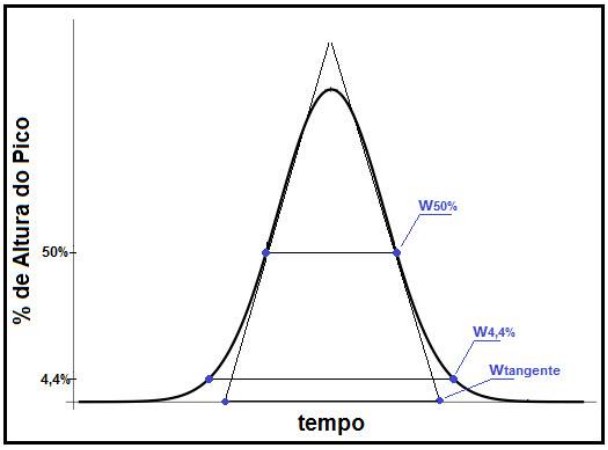


Figura 4.1: Diferentes formas de cálculo do desvio-padrão relacionado ao pico de um dado componente. Diferentes larguras são medidas à determinadas alturas e divididas por um fator numérico, necessário para a estimativa do desvio-padrão. Fonte: Elaborado pelo autor, baseado em FANALI *et al.* (2013).

4.1.9 Modos de eluição da fase móvel

A fase móvel pode ser fornecida mantendo-se sua composição constante ou alterando-se gradativamente a fração de cada eluente, no caso de uma mistura. Isso levou a classificação de dois modos de eluição: Isocrático e gradiente.

A eluição isocrática consiste em, simplesmente, alimentar o sistema cromatográfico com um único solvente ou uma mistura de solventes, cuja composição é mantida constante ao longo de toda a corrida. Esse é um modo de operação preferido em escala preparativa, uma vez que é desejável a reciclagem do solvente utilizado, o que não é possível para uma operação utilizando-se gradiente.

A eluição por meio de gradiente consiste na alteração da composição do eluente ao longo da separação. Esse modo de eluição permite a resolução dos componentes fracamente adsorvidos e garante um tempo de análise não muito extenso, para a adequada separação dos componentes mais fortemente adsorvidos. Uma variação da eluição por gradiente consiste na eluição por degraus ou passos. Neste modo, a alteração da composição da fase móvel ocorre de forma súbita e não contínua.

4.2 Princípios de modelagem para sistemas cromatográficos

Os fenômenos relacionados à transferência de massa em uma coluna cromatográfica são apresentados a seguir. Dentre os tópicos discutidos estão, a difusão no seio do fluido, a difusão turbilhonar, a difusão sobre a superfície e a cinética de adsorção. Tais assuntos norteiam o desenvolvimento de diversos tipos de modelos, aplicados às separações cromatográficas em larga escala.

4.2.1 Transferência de massa no interior da coluna

Os sistemas cromatográficos atuais, em sua maioria, utilizam adsorventes porosos, firmemente empacotados no interior de colunas cromatográficas. Os processos de transporte de massa dos componentes de interesse estão relacionados à eficiência de separação, aos efeitos observados de dispersão axial e alargamento dos picos.

A difusão de um componente através de um meio qualquer é um fenômeno resultante da combinação dos movimentos moleculares do referido componente. O fluxo difusivo (J) de um dado componente, na ausência de campos de força externos e internos, pode ser representada pela **Eq. 4.11**.

$$J = -\frac{C}{f}\frac{d\mu}{dz} \quad \textbf{(4.11)}$$

Na equação anterior, C representa a concentração molar do componente de interesse e f é o fator de fricção ou coeficiente de arraste, representa a resistência ao movimento que o componente de interesse possui num dado meio e μ é o potencial químico.

Utilizando-se a definição de potencial químico (**Eq. 4.12**), a relação descrita na **Eq. 4.13** e a consideração de que a atividade (a) pode ser aproximada pela concentração C, obtém-se:

$$\mu = \mu^0 + RT \ln a \quad \textbf{(4.12)}$$

$$\frac{d \ln C}{dC} = \frac{1}{C} \quad , \; ln\, a \approx \ln c \quad \textbf{(4.13)}$$

$$J = -\frac{RT}{f} c \frac{d \ln C}{dC}\frac{dC}{dz} \quad \textbf{(4.14)}$$

$$J = -\frac{RT}{f}\frac{dC}{dz} = -D_{A,B}\frac{dC}{dz} \quad \textbf{(4.15)}$$

A constante $D_{A,B}$ é a difusividade do componente *A* no componente *B*. A expressão anterior representa a forma básica do fluxo molar de um dado componente. Entretanto, medidas experimentais relacionando diretamente os termos dessa equação são de difícil obtenção. Assim, a segunda lei de Fick para a difusão é mais utilizada (**Eq. 4.16**).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_{A,B}\frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \quad \textbf{(4.16)}$$

Para o caso de sistemas multicomponentes, o fluxo de um componente depende do gradiente de concentração de todos os componentes presentes, a expressão anterior se expande para uma matriz contemplando os coeficientes de difusão de todas as espécies presentes. As equações são reescritas na forma apresentada a seguir.

$$J_i = -\sum_{j=1}^{n} D_{i,j}\frac{dC_j}{dz} \quad \textbf{(4.17)}$$

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \sum_{j=1}^{n} D_{i,j} \frac{\partial^2 C_j}{\partial z^2} \quad \textbf{(4.18)}$$

Nas aplicações de cromatografia preparativa, a contribuição da difusão nos efeitos de dispersão dos picos é geralmente pequena se comparada aos efeitos de origem termodinâmica. Em muitos casos, as soluções de analitos utilizadas são de baixa concentração e assim, o efeito da mesma sobre os coeficientes de difusão são reduzidos.

Entretanto, têm-se observado que o acoplamento dos coeficientes de difusão podem contribuir para explicar algumas das diferenças existentes entre os perfis preditos e experimentais.

O coeficiente de difusão de uma série de componentes, em líquidos e gases, pode ser encontrados na literatura científica e em livros-texto como o de GREEN & PERRY (2007). Diversas correlações para a estimativa dos valores de $D_{A,B}$ podem ser encontradas nos trabalhos de GUIOCHON *et al.* (2006), CUSSLER (2009) e GREEN & PERRY (2007).

A difusão turbilhonar (*eddy diffusion*, em língua inglesa) é um fenômeno causado pelas diferenças nas velocidades de escoamento da fase móvel, ao deslocar-se através dos vazios entre as partículas da fase estacionária. Assim a difusão turbilhonar caracteriza-se pelas mudanças nas linhas de escoamento do fluido e dos componentes de interesse. Estas alterações no percurso e nas velocidades de escoamento são uma função da estrutura do leito de partículas, isto é, da porosidade do leito, da forma e diâmetro das partículas adsorventes. A difusão turbilhonar, juntamente com a difusão na fase móvel e na superfície das partículas, contribuem para a dispersão dos picos e compõem a resistência à transferência de massa na coluna cromatográfica (GIDDINGS, 1965).

Os solutos alimentados na coluna cromatográfica se difundem no seio da fase fluida, adentrando o filme líquido estagnado na superfície das partículas para então penetrar os poros da fase sólida.

A fase móvel, ao escoar pela coluna cromatográfica, forma um filme líquido estagnado na superfície das partículas sólidas. O transporte de massa através desse filme é exclusivamente difusivo. A espessura dessa camada de fluido e a

difusividade dos solutos dependem das condições hidrodinâmicas e da velocidade da fase móvel.

A taxa de transferência de massa no filme pode ser descrita pelo coeficiente de transferência de massa efetivo e pela força motriz linear apresentada na **Eq. 4.19**.

$$\frac{\partial \bar{q}}{\partial t} = k_{eff} a\left(C - C_{eq}\right) = \frac{6k_{eff}}{d_p}\left(C - C_{eq}\right) \quad \textbf{(4.19)}$$

Na equação anterior, $\bar{q}$ é a concentração média do soluto adsorvido, k_{eff} é a constante de transferência de massa efetiva, C é a concentração na fase móvel, C_{eq} é a concentração do soluto na fase móvel em equilíbrio com a fase estacionária e d_p é o diâmetro da partícula, considerada esférica.

No interior dos poros, a depender de suas dimensões, três diferentes mecanismos de difusão podem ocorrer: difusão molecular, difusão de Knudsen e difusão sobre a superfície sólida.

Para poros suficientemente largos, a difusão molecular é significativa. As colisões molécula-molécula contribuem predominantemente sobre as colisões envolvendo as superfícies dos poros. Para poros diminutos, microporos e mesoporos, as colisões molécula-superfície são dominantes e assim, a difusão de Knudsen se torna significativa.

A difusão sobre a superfície sólida relaciona-se ao movimento dos componentes ao longo da superfície disponível no interior dos poros e se torna predominante para o caso de microporos ou solutos fortemente adsorvidos.

A configuração e a estrutura dos sítios de adsorção definem se um dado soluto, pode ou não, se deslocar sobre a superfície da fase estacionária. SUZUKI (1990) demonstrou que nos casos em que a difusão superficial é relevante, o coeficiente de difusão através da partícula tem a forma apresentada na **Eq. 4.20**.

$$D_e = D_p + \rho_k H D_s \quad \textbf{(4.20)}$$

Na **Eq. 4.20**, D_e é a difusividade combinada no interior da partícula, D_p é a difusividade nos poros, ρ_k é densidade da partícula, H é a constante de Henry (relativa a adsorção) e D_s é a difusividade na superfície do sólido. A difusividade

superficial é a constante de proporcionalidade entre o fluxo do componente na superfície e o gradiente de potencial químico ao longo da mesma.

Experimentos tem confirmado que a difusividade superficial está relacionada com a difusividade no seio do fluido pela relação descrita na **Eq. 4.21**.

$$D_S = D_{A,B} e^{-\frac{E_S}{kT}} \quad \textbf{(4.21)}$$

Na equação anterior, a energia E_s representa a energia de ativação necessária para o deslocamento das moléculas, ao migrarem no interior do campo potencial de adsorção. Assim, a difusão superficial é semelhante à difusão no seio do fluido, inclusive fenomenologicamente, com a diferença de que aquela procede no interior do campo de interações adsortivas.

A cinética do processo de sorção-dessorção é o fator que menos afeta a transferência de massa dos solutos. As fases estacionárias comumente utilizadas em cromatografia líquida, em geral, exibem interações relativamente fracas (fisiosorção) com os solutos e, dessa forma, a sorção-dessorção de componentes é normalmente rápida.

4.3 Balanço de massa diferencial

O balanço de massa de uma coluna cromatográfica é composto pelas equações de balanço da fase fluida e da fase adsorvente. Por conseguinte, o balanço de massa do adsorvente deve considerar a transferência de massa entre a fase fluida, no interior dos poros, e a superfície sólida.

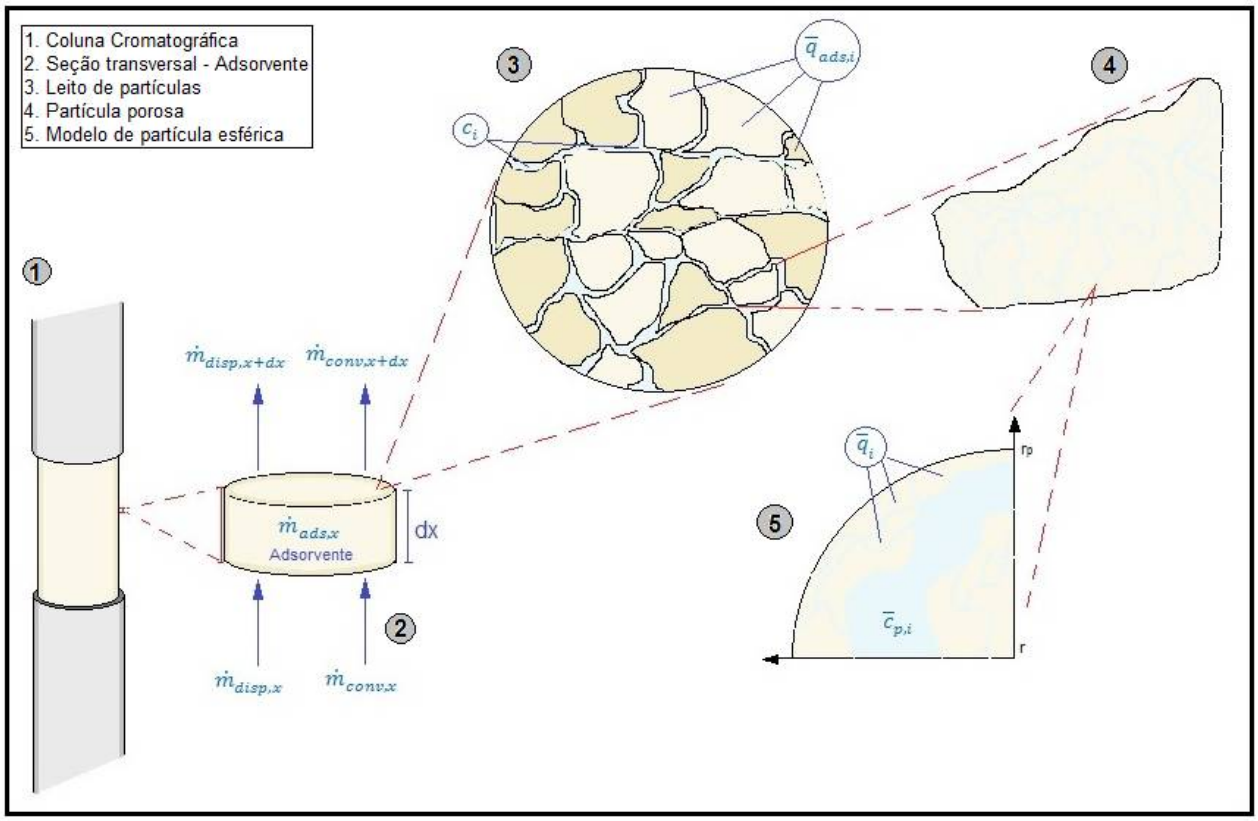


Figura 4.2: Modelo conceitual para a aplicação do balanço de massa diferencial. Fonte: Elaborado pelo autor, baseado em SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE, SEIDEL-MORGENSTERN (2012).

A **Figura 4.2** ilustra o modelo conceitual sobre o qual é aplicado o balanço de massa. Dessa forma, partindo-se do balanço de massa aplicado à um volume diferencial $dV_{coluna} = A_{coluna}.dx$, tem-se que:

$$(Acúmulo) = (Entrada\ de\ massa/advecção) - (Saída\ de\ massa/advecção) + (Entrada\ de\ massa/difusão) - (Saída\ de\ massa/difusão) - (massa\ adsorvida)$$

(4.22)

$$\frac{\partial\left(m_{acumulada,i}(x,t)\right)}{\partial t} = \left(\dot{m}_{conv,i,x}(x,t) - \dot{m}_{conv,i,x+dx}(x,t)\right)$$

$$+\left(\dot{m}_{disp,i,x}(x,t) - \dot{m}_{disp,i,x+dx}(x,t)\right) - \dot{m}_{ads,i,x}(x,t)$$

(4.23)

Pode-se substituir os termos relacionados às vazões por expansões em séries de Taylor, na forma mostrada na **Eq. 4.24**.

$$\dot{m}_{x+dx} \approx \dot{m}_x + \frac{\partial \dot{m}_x}{\partial x} dx \qquad \textbf{(4.24)}$$

Aplicando-se a **Eq. 4.24** na **Eq. 4.24.**

$$\frac{\partial\left(m_{acumulada,i}(x,t)\right)}{\partial t} = \frac{\partial(\dot{m}_{conv,i,x} + \dot{m}_{disp,i,x})}{\partial x} dx - \dot{m}_{ads,i,x} \qquad \textbf{(4.25)}$$

A taxa de massa adsorvida ($\dot{m}_{ads,i,x}$), toda massa do componente *i* que foi transferida da fase fluida para a fase adsorvente, é igual à taxa da média da massa acumulada na fase adsorvente.

$$\frac{\partial\left(\bar{m}_{adsorvente,i}\right)}{\partial t} = \dot{m}_{ads,i,x} \qquad \textbf{(4.26)}$$

A fase adsorvente, conforme já mencionado, é composta de poros preenchidos pela fase fluida e pela fase sólida, cuja superfície adsorve os componentes que adentram as partículas.

Pode-se deduzir o balanço de massa para os poros e para a superfície da fase sólida, na forma das **Eq. 4.27 e 4.28**.

$$\frac{\partial\left(m_{acum,i}^{poro}\right)}{\partial t} = -\frac{\partial(\dot{m}_{dif,i}^{poro})}{\partial r} dr - \dot{m}_i^{s-d} \qquad \textbf{(4.27)}$$

$$\frac{\partial\left(m_{acum,i}^{super}\right)}{\partial t} = -\frac{\partial(\dot{m}_{dif,i}^{super})}{\partial r} dr + \dot{m}_i^{s-d} \qquad \textbf{(4.28)}$$

Na **Eq. 4.27**, o componente *i* pode ser transferido para o poro, partindo da fase móvel ou de poros vizinhos, o fenômeno oposto também é possível e é contabilizado no primeiro termo, do lado direito da referida equação. O termo $\dot{m}_i^{s-d}$ descreve, efetivamente, a taxa de massa do componente i que sofre o processo cinético de sorção/dessorção sobre a superfície da fase sólida.

De forma similar, na **Eq. 4.28** o componente *i* pode difundir da superfície sólida para superfícies vizinhas, sendo o oposto, também possível (primeiro termo da equação).

A transferência de massa (adsorção) entre a superfície sólida e o poro é descrita pelo termo $\dot{m}_i^{s-d}$.

As **Eq. 4.25 e 4.26** podem ser convertidas para balanços de massa em termos de concentração, dividindo-se as mesmas por dV_{coluna} (**Eq. 4.29**). O mesmo pode ser feito com as **Eq. 4.27 e 4.28**, dividindo-se por dV_{ads} (**Eq. 4.30**).

$$dV_{coluna} = A_{coluna}.dx = \varepsilon.A_{coluna}.dx + (1-\varepsilon).A_{coluna}.dx = dV_{vazios} + dV_{ads}$$

(4.29)

$$dV_{ads} = \varepsilon_p.dV_{ads} + \left(1-\varepsilon_p\right).dV_{ads} = \varepsilon_p.(1-\varepsilon).A_{coluna}.dx + \left(1-\varepsilon_p\right).(1-\varepsilon).A_{coluna}.dx = dV_{poros} + dV_{sólida}$$

(4.30)

As equações a seguir auxiliam na alteração das variáveis em termos de massa, para variáveis em termos de concentração.

$$m_{acumulada,i} = c_i.dV_{vazios} = c_i.\varepsilon.A_{coluna}.dx \quad \textbf{(4.31)}$$

$$\overline{m}_{adsorvente,i} = \overline{q}_{ads,i}.(1-\varepsilon).A_{coluna}.dx \quad \textbf{(4.32)}$$

$$\overline{m}_{acum,i}^{poro} = \overline{c}_{p,i}.\varepsilon_p.(1-\varepsilon).A_{coluna}.dx \quad \textbf{(4.33)}$$

$$\overline{m}_{acum,i}^{super} = \overline{q}_i.\left(1-\varepsilon_p\right).(1-\varepsilon).A_{coluna}.dx \quad \textbf{(4.34)}$$

A relação entre a concentração média do adsorvente $\overline{q}_{ads,i}$ e as concentrações no poro e na superfície da fase sólida é dada pela **Eq. 4.35**.

$$\overline{q}_{ads,i} = \varepsilon_p.\overline{c}_{p,i} + \left(1-\varepsilon_p\right).\overline{q}_i \quad \textbf{(4.35)}$$

Neste ponto é necessário definir expressões para as diversas taxas mássicas que compõem os balanços de massa.

A seguir são descritas as taxas de transferência de massa, por meio de transporte advectivo (**Eq. 4.36**) e dispersão axial (**Eq. 4.37**), que ocorrem na fase fluida, e as taxas de transporte difusivo no poro (**Eq. 4.38**) e na superfície sólida (**Eq. 4.39**) que ocorrem na fase adsorvente. A taxa de transferência de massa que ocorre da fase

fluida para a fase adsorvente, através do filme líquido em torno do adsorvente é descrito pela **Eq. 4.40**.

$$\dot{m}_{conv,i} = c_i . \varepsilon . A_{coluna} . v_{int} \quad \textbf{(4.36)}$$

$$\dot{m}_{disp,x} = -\varepsilon . A_{coluna} . D_{axial} \frac{\partial c_i}{\partial x} \quad \textbf{(4.37)}$$

$$\dot{m}_{dif,i}^{poro}(r) = -N_p . \varepsilon_p . 4\pi . r_p^2 . D_{poro,i} \frac{\partial c_{p,i}(r)}{\partial r} \quad \textbf{(4.38)}$$

$$\dot{m}_{dif,i}^{super} = -N_p . (1 - \varepsilon_p) . 4\pi . r_p^2 . D_{super,i} \frac{\partial q_i(r)}{\partial r} \quad \textbf{(4.39)}$$

$$\dot{m}_{ads,i} = k_{filme,i} \left(c_i - c_{p,i}\big|_{r=rp} \right) . \frac{3}{r_p} . (1 - \varepsilon) . A_{coluna} . dx \quad \textbf{(4.40)}$$

Nas equações anteriores, D_{axial}, D_{poro} e D_{super} são as difusividades do componente *i* na fase fluida, no interior dos poros e na superfície da fase sólida, respectivamente. N_p é o número de partículas por unidade de volume. v_{int} é a velocidade intersticial. No filme líquido, a resistência à transferência de massa é representada por *1/*$k_{filme,i}$.

As **Eq. 4.38 e 4.39** devem ser utilizadas quando o perfil de concentração no interior das partículas é conhecido. Do contrário, valores médios de concentração, tanto para o poro como para a superfície, podem ser assumidos, de forma a simplificar os cálculos.

Em essência, as taxas de sorção e dessorção de componentes, sobre a superfície da fase sólida são muito altas e o equilíbrio se estabelece rapidamente, principalmente, no caso da cromatografia líquida. Assim, as equações de balanço do poro e da superfície da fase sólida são conectadas por uma equação de equilíbrio de adsorção, também chamada de isoterma de adsorção, cuja forma geral é apresentada na **Eq. 4.41**.

$$q_i = f(c_{p,i}, c_{p,j}, c_{p,k} \dots c_{p,n}) \quad \textbf{(4.41)}$$

A aplicação da relação anterior, acarreta o uso da regra da cadeia para a obtenção da derivada de qi em relação ao tempo ou em relação ao raio da partícula considerada esférica (**Eq. 4.42 e 4.43**).

$$\frac{\partial q_i(r,t)}{\partial t} = \frac{\partial q_i(r,t)}{\partial c_{p,i}(r,t)} \cdot \frac{\partial c_{p,i}(r,t)}{\partial t} \quad \textbf{(4.42)}$$

$$\frac{\partial q_i(r,t)}{\partial r} = \frac{\partial q_i(r,t)}{\partial c_{p,i}(r,t)} \cdot \frac{\partial c_{p,i}(r,t)}{\partial r} \quad \textbf{(4.43)}$$

As equações apresentadas constituem o conjunto de expressões necessárias para a representação básica dos fenômenos de transferência de massa que ocorrem em uma coluna cromatográfica. Entretanto, considerações simplificadoras são convenientes e, quando aplicadas, dispensam o uso de algumas das expressões apresentadas anteriormente. Muitas dessas considerações levaram ao agrupamento das equações resultantes em modelos, cujas denominações são bem conhecidas na literatura. Alguns desses modelos são apresentados nos tópicos a seguir.

4.4 Modelos para sistemas cromatográficos

4.4.1 Modelo ideal ou de equilíbrio

No modelo ideal, consideram-se não significativos os efeitos de dispersão axial, resistências à transferência de massa no filme e nos poros, além de quaisquer efeitos cinéticos.

$$D_{axial,i} = 0$$

$$D_{poro,i} = D_{super,i} = k_{filme,i} = \infty \quad \textbf{(4.44)}$$

Admitindo-se as seguintes relações:

$$c_{p,i} = \bar{c}_{p,i} \ , \ q_i = \bar{q}_i \ , \ c_i = c_{p,i} \quad \textbf{(4.45)}$$

$$\varepsilon_t = \varepsilon + \varepsilon_p(1 - \varepsilon) \quad \textbf{(4.46)}$$

$$v_i = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_t} v_{int} \quad \textbf{(4.47)}$$

Pode-se chegar à expressão do balanço de massa, na forma apresentada na **Eq. 4.48**.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon_t}{\varepsilon_t} \frac{\partial q_i(c_i,c_j,c_k \ldots c_n)}{\partial t} + v_i \frac{\partial c_i}{\partial x} = 0 \quad \textbf{(4.48)}$$

O modelo ideal contabiliza, apenas, os efeitos de transporte advectivo e a termodinâmica do equilíbrio de adsorção na modelagem da coluna cromatográfica. Este modelo é melhor aplicado quando se trabalha com baixas concentrações dos componentes de interesse, como no caso da cromatografia analítica.

4.4.2 Modelo de equilíbrio dispersivo

Pode-se afirmar que o modelo de equilíbrio dispersivo constitui-se no modelo ideal acrescido de um parâmetro para a descrição dos efeitos dispersivos. O referido parâmetro é o coeficiente de dispersão aparente D_{app} .

As considerações para a elaboração do modelo são as mesmas utilizadas no modelo ideal. O coeficiente de dispersão aparente condensa todos os efeitos responsáveis pelo alargamento dos picos. Dentre esses efeitos, pode-se mencionar a difusão no interior dos poros, a difusão sobre a superfície sólida, a difusão no filme e outros efeitos fluidodinâmicos.

A **Eq. 4.49** apresenta o balanço de massa para o modelo de equilíbrio dispersivo.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon_t}{\varepsilon_t}\frac{\partial q_i(c_i,c_j,c_k\ldots c_n)}{\partial t} + v_i\frac{\partial c_i}{\partial x} = \widetilde{D}_{app,i}\frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \qquad \textbf{(4.49)}$$

$$\widetilde{D}_{app,i} = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_t}D_{app,i} \qquad \textbf{(4.50)}$$

Este modelo é o mais comumente utilizado na literatura, principalmente, por contemplar um efeito não-ideal de forma bastante simples, além disso, este modelo possui diversas soluções analíticas em diferentes condições de contorno e iniciais.

Uma dessas soluções é apresentada na **Eq. 4.51**. Ela é válida nos casos em que D_{app} não é muito grande, considerando-se a isoterma de adsorção linear. Na equação a seguir, $m_{injeção}$ é a massa do componente *i* injetada na coluna cromatográfica e t_r é o tempo de retenção.

$$c_i(x,t) = \frac{m_{injeção}}{\dot{V}.t_{r,i}}.\frac{1}{\sqrt{4\pi.(D_{app,i}/v_i.L_{coluna})}}.e^{-\frac{((t/t_{r,i})-(x/L_{coluna}))^2}{(4.D_{app,i})/(v_i.L_{coluna})}}$$

(4.51)

4.4.3 Modelo de transporte

O modelo de transporte assume que o efeito de espalhamento das bandas de eluição (alargamento do picos) está relacionado à resistência à transferência de massa na fase adsorvente. Paralelamente, o efeito da dispersão axial é considerado pouco significativo.

A equação para o balanço de massa da fase móvel é apresentada a seguir (**Eq. 4.52**). Neste modelo, a concentração no interior dos poros ($c_{p,i}$) é considerada ser diferente da concentração da fase móvel (c_i), o que impõe a necessidade da equação de balanço para o acúmulo na fase adsorvente (**Eq. 4.53**).

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \cdot \left(\varepsilon_p \frac{\partial c_{p,i}}{\partial t} + \left(1 - \varepsilon_p\right)\frac{\partial q_i}{\partial t}\right) + v_{int}\frac{\partial c_i}{\partial x} = 0 \qquad \textbf{(4.52)}$$

$$\varepsilon_p \frac{\partial c_{p,i}}{\partial t} + \left(1 - \varepsilon_p\right)\frac{\partial q_i}{\partial t} = \tilde{k}_{eff,i} \cdot \frac{3}{r_p} \cdot \left(c_i - c_{p,i}\right) \qquad \textbf{(4.53)}$$

O modelo de transporte tem sido utilizado para a simulação de sistemas cromatográficos em batelada e do tipo leito móvel simulado (LMS).

4.4.4 Modelo de transporte-dispersivo

O modelo de transporte dispersivo é uma extensão do modelo de transporte, apresentado anteriormente. A diferença deste modelo para o modelo de transporte reside no fato de, se considerar a dispersão axial como uma contribuição significativa para o alargamento das bandas de eluição.

De forma semelhante, são necessárias duas equações de balanço para descrever o sistema, uma para a fase móvel e outra para o adsorvente (**Eq. 4.54 e 4.55**).

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \cdot \left(\varepsilon_p \frac{\partial c_{p,i}}{\partial t} + \left(1 - \varepsilon_p\right)\frac{\partial q_i}{\partial t}\right) + v_{int}\frac{\partial c_i}{\partial x} = \widetilde{D}_{app,i}\frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}$$

(4.52)

$$\varepsilon_p \frac{\partial c_{p,i}}{\partial t} + \left(1 - \varepsilon_p\right)\frac{\partial q_i}{\partial t} = \tilde{k}_{eff,i} \cdot \frac{3}{r_p} \cdot \left(c_i - c_{p,i}\right)$$

(4.53)

4.4.5 Condições iniciais e de contorno

A resolução numérica das equações diferenciais que caracterizam os diferentes modelos apresentados parte das condições de contorno e iniciais, definidas para a coluna cromatográfica.

Dentre as primeiras condições, normalmente, estabelecidas é o não pré-carregamento da coluna, ou seja, o processo inicia com componentes ausentes no interior da coluna (**Eq. 4.54**).

$$c_i(t = 0) = 0\,,\ c_{p,i}(t = 0, r) = 0\,,\ q_i(t = 0, r) = 0 \qquad \textbf{(4.54)}$$

Uma outra condição comumente aplicada é a condição de Danckwerts (**Eq. 4.55**). Esta condição estabelece a igualdade de fluxos na entrada da coluna, o fluxo de massa fora da coluna é igual ao fluxo mássico dentro da coluna, avaliado em $x = 0$.

$$v_{int} \cdot c_i(t, x = 0) = v_{int} \cdot c_{injeção,i} - D_{axial,i} \cdot \frac{\partial c_i(t, x=0)}{\partial x} \qquad \textbf{(4.55)}$$

Essa condição pode ser simplificada, no caso de colunas altamente eficientes, em que o N >> 100, para:

$$c_i(t, x = 0) = c_{injeção,i} \qquad \textbf{(4.56)}$$

Na saída da coluna é comum impor uma condição que estabeleça um gradiente nulo do componente na fase fluida (**Eq. 4.57**).

$$\frac{\partial c_i\,(t\,,\ x=L_{coluna})}{\partial x} = 0 \qquad \textbf{(4.57)}$$

4.5 Avaliação da eficiência de separação e parâmetros de transferência de massa

Os parâmetros relacionados às resistências à transferência de massa e aos efeitos de dispersão (D_{app} e k_{eff}) podem ser obtidos por meio de curvas de $HETP$ plotadas contra a velocidade intersticial (v_{int}).

Conforme já mencionado na **Seção 4.1.8**, o valor de $HETP$ relaciona-se inversamente com o número de pratos teóricos e expressa a eficiência com que a coluna cromatográfica separa um componente de uma mistura.

Os processos de dispersão que ocorrem no interior da coluna cromatográfica estão relacionados com a eficiência de separação e assim, segundo a teoria das taxas, a qual foi proposta e trabalhada por diversos autores ao longos dos anos, cada parâmetro de dispersão da coluna pode ser matematicamente expresso como um termo de contribuição, cujo somatório resulta o valor de $HETP$.

$$HETP = H_{dispersão\ axial} + H_{resistência\ no\ filme} + H_{difusão\ turbilhonar} + \ldots \quad \textbf{(4.58)}$$

O equacionamento proposto por VAN DEEMTER (1956) permitiu a avaliação experimental dos parâmetros de transferência de massa, além de identificar sua influência na eficiência de separação de colunas cromatográficas.

As equações propostas pelo autor são apresentadas a seguir. Os dados experimentais, número de pratos e velocidades intersticiais, devem ser registrados para todos os componentes os quais se deseja determinar o valor dos parâmetros de dispersão. Os dados devem ser gerados a partir de experimentos envolvendo a injeção (pulso) de amostras, contendo os componentes de interesse, em diferentes vazões de eluente.

Nas **Eq. 4.59 a 4.61**, L_c é o comprimento da coluna, N_{pt} é o número de pratos teóricos, Q é a vazão de eluente, A_c é a área da seção transversal da coluna.

$$\text{HETP} = \frac{L_c}{N_{pt}} \quad \textbf{(4.59)}$$

$$v_{int} = \frac{Q}{\varepsilon . A_c} \quad \textbf{(4.60)}$$

$$\text{HETP} = \left(\frac{2.D_{axial}}{v_{int}}\right) + \left(2.\left(\frac{k'}{1+k'}\right)^2 . \left(\frac{\varepsilon . r_p}{(1-\varepsilon).3.k_{eff}}\right)\right) . v_{int} \quad \textbf{(4.61)}$$

Os dados experimentais $HETP$ (**Eq. 4.59**) e v_{int} (**Eq. 4.60**) são plotados, de forma a gerar uma curva, cujos parâmetros de ajuste podem ser correlacionados com D_{axial} e k_{eff} da equação de VAN DEEMTER (**Eq. 4.61**). Entretanto, para condições preparativas, a forma linearizada da referida equação é frequentemente utilizada (**Eq. 4.62**).

$$\text{HETP} = \text{A} + \text{C}.v_{int} \quad \textbf{(4.62)}$$

$$D_{ax} = \lambda.d_p.v_{int} \quad \textbf{(4.63)}$$

$$\lambda = \frac{A}{2.d_p} \quad \textbf{(4.64)}$$

$$k_{eff} = \frac{2.\left(\frac{k'}{1+k'}\right)^2.\left(\frac{\varepsilon.d_p}{(1-\varepsilon).6}\right)}{C} \quad \textbf{(4.65)}$$

$$k' = \left(\frac{\varepsilon_t}{\varepsilon}\right).(1 + k) - 1 \quad \textbf{(4.66)}$$

$$k = \frac{(t_r - t_0)}{t_0} \quad \textbf{(4.67)}$$

Os coeficientes angular (C) e linear (A) estão relacionados aos parâmetros de transferência de massa (**Eq. 4.62 a 4.67**). Nas equações anteriores, λ é o fator de empacotamento da coluna, d_p é o diâmetro médio da partícula, k' e k estão relacionados ao tempo de retenção, t_r, dos componentes de interesse e t_0 é o tempo morto.

Outros autores propuseram diferentes equacionamentos para a avaliação dos dados de $HETP$. Grande parte dessas propostas foi motivada pelo fato de haver discordâncias, entre os dados experimentais e os dados pretidos da equação de VAN DEEMTER, que, tempos depois, mostraram-se relacionadas à efeitos extra-coluna, como a dispersão advinda de válvulas, detectores, bombas, etc. Segundo CAZES & SCOTT (2002), a maior parte das tentativas de equacionamento da relação $HETP$ - v_{int} mostrou-se sem uso, uma vez que, fora determinado que as incoerências entre a informação experimental e predita poderiam ser eliminadas por meio da correção dos efeitos extra-coluna. Dessa forma, a equação de VAN DEEMTER permite a estimação dos parâmetros de dispersão de forma bastante aceitável justificando a sua utilização atual.

4.6 Métodos para resolução de modelos cromatográficos

Os modelos cromatográficos constituem-se essencialmente de equações de balanço de massa acoplados, da fluida e da fase estacionária. Conforme, apresentado

anteriormente, os diferentes modelos podem ser compostos, inteiramente, de sistemas de equações diferenciais parciais (*EDPs*) ou de sistemas de equações algébrico-diferenciais (*EADs*).

Os sistemas de *EDPs* podem ser identificados nos modelos em que todas as variáveis estão relacionadas por meio de equações diferenciais. Como exemplo, tem-se o modelo de transporte, reapresentado a seguir.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \cdot \left(\varepsilon_p \frac{\partial c_{p,i}}{\partial t} + \left(1 - \varepsilon_p\right)\frac{\partial q_i}{\partial t}\right) + v_{int}\frac{\partial c_i}{\partial x} = 0 \qquad \textbf{(4.68)}$$

$$\varepsilon_p \frac{\partial c_{p,i}}{\partial t} + \left(1 - \varepsilon_p\right)\frac{\partial q_i}{\partial t} = \tilde{k}_{eff,i} \cdot \frac{3}{r_p} \cdot \left(c_i - c_{p,i}\right) \qquad \textbf{(4.69)}$$

Os sistemas de *EADs* são identificados quando relações algébricas entre diversas variáveis são existentes. Como no caso dos modelos, que além das equações de balanço, utilizam uma isoterma para relacionar as concentrações na fase fluida e na fase sólida. Um exemplo é o modelo de equilíbrio dispersivo acoplado à uma isoterma linear (**Eq. 4.70 e 4.71**).

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon_t}{\varepsilon_t}\frac{\partial q_i(c_i, c_j, c_k \ldots c_n)}{\partial t} + v_i \frac{\partial c_i}{\partial x} = \widetilde{D}_{app,i}\frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \qquad \textbf{(4.70)}$$

$$q_i = H_i \cdot c_i \qquad \textbf{(4.71)}$$

A solução analítica de muitos dos sistemas de equações que formam os modelos só é possível para casos lineares e a concordância das soluções com dados experimentais está sujeita à regiões de baixas concentrações dos componentes.

Como será visto a seguir, algumas soluções analíticas estão disponíveis na literatura, porém, sua utilidade não ultrapassa a representação de sistemas ideais e puramente teóricos. Situações envolvendo modelos não-lineares, mais próximos à realidade, têm sido abordadas com a utilização de métodos numéricos para a produção de soluções aproximadas.

4.6.1 Soluções analíticas de alguns modelos cromatográficos

4.6.1.1 Modelo ideal - Solução geral de Golshan-Shirazi e Guiochon

Os autores GOLSHAN-SHIRAZI e GUIOCHON (1990) propuseram uma solução analítica geral, para o modelo cromatográfico ideal, a qual pode ser adequada para qualquer isoterma.

A **Eq. 4.73** representa a forma analítica da solução para o modelo ideal, considerando-se uma isoterma do tipo Langmuir monocomponente (**Eq. 4.72**).

$$q = \frac{aC}{1+bC} \tag{4.72}$$

$$C(t) = \frac{1}{b}\left[\sqrt{\frac{t_r - t_0}{t - t_{inj} - t_0}} - 1\right] \tag{4.73}$$

Nas equações anteriores, *a* e *b* são os parâmetros da isoterma de langmuir, t_r é o tempo de retenção do componente de interesse, t_0 é o tempo morto do sistema na correspondente vazão de eluente e t_{inj} é o tempo de injeção da amostra.

4.6.1.2 Modelo Equilíbrio Dispersivo – Solução de Houghton e Haarhoff & Van der Linde

Segundo GUIOCHON *et al.* (2006), não há formas fechadas para a solução do modelo de equilíbrio dispersivo. As soluções propostas por Houghton e Haarhoff & Van der Linde são soluções aproximadas, devido à uma série de simplificações (físicas e matemáticas) realizadas na equação diferencial, antes de sua resolução, e são válidas apenas em concentrações muito baixas.

Primeiramente, considera-se a utilização de uma isoterma parabólica (**Eq. 4.74**), como uma aproximação para a isoterma de Langmuir.

A equação para o modelo de equilíbrio dispersivo é reescrita na forma apresentada a seguir (**Eq. 4.75**).

$$q = ac(1 - bc) \tag{4.74}$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{\partial c}{\partial \xi}\frac{\Lambda v c}{(1+k_0)(1+\Lambda c)} = \frac{D_{app}}{(1+k_0)(1+\Lambda c)}\frac{\partial^2 c}{\partial \xi^2} \tag{4.75}$$

Os termos Λ e ξ são definidos pelas **Eq. 4.76 e 4.77**, respectivamente. k_0 é o fator de retenção, relacionado ao componente de interesse.

$$\Lambda = -2b\frac{k_0}{1+k_0} \quad \textbf{(4.76)}$$

$$\xi = L\frac{t_r - t}{t_r} \quad \textbf{(4.77)}$$

Na abordagem de Houghton, o termo Λc, presente nos denominadores dos dois últimos termos da **Eq. 4.75**, é negligenciado de forma que, a equação resultante (**Eq. 4.78**), pode ser resolvida aplicando-se a transformada de Cole-Hopf.

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{\partial c}{\partial \xi}\frac{\Lambda v c}{(1+k_0)} = \frac{D_{app}}{(1+k_0)}\frac{\partial^2 c}{\partial \xi^2} \quad \textbf{(4.78)}$$

A solução da **Eq. 4.78** para uma pulso de alimentação do tipo delta Dirac tema a forma apresentada na **Eq. 4.79**. *X*, *m* e τ são a concentração, massa e tempo adimensionais, definidos pelas equações a seguir.

$$X = \left|\frac{e^{-\tau^2/2}}{\sqrt{2\pi}(\coth m + erf\tau/\sqrt{2})}\right| \quad \textbf{(4.80)}$$

$$X = |b|c\frac{k_0}{1+k_0}\sqrt{\frac{v^2 t}{2D_{app}(1+k_0)}} \quad \textbf{(4.81)}$$

$$\tau = \frac{k_0 L}{(1+k_0)\sqrt{\frac{2D_{app}t}{1+k_0}}}\frac{t_r - t}{t_r - t_0} \quad \textbf{(4.82)}$$

$$m = \frac{Lv}{2D_{app}}\left[\frac{k_0}{1+k_0}\right]^2 L_f \quad \textbf{(4.83)}$$

Na **Eq. 4.83**, L_f é chamado de fator de carga e é calculado pela razão entre a concentração da amostra e a capacidade máxima da coluna (parâmetro *a* da isoterma descrita na **Eq. 4.74**).

A **Eq. 4.80** é válida nos casos em que $\Lambda c_{máx}$ < 0,05, o que ocorre quando se trabalha com baixas concentrações do analito de interesse.

A abordagem de Haarhoff & Van der Linde é semelhante à utilizada por Houghton, de tal forma que a solução obtida é a mesma apresentada na **Eq. 4.80**, entretanto, os autores propuseram a substituição do termo $D_{app}t$, na **Eq. 4.82** por $D_{app}t_r$. As

definições para a concentração, tempo e massa adimensionais possuem uma forma ligeiramente diferente (**Eq. 4.84 a 386**).

$$X = |b| c \frac{k_0}{1+k_0} \sqrt{N} \quad \textbf{(4.84)}$$

$$\tau = \sqrt{N} \ \frac{k_0 L}{(1+k_0)} \frac{t_r - t}{t_r - t_0} \quad \textbf{(4.85)}$$

$$m = N \left[\frac{k_0}{1+k_0}\right]^2 L_f \quad \textbf{(4.86)}$$

A principal diferença entre as duas abordagens reside no fato de que a proposta de Haarhoff & Van der Linde, garante conservação da massa, enquanto que a abordagem de Houghton gera os perfis de resposta ao pulso de alimentação com alguma perda de massa. Isso se deve às aproximações feitas para o modelo da isoterma e para o termo Λc, realizadas por Houghton.

4.6.2 Métodos numéricos aplicados à solução de modelos cromatográficos

4.6.2.1 Método de diferenças finitas

O método de diferenças finitas consiste na troca do plano contínuo de espaço-tempo (x,t), por uma malha constituída de pequenos segmentos, geralmente, espaçados uniformemente. Tal método implica também, na substituição dos termos contendo derivadas (diferenças infinitesimais) por termos compostos de diferenças finitas (GUIOCHON *et al.*, 2006).

No caso das equações de balanço que constituem os modelos cromatográficos, as derivadas em relação à coordenada axial (x) e ao tempo (t) (**Eq. 4.87**) podem ser substituídas por diferenças finitas para frente (**Eq. 4.88**), para trás (**Eq. 4.89**) ou centrais (**Eq. 4.90**).

$$\frac{\partial c}{\partial x}, \frac{\partial c}{\partial t} \quad \textbf{(4.87)}$$

$$\frac{c_{z+1}^i - c_z^i}{h}, \frac{c_z^{i+1} - c_z^i}{\tau} \quad \textbf{(4.88)}$$

$$\frac{c_z^i - c_{z-1}^i}{h}, \frac{c_z^i - c_z^{i-1}}{\tau} \quad \textbf{(4.89)}$$

$$\frac{c_{z+1}^{i} - c_{z-1}^{i}}{2h}, \frac{c_{z}^{i+1} - c_{z}^{i-1}}{2\tau} \quad \textbf{(4.90)}$$

O termo referente à dispersão no leito é comumente substituído por diferenças centrais (**Eq. 4.91**).

$$\frac{c_{z+1}^{i} - 2c_{z}^{i} + c_{z-1}^{i}}{h^2} \quad \textbf{(4.91)}$$

Nas equações anteriores, os índices *i* e *z* referem-se aos nós da malha de tempo e do espaço (coordenada axial da coluna cromatográfica). Os nós das malhas de tempo e de espaço são igualmente separados, em intervalos de tamanho τ e *h*, respectivamente.

Assim, a equação de balanço para o modelo de equilíbrio dispersivo, em termos de diferenças finitas, é apresentada na **Eq. 4.92**, com a forma proposta por LAX & WENDROFF (1960). Na referida equação, a razão adicionada ao termo de dispersão axial contabiliza o efeito de dispersão numérica, o qual visa compensar erros de primeira ordem que são imputados por essa forma de cálculo.

$$\frac{c_{z+1}^{i} - c_{z-1}^{i}}{2h} + \frac{c_{z}^{i+1} - c_{z}^{i}}{\tau} = \left(\frac{D_{app}}{v} + \frac{\tau v_{x,0}}{2}\right)\frac{c_{z+1}^{i} - 2c_{z}^{i} + c_{z-1}^{i}}{h^2} \quad \textbf{(4.92)}$$

Na **Eq. 4.92**, $v_{x,0}$ é a velocidade do componente de interesse, expressa pela **Eq. 4.94.**

$$v_{x,0} = \frac{v}{1 + k_0} \quad \textbf{(4.93)}$$

As equações resultante podem então ser resolvidas por qualquer método de solução de sistemas de equações algébricas.

Uma abordagem geral para a resolução dos modelos cromatográficos envolve a discretização de uma das variáveis independentes, normalmente a variável relacionada à coordenada espacial, transformando o sistema de equações parciais em um sistema de equações diferenciais ordinárias. Tal abordagem é conhecida como método das linhas e as equações resultantes, podem ser resolvidas por meio do método de Runge-Kutta, por exemplo.

4.6.2.2 Método de colocação ortogonal em elementos finitos

O método de colocação ortogonal em elementos finitos visa contornar as desvantagens do uso de certos procedimentos numéricos que utilizem aproximações globais para a solução dos sistemas de equações diferenciais, uma vez que as mesmas, podem oscilar em função de mudanças bruscas no valor da solução real. Além disso, quando a aproximação global tem grau reduzido, as diferenças entre a solução aproximada e real podem se tornar significativamente amplas.

Neste método, o domínio do problema, geralmente o domínio espacial, é discretizado em intervalos de igual espaçamento, geralmente (elementos finitos). No interior de cada elemento finito aplica-se uma função de aproximação (uma função polinomial, por exemplo) para a solução, de tal forma que diferentes aproximações podem ser utilizadas nos diferentes intervalos, em que a solução apresente um comportamento distinto.

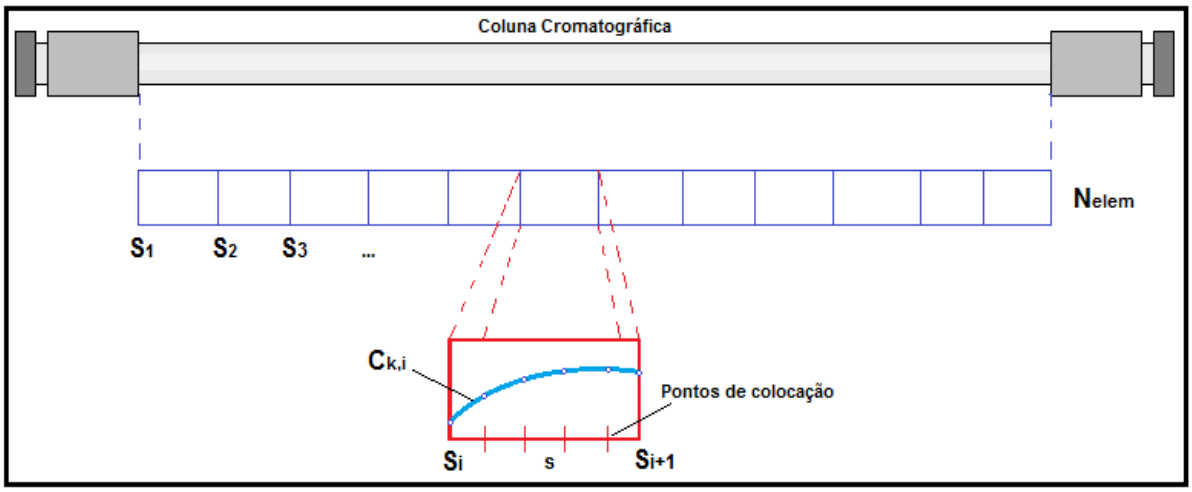


Figura 4.3: Ilustração do procedimento de discretização do domínio espacial da coluna cromatográfica em elementos finitos. Cada elemento é então subdividido em intervalos, cujos limites são tomados como pontos de colocação ortogonal.

O domínio espacial da coluna é discretizado em intervalos iguais, totalizando um número N_{elem} elementos finitos. Os nós da malha são identificados com coordenadas S_i. O tamanho do elemento compreendido entre os nós S_{i+1} e S_i é dado por Δz, sendo z, a coordenada espacial no interior de cada elemento. Tais definições são ilustradas na **Figura 4.3** (VILLADSEN & MICHELSEN, 1978; GUICHON *et al.*, 2006).

Define-se a coordenada adimensionalizada s, na forma descrita pela **Eq. 4.94**.

$$s = \frac{z - S_{i+1}}{S_{i+1} - S_i} = \frac{z - S_{i+1}}{\Delta z} \quad \textbf{(4.94)}$$

No interior de cada elemento finito, são selecionadas coordenadas, utilizadas como raízes de um polinômio ortogonal adequado. Dessa forma, considerando-se o modelo de equilíbrio dispersivo e a **Eq. 4.94**, pode-se obter a equação para os termos diferenciais presentes no referido modelo por meio da aproximação proposta nas **Eq. 4.95 e 4.96**.

$$\left.\frac{\partial c}{\partial s}\right|_{c=c_{j,i}} = \sum_{k=1}^{Np+2} A_{j,k} c_{k,i} \quad \textbf{(4.95)}$$

$$\left.\frac{\partial^2 c}{\partial s^2}\right|_{c=c_{j,i}} = \sum_{k=1}^{Np+2} B_{j,k} c_{k,i} \quad \textbf{(4.96)}$$

A equação para o balanço pode então ser descrita nos pontos nodais da malha, conforme apresentado na **Eq. 4.97**.

$$\left.\frac{\partial c}{\partial t}\right|_{c=c_{j,i}} = -F \left.\frac{\partial q}{\partial t}\right|_{q=q_i} + \frac{D_{app}}{\Delta z^2} \sum_{k=1}^{Np+2} B_{j,k} c_{k,i} - \frac{v}{\Delta z} \sum_{k=1}^{Np+2} A_{j,k} c_{k,i} \quad \textbf{(4.97)}$$

As condições de contorno devem ser utilizadas para a obtenção das equações remanescentes, necessárias para a coerência da resposta nas fronteiras do domínio. Para a entrada da coluna (elemento i =1 e z =0), tem-se que:

$$\left.\frac{\partial c}{\partial z}\right|_{c=c_{j,i}} = \frac{v}{D_{app}} \left(c_{ji} - \varphi(t)\right) \quad \textbf{(4.98)}$$

Na saída da coluna (elemento i = N_{elem} + 1 e z = Δz), a aplicação da condição de contorno gera a expressão a seguir.

$$\left.\frac{\partial c}{\partial z}\right|_{c=c_{j,i}} = 0 \quad \textbf{(4.99)}$$

O sistema de equações diferenciais resultante descreve assim, um problema de valor inicial, o qual pode ser resolvido, aplicando-se rotinas numéricas apropriadas como a DASSL (BRENAN, CAMPBELL & PETZOLD, 1989), DASSLC (SECCHI, 1992), (apropriadas para sistemas de equações algébrico-diferenciais), RADAU (HAIRER & WANNER, 1999) e RK4 (FELHBERG, 1969) (VILLADSEN & MICHELSEN, 1978; GUICHON *et al.*, 2006; LOURENÇO, 2002).

CAPÍTULO V

TERMODINÂMICA DOS PROCESSOS DE ADSORÇÃO

No presente capítulo é apresentado uma revisão teórica dos conceitos físico-químicos básicos e da descrição formal do problema que permeia os fenômenos de adsorção, tanto do ponto de vista da termodinâmica clássica como também da termodinâmica estatística. Manteve-se, entretanto, o enfoque da discussão direcionado, especificamente, ao processo de adsorção em sistemas cromatográficos.

5.1 Introdução e Conceitos físico-químicos básicos

5.1.1 Definições básicas

Adsorção é o fenômeno físico-químico que ocorre sempre que uma superfície sólida é exposta à um gás ou um líquido. Este fenômeno pode ser formalmente definido como o enriquecimento de material ou o aumento na densidade do fluido que se localiza nas proximidades da interface (fluido-sólido) (ROUQUEROL, ROUQUEROL, & KING, 1998).

Tal fenômeno é de grande importância tecnológica. Materiais adsorventes são usados como agentes dessecante, catalisadores químicos, em processos de separação e purificação de substâncias químicas. O ponto atrativo desta tecnologia é sua capacidade de separar compostos com estruturas similares, como isômeros e misturas azeotrópicas, consideradas difíceis de processar, por meio de outros métodos (MILLER & NEOGI, 2007).

Antes de uma descrição mais detalhada da física envolvida na adsorção se faz necessária a definição de alguns termos comumente utilizados. Desta forma, o processo de *adsorção* compreende a *sorção* (em que o componente entra em

contato com a superfície do sólido e a ela se liga por meio de interações intermoleculares) e a *dessorção* (processo inverso à sorção, no qual o componente abandona a superfície do sólido e retorna à fase fluida).

As forças intermoleculares que surgem entre os compostos químicos e a superfície sólida podem originar a *fisiossorção* (adsorção física) ou a *quimiossorção*.

A fisiossorção é definida como um fenômeno com baixo grau de especificidade, no qual as forças envolvidas são de fraca intensidade, geralmente compostas pelas interações de Van der Waals, dipolo-dipolo, dipolo induzido e interações entre cargas eletroestáticas. Os componentes que sofrem fisiossorção mantém sua estrutura química intacta e podem ser compactados em mais de uma camada na superfície do sólido adsorvente. Além disso, a fisiossorção é um processo exotérmico, e a magnitude da energia envolvida é comparável à energia relacionada à condensação de gases (ROUQUEROL, ROUQUEROL, & KING, 1998).

A quimiossorção envolve, de outro modo, a ligação, por meio de reações químicas, dos componentes químicos com as regiões reativas da fase sólida. Neste fenômeno, interações específicas são esperadas e os componentes reagem com a fase sólida formando apenas uma única camada de moléculas. Além disso, é necessária uma energia de ativação para iniciar a reação com a superfície do sólido.

A fisiossorção é o fenômeno essencialmente explorado neste trabalho, uma vez que a separação cromatográfica envolve o uso de uma fase sólida não-reativa.

Conforme mencionado anteriormente, a adsorção envolve a interação entre os componentes presentes em uma fase fluida (fase móvel) e uma fase sólida (fase estacionária). Os componentes químicos dissolvidos na fase fluida são comumente chamados de *adsorbatos*, enquanto que a fase sólida é chamada de *adsorvente*.

5.1.2 Interações intermoleculares envolvidas no fenômeno adsortivo

Entre as principais interações intermoleculares ou *potenciais de interação,* que podem sugir entre as moléculas dos componentes de interesse e a fase sólida estão os *potenciais de dispersão*, os potenciais oriundos dos efeitos de *polarização*, os *potenciais de momento dipolar* e os *potenciais de gradiente quadripolar*.

Os potenciais de dispersão apresentam natureza atrativa ou repulsiva a depender da distância. O potencial atrativo foi primeiramente descrito por London (RUTHVEN, 1984) e se origina das rápidas flutuações na densidade das nuvens eletrônicas presentes nos átomos. Tais flutuações induzem a formação de um momento elétrico em átomos vizinhos (desbalanceamento momentâneo de cargas). Com base na teoria da perturbação da mecânica quântica, London obteve uma expressão para a energia potencial atrativa entre dois átomos vizinhos (**Eq. 5.1**).

$$\varepsilon_A(r) = \frac{-C}{r^6} \qquad \textbf{(5.1)}$$

O potencial de dispersão repulsivo se torna significativo à curtas distâncias, em que ocorre sobreposição de nuvens eletrônicas entre átomos vizinhos. Tal potencial é matematicamente descrito segundo a **Eq. 5.2**.

$$\varepsilon_R(r) = \frac{B}{r^{12}} \qquad \textbf{(5.2)}$$

O potencial total, conhecido como potencial de *Lennard-Jones*, é a soma dos dois potenciais de interação (**Eq. 5.3 e Figura 5.1**).

$$\varepsilon_{LJ}(r) = \varepsilon_A(r) + \varepsilon_R(r) = \frac{B}{r^{12}} - \frac{C}{r^6} \qquad \textbf{(5.3)}$$

O potencial de *Lennard-Jones* é uma forma básica de descrever interações entre pares de moléculas e é classificado como uma interação não-específica. Nas equações anteriores, B e C são constantes de ajuste e r é o raio entre o par de moléculas em questão.

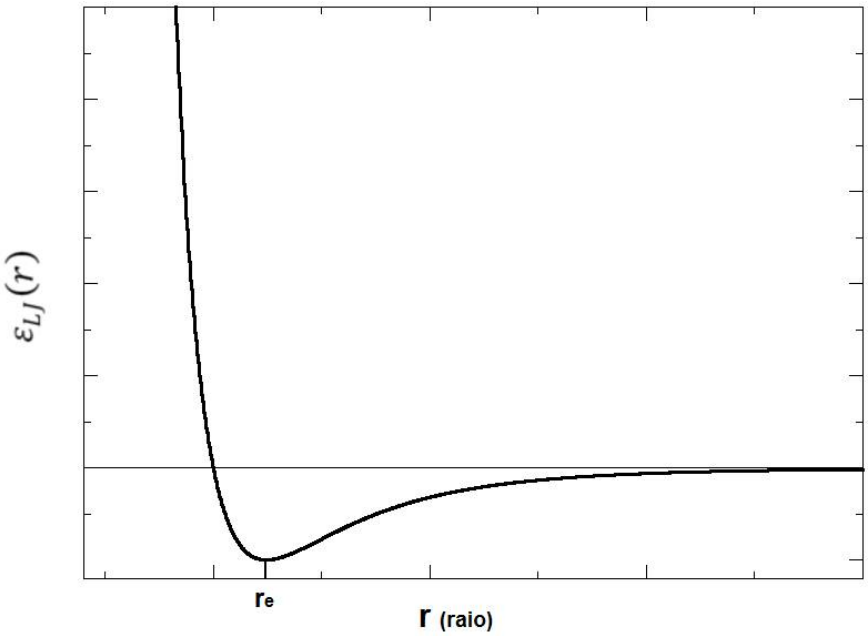


Figura 5.1: Potencial de interação de Lennard-Jones. No gráfico, r_e representa a distância em que forças repulsivas se equilibram com forças atrativas. Fonte: Adaptado de ROUQUEROL, ROUQUEROL, & KING (1998).

Potenciais de momento dipolar ocorrem apenas em moléculas assimétricas, ou seja, em moléculas compostas de átomos diferentes, especialmente aquelas contendo átomos com valores de eletronegatividades muito diferentes. O momento dipolar surge do deslocamento da nuvem eletrônica ao longo das ligações covalentes, em direção aos átomos mais eletronegativos (**Figura 5.2**).

O momento dipolar é um vetor calculado pela multiplicação da distância entre duas cargas elétricas totais ou parciais (uma positiva e outra negativa).

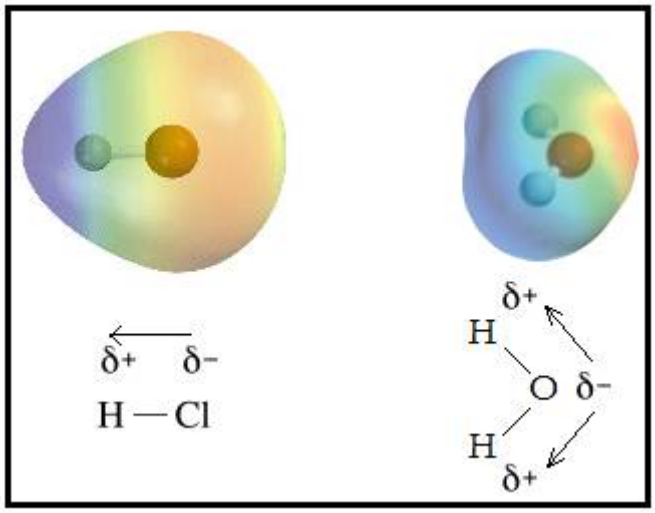


Figura 5.2: Ilustração evidenciando o deslocamento da nuvem eletrônica sobre as moléculas de HCl e H_2O. Os momentos dipolares apontam, convencionalmente, em direção à carga positiva (baixa densidade de elétrons). Fonte: BRUICE (2013).

Os *potenciais de gradiente quadripolar* se originam da expansão multipolar, na qual a carga distribuída pode ser interpretada por meio de momentos dipolares, quadripolares, octapolares, etc. Geralmente, o potencial quadripolar descreve convenientemente a distribuição de cargas, que pode ser vizualizada como dois momentos dipolares de igual intensidade e antiparalelos (ISRAELACHVILI, 2010). Uma distribuição de cargas elipsoidal pode ser representada por uma carga pontual e um quadrupolo; a existência do quadrupolo indica uma distribuição não simétrica (**Figura 5.3**). O benzeno e o CO_2 são dois exemplos de substâncias que podem ter sua distribuição de cargas representadas por momentos quadrupolares.

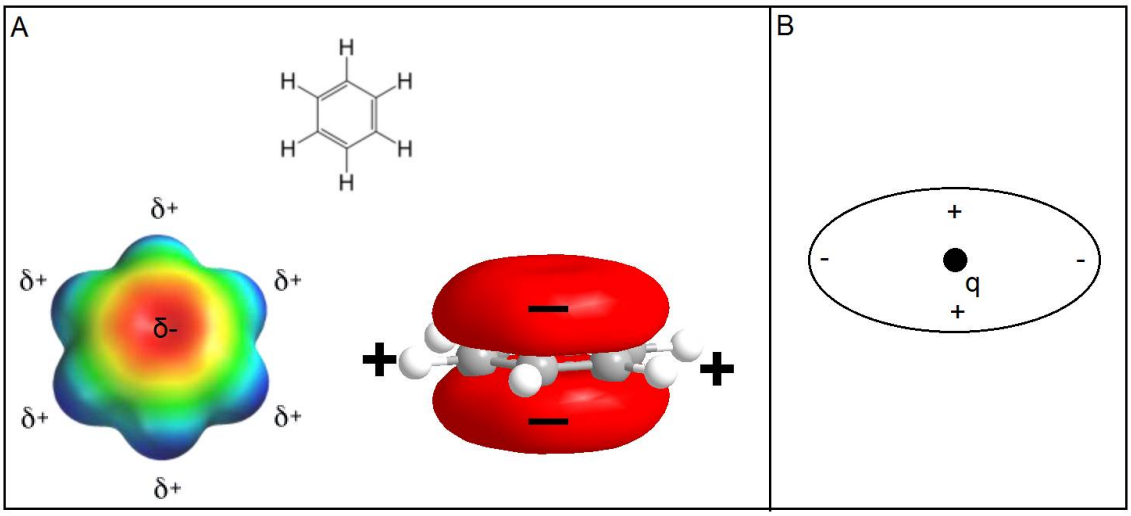


Figura 5.3: Ilustração do quadrupolo presente na molécula do benzeno (**A**). Representação de uma carga distribuída assimetricamente (elipsoidal) - carga pontual de valor q e o quadrupolo evidenciando a distribuição não-simétrica (**B**). Fonte: Elaborado pelo Autor.

As forças eletroestáticas originam-se de campos elétricos produzidos por moléculas polares (dipolos permanentes) ou por íons. Em certos casos, os campos elétricos produzidos, induzem a formação de momentos dipolares em moléculas vizinhas. Trata-se do efeito de *polarização*.

A polarização de moléculas não-polares advém do deslocamento da nuvem eletrônica, induzido pelo campo elétrico externo de íons. De modo semelhante, moléculas polares podem induzir um momento dipolar em moléculas não-polares. A polarização em moléculas polares é também possível e geralmente acarreta o alinhamento do campo elétrico da molécula polar com o campo elétrico externo (**Figura 5.4**). Esse alinhamento reforça o desbalanceamento de cargas e potencializa a força do campo elétrico, além de produzir um efeito "em cadeia" nas moléculas vizinhas (ISRAELACHVILI, 2010).

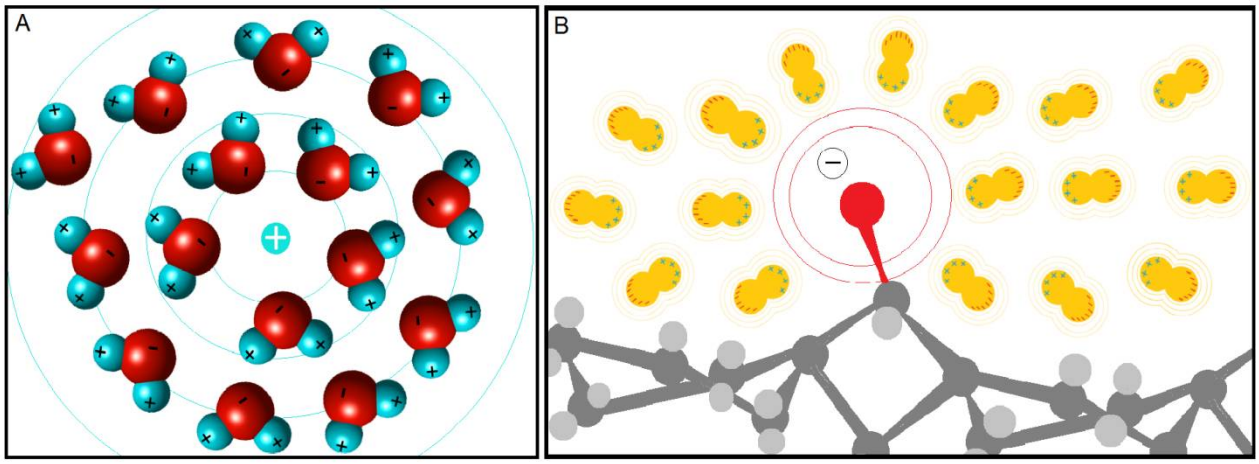


Figura 5.4: Ilustração demonstrando o efeito da polarização. Na imagem **A**, verifica-se o efeito de polarização (alinhamento dos dipolos), provocado por um campo elétrico de um íon positivo, sobre moléculas de água. Na imagem **B**, Verifica-se o efeito de polarização (indução de momento dipolar), provocado por uma molécula polar, sobre moléculas não polares. Fonte: Elaborado pelo Autor.

A significância de cada um desses potenciais pode ser determinada experimentalmente, de forma direta, por meio da medição do calor de adsorção por exemplo. É possível relacionar também, pelo menos em teoria, as diferentes interações moleculares com os parâmetros que compõem alguns modelos de isotermas de adsorção, como os parâmetros de afinidade. Essas relações são evidenciadas em seções posteriores do presente trabalho.

5.1.3 Calor de adsorção

O tema revisado na seção anterior - interações intermoleculares no fenômeno adsortivo - suscita a necessidade de uma breve discussão, a respeito de uma propriedade diretamente relacionada com os potenciais de interação, entre as moléculas que compõem o soluto de interesse e a superfície da fase sólida, conhecida como *calor de adsorção* ou *entalpia de adsorção*.

Fisicamente, o calor de adsorção ou a entalpia molar de adsorção é a energia liberada (na maioria dos casos, o processo de adsorção é exotérmico), no momento em que um mol do componente em questão, é transferido da fase fluida (móvel) para a fase adsorvida (superfície da fase sólida).

Uma relação matemática pode ser derivada para o calor de adsorção. Supondo um sistema gás/sólido, a energia interna e a entalpia da fase fluida (gasosa) podem ser relacionadas pela **Eq. 5.4**, admitindo-se que o gás é ideal.

$$H_{gás} = U_{gás} + RT \quad \textbf{(5.4)}$$

De modo similar, a entalpia para a fase adsorvida pode ser expressa pela **Eq. 5.5**. Na referida equação, $\overline{\Phi}$ é o potencial médio de interações.

$$H_{adsorvida} = U_{adsorvida} + \overline{\Phi} \quad \textbf{(5.5)}$$

Calcula-se a diferenças entre as entalpias e obtém-se a **Eq. 5.6**.

$$\Delta H_{adsorção} = U_{gás} - U_{adsorvida} + RT - \varepsilon_{\overline{\Phi}} \quad \textbf{(5.6)}$$

Segundo RUTHVEN (1984), na expressão anterior, o termo $U_{gás}$ - $U_{adsorvida}$ representa a diferença na energia cinética entre as moléculas presentes na fase adsorvida e na fase fluida. O potencial médio é obtido pela integração de todos os potenciais de interação sobre todas as possíveis posições da molécula do sorbato.

Conforme mencionado, grande parte dos processos de adsorção, principalmente em fase gasosa, são exotérmicos. Nos casos de processos, endotérmicos, teoriza-se que o adsorbato teria que deslocar, para fora do sítio, mais de uma molécula do solvente o que requer mais energia.

Experimentalmente, o calor de adsorção é referenciado como *calor de adsorção isostérico,* significando que a entalpia é mensurada mantendo-se a quantidade do componente adsorvido constante.

Dados referentes ao calor de adsorção isostérico fornecem algumas informações valiosas, como características heterogêneas da superfície do sólido e influência de interações adsorvente-adsorvato e adsorvato-adsorvato.

De forma geral, variações pronunciadas no valor de $\Delta H_{adsorção}$ em função de variações na quantidade adsorvida, são um indicativo de distribuição energética não-uniforme na superfície do sólido. O calor isostérico tende a ter um valor alto em condições de baixa ocupação da superfície do sólido, o que indica fortes e favoráveis interações entre o adsorvente e o adsorvato. Por outro lado, com o

aumento da concentração do adsorvato, o calor de adsorção tende a diminuir, o que foi correlacionado com interações do tipo adsorvato-adsorvato.

Tais conceitos e características, relativas à entalpia de adsorção são importantes para a formação de um pensamento intuitivo, a respeito do processo de adsorção e serão utilizados, em algumas seções, do presente capítulo.

5.2 Termodinâmica da adsorção: abordagem clássica

5.2.1 Derivação da isoterma de Gibbs

No caso do fenômeno adsortivo, a equação relacionando a primeira e segunda leis da termodinâmica pode ser escrita como:

$$dG_{ads} = -S_{ads}dT + V_{ads}dP - \Phi dn_a + \mu_{ads}dn_{ads} \quad \textbf{(5.7)}$$

Em que o subescrito *ads*, refere-se às grandezas relacionadas com a fase adsorvida ou adsorvato. O subescrito *a* está relacionado com a fase adsorvente (fase sólida ou estacionária). Na equação anterior, Φ, representa a mudança na energia interna molar do adsorvente devido ao espalhamento do adsorvato sobre a superfície da fase sólida ou no interior de seus microporos. Φ é relacionado com a pressão de espalhamento, π, pela seguinte equação.

$$\Phi dn_a = \pi dA \quad \textbf{(5.8)}$$

A pressão de espalhamento é interpretada, fisicamente, como uma medida da tendência de um dado fluido se espalhar sobre uma superfície, fluida ou sólida. A pressão de espalhamento é definida pela seguinte relação.

$$\pi = -\left(\frac{\partial U_{ads}}{\partial A}\right)_{S_{ads},V_{ads},n_{ads}} \quad \textbf{(5.9)}$$

U_{ads} é a energia interna molar do componente presente na fase adsorvida. A pressão de espalhamento corresponde à diferença das tensões superficiais, entre a superfície do sólido isenta do soluto (limpa) e a superfície do sólido coberta com uma densa monocamada do soluto adsorvido.

Considerando que, em condições cromatográficas, a temperatura e a pressão não variam de forma significativa (fluido incompressível e alta dissipação da energia de adsorção), a **Eq. 5.7** pode ser integrada e resulta em:

$$G_{ads} = -\Phi n_a + \mu_{ads} n_{ads} \quad \textbf{(5.10)}$$

Combinando-se a **Eq. 5.10** com a **Eq. 5.7** temos a relação a seguir.

$$d\Phi n_a = d\mu_{ads} n_{ads} = A d\pi \quad \textbf{(5.11)}$$

Porém, na condição de equilíbrio, a variação do potencial químico na fase estacionária ($d\mu_{ads}$) deve ser igual à variação do potencial químico no seio da fase móvel ($d\mu_{bulk}$). Considerando que a fase móvel tenha um comportamento semelhante à de um gás ideal, o potencial químico nesta fase é descrito por:

$$d\mu_{bulk} = v dp \quad \textbf{(5.12)}$$

Substituindo, a **Eq. 5.12** na **Eq. 5.11**, tem-se que:

$$A\left(\frac{d\pi}{dp}\right)_T = \frac{RT n_{ads}}{P} \quad \textbf{(5.13)}$$

A **Eq. 5.13** é a conhecida isoterma de Gibbs. Conhecendo-se a relação diferencial entre a pressão de espalhamento e a pressão do fluido, que pode ser derivada de uma equação de estado, é possível descrever diversos tipos de isotermas (RUTHVEN, 1984; TÓTH, 2002).

Pode-se admitir, como uma aproximação, que o comportamento da fase adsorvida seja semelhante à de um gás ideal e assim pode ser descrito por:

$$\pi A = n_{ads} RT \quad \textbf{(5.14)}$$

Por meio das **Eq. 5.13 e 5.14**, pode-se chegar às seguintes relações, com K sendo uma constante de integração.

$$\frac{\partial \pi}{\partial p} = \frac{\pi}{p} \quad \textbf{(5.15)}$$

$$\pi = Kp \quad \textbf{(5.16)}$$

Substituindo a **Eq. 5.16** na **Eq. 5.14**, obtém-se:

$$\frac{n_{ads}}{A} = \frac{Kp}{RT} = aC = k' \frac{\varepsilon}{1-\varepsilon} C = \frac{k'}{F} C \quad \textbf{(5.17)}$$

As relações representadas na **Eq. 5.17** correlacionam o número de mols adsorvidos na fase sólida com a pressão do gás da fase móvel (não adsorvida). Como se

observa é possível também uma relação com a concentração do componente na fase móvel, por meio da constante a, que é o coeficiente angular da isoterma linear, a mais simples relação entre a composição das fases móvel e estacionária. Este coeficiente angular pode ser expresso por parâmetros físicos mensuráveis como k' (fator de retenção, calculado como $(t_r\text{-}t_0)/t_0$, onde t_r é o tempo de retenção do soluto e t_0 é o tempo morto) e ε (porosidade total da fase estacionária). F é chamada de razão de fases e é a relação entre o volume de sólido e o volume de vazios da fase sólida.

A relação linear entre as composições das fases é a mais simples e é satisfatoriamente utilizada na cromatografia analítica, na qual se trabalha com baixas concentrações. No caso da cromatografia preparativa, em altas concentrações são observados desvios do comportamento linear, a competição entre os componentes de um sistema por um sítio de adsorção, tornam a forma da isoterma e sua descrição mais complexa.

5.2.2 Derivação da isoterma de Langmuir

A adsorção de uma fase gasosa pode ser modelada de forma um pouco mais complexa utilizando-se uma equação de estado que leve em conta a superfície finita ocupada por uma molécula adsorvida, de forma semelhante às equações de estado cúbicas para gases (TÓTH, 2002).

$$\pi(A - B) = n_{ads}RT \qquad \textbf{(5.18)}$$

A diferenciação da equação anterior leva a:

$$\left(\frac{d\pi}{dA}\right)_T = \frac{-RTn_{ads}}{(A-B)^2} \qquad \textbf{(5.19)}$$

A combinação da **Eq. 5.18** com a isoterma de Gibbs (**Eq. 5.13**) resulta na seguinte expressão.

$$\frac{dp}{p} = -\frac{AdA}{(A-B)^2} \qquad \textbf{(5.20)}$$

A integração dessa equação é possível assumindo que B seja muito pequeno e que o termo B^2 possa ser ignorado. Essa consideração é válida para concentrações moderadas do componente considerado e resulta na **Eq. 5.21**.

$$bP = \frac{\theta}{(1-\theta)} \quad \textbf{(5.21)}$$

Na **Eq. 5.21**, b é uma constante de integração e θ = 2B/A = $q\ /q_{sat}$ é a cobertura superficial. A variável q expressa a concentração do componente adsorvido enquanto que q_{sat} é a concentração de saturação da fase sólida. A expressão anterior pode ser colocada em termos da concentração adsorvida, diretamente, e resulta na forma convencional da isoterma de Langmuir.

$$q = \frac{q_{sat}bP}{(1+bP)} \quad \textbf{(5.22)}$$

5.2.3 Derivação de outros modelos de isotermas

Partindo-se da **Eq. 5.20**, reapresentada a seguir (**Eq. 5.23**), e integrando-se sem qualquer simplificação a respeito de B, obtém-se a isoterma de Volmer (**Eq. 5.24**) com θ = B/A.

$$\frac{dp}{p} = -\frac{AdA}{(A-B)^2} \quad \textbf{(5.23)}$$

$$bP = \frac{\theta}{(1-\theta)} \,.\, e^{\left(\frac{\theta}{(1-\theta)}\right)} \quad \textbf{(5.24)}$$

Volmer foi o primeiro pesquisador a contemplar a mobilidade física de moléculas adsorvidas. O termo exponencial descreve a mobilidade das moléculas quando interagem com o sólido. Outra característica interessante desse tipo de isoterma é que ela só permite a descrição de isotermas do tipo I, mesmo com o termo de mobilidade (altamente não linear) sendo significativo.2

A isoterma de Van der Waals **(Eq. 5.26)** pode ser obtida com auxílio da equação de estado de mesmo nome **(Eq. 5.25)**. Sendo α' = 2.α.q_{sat}.

$$(\pi + \frac{\alpha}{A^2})(A - B) = n_{ads}RT \quad \textbf{(5.25)}$$

$$bP = \frac{\theta}{(1-\theta)} \,.\, e^{\left(\frac{\theta}{(1-\theta)}\right)} . e^{\left(\frac{-\alpha'\theta}{RT}\right)} \quad \textbf{(5.26)}$$

A isoterma de Van der Waals também é conhecida como isoterma de Hill-de Boer. Este modelo descreve uma fase adsorvida móvel e interações laterais entre as moléculas adsorvidas. A constante α' é um parâmetro energético; valores positivos são interpretados como uma predominância de forças atrativas entre as moléculas adsorvidas, enquanto valores negativos significam predominância de forças repulsivas. Quando as interações são inexistentes, α' tende ao valor zero (RUTHVEN, 1989).

É possível modelar a camada adsorvida com uma equação expandida com coeficientes viriais. Partindo-se da equação de estado do virial (**Eq. 5.27**), obtém-se a isoterma expandida (**Eq. 5.28**).

$$1 + A_1 n_{ads} + A_2 {n_{ads}}^2 + A_3 {n_{ads}}^3 + \ldots = \frac{\pi}{n_{ads} RT} \qquad \textbf{(5.27)}$$

$$\frac{bp}{n_{ads}} = e^{\left(2A_1 n_{ads} + \frac{3}{2} A_2 n_{ads}^2 + \ldots\right)} \qquad \textbf{(5.28)}$$

Os coeficientes viriais estão relacionados às interações adsorbato-adsorbato e ao número de moléculas adsorvidas. É possível expandir este modelo para a descrição de sistemas multicomponentes, nos quais os coeficientes de desdobram em outras constantes empíricas que contemplam as interações entre moléculas do mesmo componente e entre componentes dissimilares.

5.2.4 Descrição termodinâmica da adsorção em interfaces sólido-líquido.

A extensão da adsorção de um componente de uma solução, para interfaces sólido-líquido é feita partindo-se da expressão que relaciona a fração do componente na mistura, antes do contato com a fase sólida, com a concentração de equilíbrio, dando origem ao *excesso adsorvido* (RUTHVEN, 1984; TÓTH, 2002).

$$n_i^{exc} = n_0 (X_i^0 - X_i) = n_0 \Delta X_i \qquad \textbf{(5.29)}$$

Na expressão anterior, n_0 é o número de mols total da mistura em contato com a superfície, X_i^0 é a fração molar inicial do componente *i* (antes do contato com a fase sólida) e X_i é a fração molar do componente *i* no equilíbrio (após a adsorção).

Desde que, a soma de todas as frações molares são iguais a 1, tem-se que:

$$\sum n_i^{exc} = 0 \qquad \textbf{(5.30)}$$

Como a **Eq. 5.29** trata da relação entre o excesso adsorvido e a fração na fase fluida, a expressão comumente utilizada para relacionar essas quantidades é uma isoterma de excesso, na forma:

$$n_i^{exc} = \frac{aX_i(1-X_i)}{1+bX_i} \quad \textbf{(5.31)}$$

A expressão anterior se aproxima da isoterma de Langmuir quando X_i < 0,1, condição válida na maioria dos processos cromatográficos.

Na literatura, porém, tem sido demonstrado que os modelos utilizados para as isotermas são termodinamicamente inconsistentes, uma vez que tais modelos não obedecem a equação de Gibbs-Duhem (TÓTH, 2003).

5.3 Classificação e descrição de modelos de isotermas de adsorção

A existência de diferentes formas de interação, entre os componentes de uma mistura com a fase sólida e o fato de haver adsorventes com morfologia e natureza química distintas, levou a necessidade da organização e classificação dos diferentes mecanismos de adsorção e dos modelos de isotermas capazes de descrevê-los.

GILES e colaboradores (1974) propuseram uma classificação que prevê quatro principais formas de isotermas, comumente observadas (**Figura 5.5**).

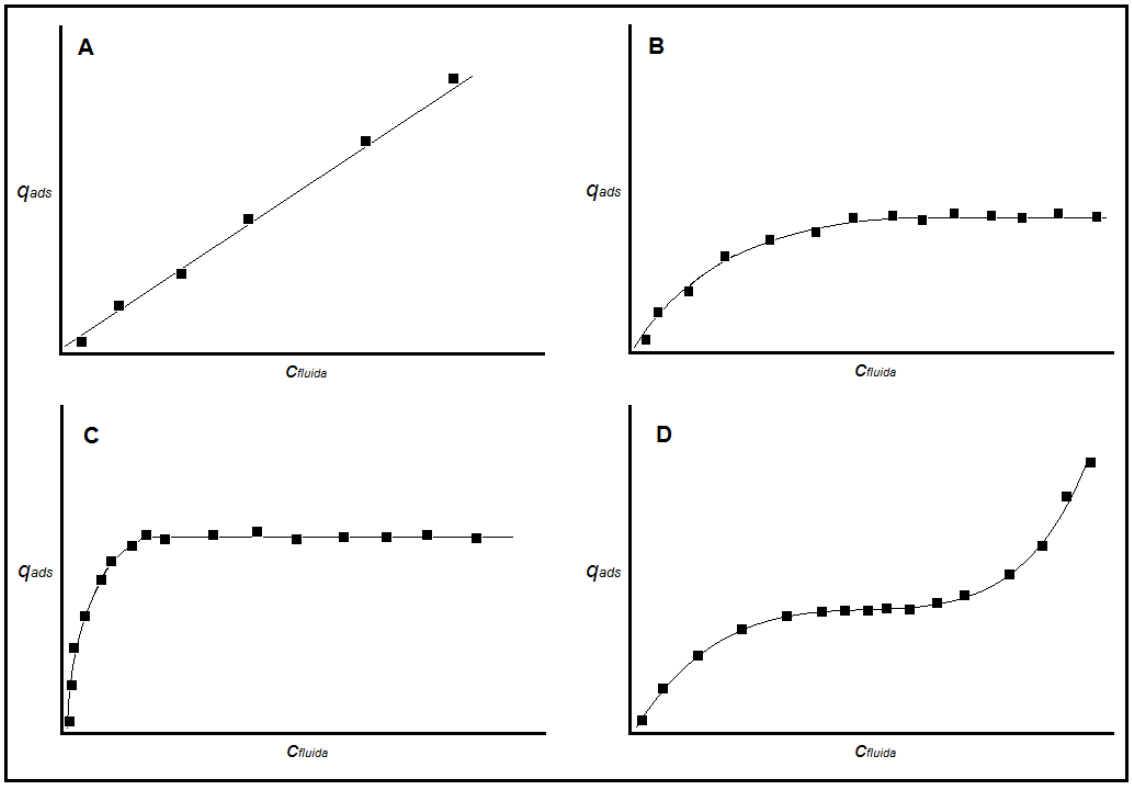


Figura 5.5: Classificação dos tipos de isotermas segundo GILES *et al.* (1974). (**A**) - tipo "C", (**B**) - tipo "L", (**C**) - tipo "H" e (**D**) - tipo "S". Fonte: Adaptado de GILES (1974).

A primeira forma de isoterma (**Figura 5.5-A**) é chamada de isoterma tipo "C". Esta isoterma prevê que a razão entre a concentração do componente na fase estacionária e na fase móvel são constantes. A constante de proporcionalidade é chamada de coeficiente de partição ou de distribuição. Esse modelo tem sido utilizado, principalmente, nos casos em que as concentrações dos componentes são muito baixas (diluição infinita) (LIMOUSIN *et al.*, 2007).

A forma da isoterma tipo "L" prevê que a razão entre as concentrações na fase sólida e fluida decresçam conforme a concentração total do soluto aumentar. A isoterma apresenta então uma forma côncava, o que sugere, fisicamente, que o sólido sofre uma progressiva saturação com o aumento da concentração do soluto (GILES *et al.*, 1960).

A isoterma tipo "H" é um caso, particularmente distinto, da isoterma tipo "L". Ela prevê que o soluto em questão, tem uma afinidade excessivamente elevada pela fase sólida. Essa afinidade seria tão grande que a razão inicial de concentrações teria um valor tendendo ao infinito (LIMOUSIN *et al.*, 2007).

A isoterma tipo "S" descreve uma forma sigmoidal, em que aparece um ponto de inflexão. Fisicamente, interpreta-se que esse tipo de isoterma ocorre nos casos em que há mecanismos distintos, interferindo na adsorção do componente em questão. Esse tipo de isoterma pode descrever o que tem sido experimentalmente observado como *adsorção cooperativa*. Neste tipo de adsorção, um componente, que não possui grande afinidade pela fase sólida, ao adsorver, forma uma camada sobre a superfície, que facilita a adsorção de outras moléculas do mesmo componente ou de outros compostos (GILES *et al.*, 1960; RUTHVEN, 1984).

A descrição apresentada anteriormente engloba grande parte das formas de isotermas experimentalmente observadas. Entretanto, em 1985, uma nova classificação elaborada pela IUPAC foi apresentada. Segundo BALBUENA & GUBBINS (1993), nesta classificação, são previstas seis diferentes formas para as isotermas (**Figura 5.6**).

As isotermas do tipo I são típicas de adsorventes microporosos (diâmetro do poro inferior à 2 nm) e prevêem uma região de saturação, na qual os microporos são completamente preenchidos.

As isotermas dos tipos II e III são típicas de materiais não-porosos, nas quais as interações atrativas entre adsorvato e a fase sólida são fortes (tipo II) e fracas (tipo III), respectivamente.

As isotermas dos tipos IV e V descrevem interações (adsorvato - fase sólida) fortes e fracas, respectivamente, em que o material da fase estacionária é mesoporoso (diâmetro dos poros entre 2 e 50 nm). Este tipo de isoterma também ocorre nos casos em que se observa condensação capilar no interior dos poros, sendo comumente acompanhada de histerese de adsorção. Em mesoporos, a adsorção das moléculas, prosseguiria com a formação de uma monocamada do componente em questão. Em seguida, as moléculas que adentram os poros, formariam multicamadas culminando com o preenchimento dos mesmos. Durante o processo de dessorção, as moléculas que ocupam o espaço dentro dos poros, abandonam uma superfície (monocamada de moléculas adsorvidas) morfológica e quimicamente diferente da superfície real do sólido. Isto interfere significantemente na natureza do processo de dessorção e é pensada, ser esta a origem da histerese observada (AMGARTEM, 2006).

As isotermas do tipo VI são raramente observadas e ocorrem em sistemas cuja fase fluida é gasosa e as interações entre a fase adsorvida e fase sólida são extremamente fortes, gerando diversas camadas de moléculas adsorvidas umas sobre as outras.

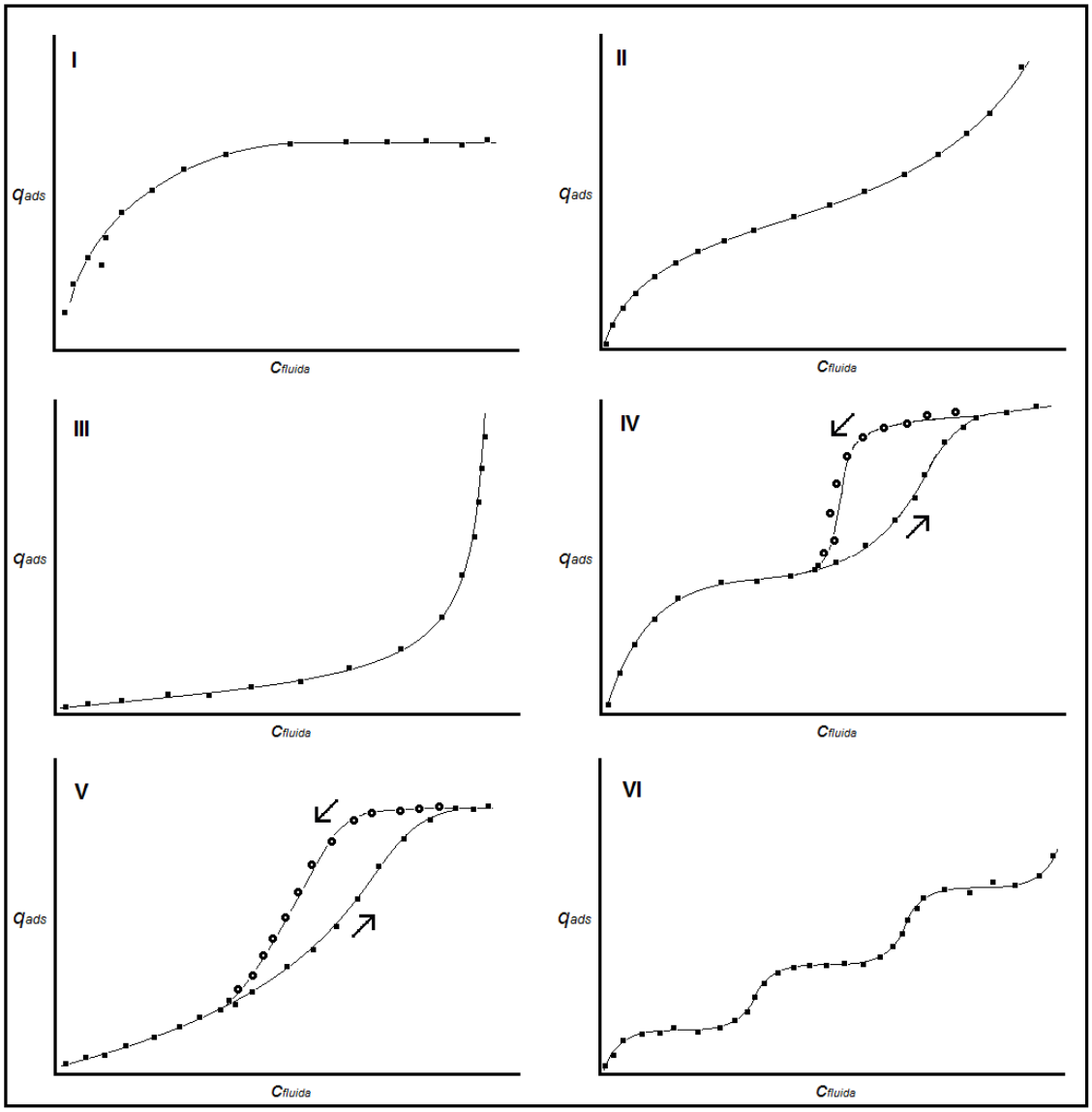


Figura 5.6: Classificação de isotermas segundo a IUPAC. * Evidencia-se nas isotermas tipo IV e V o fenômeno da histerese de adsorção. Fonte: Adaptado de BALBUENA & GUBBINS (1993).

5.4 Modelos de isotermas não-lineares em separações quirais

Os modelos de isotermas lineares, como a isoterma de Henry, são mais adequados para a descrição de dados de equilíbrio nos casos em que as concentrações trabalhadas são muito baixas. Como por exemplo, nas aplicações analíticas da cromatografia.

A cromatografia preparativa envolve a utilização de correntes de alimentação mais concentradas nos componentes de interesse, disto decorre o surgimento de efeitos não lineares sobre equilíbrio de adsorção. Desta forma, os modelos de isotermas utilizados devem contemplar tais efeitos.

5.4.1 Modelo de Langmuir modificado

O modelo tipo Langmuir, o qual já foi apresentado, é largamente utilizado, pois descreve um comportamento linear em baixas concentrações e um comportamento assintótico em altas concentrações, dos componentes de interesse (saturação da fase sólida). Entretanto, nos problemas de separação de componentes quirais (enantiômeros, por exemplo), algumas modificações são introduzidas de forma a descrever a seletividade ou heterogeneidade da fase sólida (FOO & HAMEED, 2010).

A separação de enantiômeros por meio da cromatografia quiral admite que o adsorvente (fase sólida) seja capaz de interagir mais com um dos componentes (preferencialmente) do que com o outro, desacelerando seu movimento axial e promovendo a resolução. Assim, uma modificação comumente introduzida é a de competitividade entre os componentes da mistura. Essa competição é descrita com constantes de afinidade, as quais aparecem no denominador da isoterma de Langmuir (ASNIN, 2012).

Outra, modificação bastante utilizada é a inserção de termos que descrevem sítios de adsorção energeticamente diferentes. Admite-se que a fase sólida é heterogênea e que seja composta de mais de um tipo de sítio de adsorção (geralmente, admite-se a existência de apenas dois tipos de sítios). Um dos sítios é chamado seletivo - maior afinidade por um dos enantiômeros - e o outro não-seletivo - afinidades iguais para ambos componentes (ASNIN, 2012).

O modelo modificado de Langmuir, contemplando a competitividade e heterogeneidade da fase sólida, é mostrado na **Eq. 5.32.** Em que, *i* é o índice denotando cada um dos dois componentes quirais, *s* é o índice para o sítio seletivo e *ns* para o sítio não-seletivo, B_i é a constante de afinidade para cada um dos componentes (sítio seletivo), B_{ns} é a constante de afinidade para o sítio não-seletivo,

Q_{max} representa a capacidade máxima da fase sólida e q_i representa a concentração do componente *i* na fase adsorvida.

$$q_i = \frac{Q_{max,s}.B_i.C_i}{1+B_1.C_1+B_2.C_2} + \frac{Q_{max,ns}.B_{ns}.C_i}{1+B_{ns}.(C_1+C_2)} \qquad i = 1,2 \qquad \textbf{(5.32)}$$

5.4.2 Modelo de Freundlich

O modelo de Freundlich é outro modelo que tem sido utilizado em problemas de separção de enantiômeros, o mesmo, apresenta um comportamento exponencial (ASNIN, 2012) e é descrito, em sua forma mais simples, pela **Eq. 5.33**.

$$q_i = Q_{máx}C_i^n \qquad \textbf{(5.33)}$$

Na equação mencionada, $Q_{máx}$ descreve a capacidade máxima do sólido e n descreve a intensidade da adsorção.

Os modelos do tipo Freundlich são úteis para representar o comportamento de isotermas tipo "L" e "H". Esse modelo tem sido apresentado, em uma forma expandida, para contemplar a competição entre espécies químicas, nos casos de sistemas multicomponentes (FOO & HAMEED, 2010) (**Eq. 5.34**). É importante ressaltar que este modelo e suas expansões são puramente empíricos, não apresentando qualquer base física em sua descrição.

$$q_i = Q_{max}C_i\left(\sum_{j=1}^{m} a_{i,j}C_j^{\,n_j-1}\right) \qquad \textbf{(5.34)}$$

Na expressão anterior, $Q_{máx}$ é a capacidade máxima de adsorção do sólido, $a_{i,j}$ são constantes relacionadas à competitividade entre as m espécies presentes na mistura e n é uma constante adimensional que indica a intensidade da adsorção.

5.4.3 Modelo de Elovich

O modelo de Elovich foi apresentado em 1962, no trabalho de ELOVICH & LARINOV (1962). Neste modelo, admite-se que conforme os sítios presentes são preenchidos, a fase adsorvida torna-se, ela mesma, sítios de adsorção para outras moléculas e assim em diante. O modelo propõem que o número de sítios de adsorção aumenta exponencialmente conforme os componentes adsorvem, sugerindo um mecanismo de adsorção em multicamadas (**Eq. 5.35**).

$$q_i = Q_{E,max} K_E C_i e^{\left(\frac{-q_i}{Q_m}\right)} \quad \textbf{(5.35)}$$

Na equação anterior, $Q_{E,max}$ é a capacidade máxima de adsorção, segundo ELOVICH & LARINOV (1962), K_E é a constante de equilíbrio de Elovich.

5.4.4 Modelo de Temkin

O modelo de Temkin (FOO & HAMEED, 2010; HAMDAOUI & NAFFRECHOUX, 2007) foi construído sob a consideração de que o calor de adsorção diminuí conforme a fração de sítios ocupados pelos adsorvatos aumenta. Essa redução na energia de sorção é suposta uma função linear, da fração de sítios ocupados e ocorre devido às interações adsorvente-adsorvato. O modelo de Temkin é descrito na **Eq. 5.36**.

$$q_i = \frac{RT}{-\Delta H_{ads}} ln(K_0 C_i) \quad \textbf{(5.36)}$$

Na equação anterior, *R* é a constante dos gases ideais, $-\Delta H_{ads}$ é o calor de adsorção, T é a temperatura e K_0 é a constante de equilíbrio de Temkin.

5.4.5 Modelo de Fowler-Guggenheim

A isoterma de Fowler-Guggenheim é outro modelo que considera as interações laterais, entre moléculas adsorvidas, significativa. O modelo é apresentado na **Eq. 5.37**. Na equação, K_{F-G} é a constante de equilíbrio, segundo FOWLER & GUGGENHEIM (1965), θ é a fração de cobertura (fração de sítios ocupados), *R* é a constante dos gases ideais, T é a temperatura do sistema e W_l é o termo que contempla as interações entre as moléculas da fase adsorvida.

$$K_{F-G} C_i = \frac{\theta}{1-\theta} e^{\left(\frac{2\theta W_l}{RT}\right)} \quad \textbf{(5.37)}$$

Na construção deste modelo, os autores consideraram que o calor de adsorção varia linearmente com a fração de sítios ocupados. Dessa forma, são possíveis três casos, no primeiro, o calor de adsorção aumenta com o aumento da fração de sítios ocupados, isto ocorre na situação em que as interações entre as moléculas adsorvidas são atrativas (W_l é positivo). No segundo caso, o calor de adsorção diminui com o aumento da fração de sítios ocupados, isto ocorre devido à interações repulsivas, que desfavorecem a adsorção, entre as moléculas da fase adsorvida (W_l

é negativo). O terceiro caso faz com que a isoterma se reduza à forma do modelo de langmuir pois considera-se que W_l seja 0, ou seja, não há interações laterais entre as moléculas adsorvidas.

5.4.6 Modelo de Kiselev

A dedução do modelo de Kiselev foi baseada na teoria clássica de equilíbrio de soluções não-ideais e contempla, em sua formulação, termos que estão relacionados às interações adsorbato-adsorbato e adsorbato-adsorvente (HAMDAOUI & NAFFRECHOUX, 2007) (**Eq. 5.38**).

$$K_i C_i = \frac{\theta}{(1-\theta)(1+K_n\theta)} \qquad \textbf{(5.38)}$$

Na equação mostrada anteriormente, K_i e K_n são as constantes de equilíbrio relacionadas às interações adsorbato-adsorvente e adsorbato-adsorbato, respectivamente. Estes parâmetros são derivados a partir de relações com os coeficientes de atividade do componente de interesse na fase adsorvida e na fase fluida (volumar).

5.4.7 Modelo com expansão em termos quadráticos

Este modelo tem uso comum na literatura e os passos para sua dedução podem ser encontrados no trabalho de LIN *et al.* (1989).

Segundo os autores, o modelo é uma modificação da isoterma de Langmuir para sistemas multicomponentes, levando-se em consideração a competição mútua, entre as espécies químicas, pelos sítios de adsorção. A base geral para tal modelo reside na termodinâmica estatística, a qual estabelece que modelos de isotermas de adsorção, expressos por uma razão de polinômios, representam adequadamente sistemas multicomponentes competitivos e heterogêneos.

A dedução do modelo, no entanto, passa pela definição de equações relacionadas às taxas de transferência de massa entre as fases adsorvida e móvel. Essas equações contemplam parâmetros relacionados à natureza do solvente, dos componentes e das interações intermoleculares entre tais elementos. Após o desenvolvimento e simplificação das expressões, considerando-se o equilíbrio termodinâmico, os autores obtiveram a expressão apresentada a seguir (**Eq. 5.39**).

$$q_i = \frac{A_i C_i + A_{ij} C_i C_j + A_{ii} C_i^2}{1 + B_i C_i + B_j C_j + B_{ij} C_i C_j + B_{ii} C_i^2 + B_{jj} C_j^2} \quad \textbf{(5.39)}$$

Na qual, *i* e *j* representam dois componentes distintos. Os parâmetros definidos com duplo índice levam em consideração as interações entre os componentes do sistema.

Por razões relacionadas às dificuldades computacionais envolvidas na estimação de muitos parâmetros, os autores propuseram uma simplificação em que os termos de 2º ordem (os quais contabilizam a influência de um componente na taxa de dessorção de outro componente) são negligenciados, resultando na **Eq. 5.40**.

$$q_i = \frac{A_i C_i + A_{ij} C_i C_j}{1 + B_i C_i + B_j C_j + B_{ij} C_i C_j} \quad \textbf{(5.40)}$$

Uma das vantagens desse modelo reside no fato de as constantes de ajuste estarem relacionadas, diretamente, às taxas de transferência de massa dos componentes, além de contemplarem a influência de outras espécies presentes no sistema.

5.5 Modelos de isotermas baseados na termodinâmica estatística

5.5.1 Modelo para gás reticulado

O modelo de adsorção para um gás reticulado é o mais simples de ser deduzido a partir dos conceitos oriundos da termodinâmica estatística. Esse modelo é importante, pois fornece uma compreensão dos fundamentos e funções matemáticas básicas da termodinâmica estatística, as quais são utilizadas, posteriormente, para a dedução de modelos mais complexos.

Inicia-se pela apresentação qualitativa das características e considerações do modelo. Primeiramente, visualiza-se a fase sólida adsorvente como uma fase ideal; sítios de adsorção uniformemente distribuídos sobre uma superfície plana e homogênea e cuja interação com as moléculas da fase fluida são independentes dos outros sítios. Entretanto, cada sítio pode ser distinguido uns dos outros e pode ser ocupado com apenas uma molécula. A fase fluida é admitida ser formada de moléculas indistinguíveis e ao adsorverem não interagem umas com as outras (HILL, 2012).

Para uma visualização física e didática do fenômeno descrito, representa-se a superfície do material adsorvente como uma placa plana contendo cavidades, que representam os sítios de adsorção.

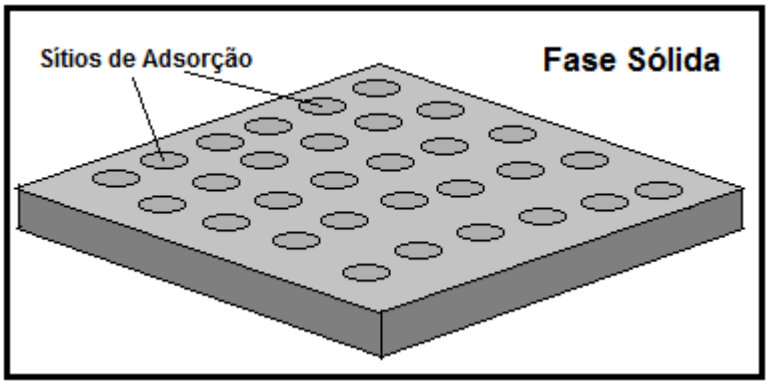


Figura 5.7: Representação da fase sólida considerada no desenvolvimento do modelo para gás ideal reticulado.

Deseja-se obter a *função de partição canônica* que descreve o sistema formado por um material adsorvente contendo M sítios, e N moléculas do adsorvato. No primeiro momento, considera-se que M (número de sítios) seja igual N.

A função de partição é definida como uma soma sobre estados e expressa como as probabilidades são particionadas entre os diferentes microestados, baseado em seus níveis de energia indivíduais. Dessa forma, esta função descreve o número total de diferentes formas que uma série de elementos podem ser combinados e organizados para formar um dado sistema. Sendo estas combinações, ponderadas pela distribuição de Boltzmann.

A função de partição canônica pode ser obtida a partir da *função de partição molecular*, a qual contabiliza todas as diferentes configurações internas (modos vibracionais, rotacionais, torsionais, eletrônicos, etc) que uma molécula pode assumir.

Assim, representa-se a função de partição molecular por q_{mol}. A função de partição canônica, considera os M sítios independentes e distinguíveis, N moléculas indistinguíveis e o fato de M igual a N a saturação máxima. A função de partição para adsorção ideal é apresentada na **Eq. 5.41**.

$$Q(N, M, T) = q_{mol}^{N} \quad \textbf{(5.41)}$$

Essa equação demonstra que, para todos os sítios, como os mesmos são independentes, a função de partição molecular é a mesma, ou seja, não há uma influência, das moléculas adsorvidas, sobre as configurações assumidas pelas suas vizinhas (**Figura 5.8**). Desse modo, para N moléculas a função de partição canônica é q_{mol}^{N}.

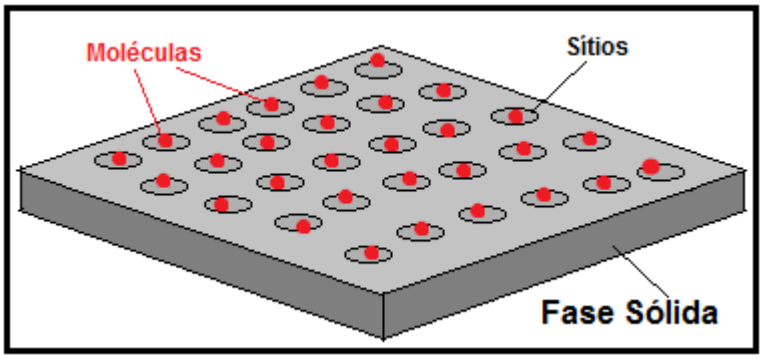


Figura 5.8: Representação da primeira consideração do modelo: N moléculas adsorvem em M sítios, sendo o número de sítios igual ao de moléculas (N = M). Fonte: Elaborado pelo Autor.

Por outro lado, para um sistema com um número de sítios, M, maior que N moléculas é necessário inserir um fator contabilizando a degenerescência do sistema (**Eq. 5.42**).

$$Q(N, M, T) = \frac{M! q^{N}}{N!(M-N)!} \quad \textbf{(5.42)}$$

Como o número de sítios é maior que o de moléculas, combinações equivalentes são possíveis, porém só podem ser contadas apenas uma vez. Desse modo, considera-se somente as diferentes formas da distribuição de N moléculas sobre os M sítios (**Figura 5.9**).

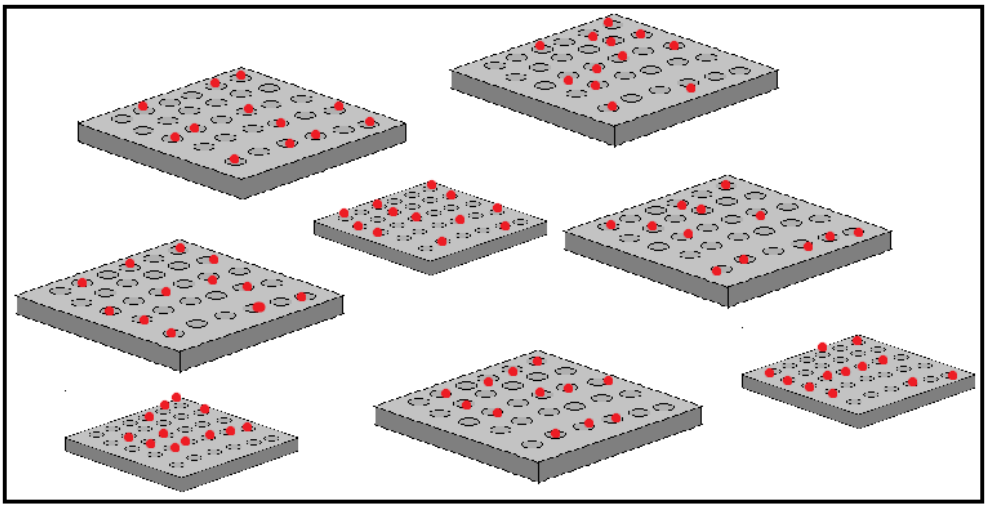


Figura 5.9: Representação para o caso do número de moléculas inferior ao número de sítios. Várias combinações são possíveis, além de combinações equivalentes, porém contabilizadas uma única vez. Fonte: Elaborado pelo Autor.

Neste ponto, pode-se utilizar a *aproximação de Stirling* (**Eq. 5.43**), para evitar o trabalho com fatoriais e simplificar a expressão para $Q(N, M, T)$ (**Eq. 5.44**).

$$n! \approx \sqrt{2\pi n}\left(\frac{n}{e}\right)^n \tag{5.43}$$

$$\ln(Q) = M ln\, M - N ln\, N - (M - N)\ln(M - N) + N ln\, q \tag{5.44}$$

A expressão básica da termodinâmica para a energia, da fase adsorvida, é expressa na **Eq. 5.45**, na qual Φ é a energia relacionada ao espalhamento do adsorvato e μ é o potencial químico.

$$dE = TdS - \Phi dM + \mu dN \tag{5.45}$$

É conhecido que as propriedades termodinâmicas podem ser relacionadas com a função de partição do sistema. Disto advém que o potencial da fase pode ser expresso pela **Eq. 5.46**.

$$\frac{\mu}{kT} = \left(\frac{\partial ln\, Q}{\partial N}\right)\Big|_{M,T} \tag{5.46}$$

$$\frac{\mu}{kT} = \frac{\ln\theta}{(1-\theta)q} \tag{5.47}$$

Na equação anterior, θ é a razão N/M, ou seja a fração de sítios ocupada pelas moléculas.

A **Eq. 5.47** descreve o potencial químico para a fase adsorvida. Supondo que esta fase esteja em equilíbrio com uma fase fluida (**Figura 5.10**), considerada ser um gás ideal, a **Eq. 5.48** descreve o potencial químico para esta fase fluida a qual é igual ao potencial químico da fase adsorvida (**Eq. 5.49**).

$$\frac{\mu_{gás}}{kT} = \frac{\mu^0(T)}{kT} + \ln p \qquad \textbf{(5.48)}$$

$$\frac{\mu}{kT} = \frac{\ln\theta}{(1-\theta)q} = \frac{\mu_{gás}}{kT} = \frac{\mu^0(T)}{kT} + \ln p \qquad \textbf{(5.49)}$$

A expressão final para θ é apresentada na **Eq. 5.50**.

$$\theta(p,T) = \frac{\chi(T)p}{1+\chi(T)p} \qquad \textbf{(5.50)}$$

$$\chi(T) = q(T)e^{\frac{\mu^0(T)}{kT}} \qquad \textbf{(5.51)}$$

A **Eq. 5.50** relaciona diretamente a fração ocupada de sítios (fase adsorvida) com a pressão parcial na fase fluida. Assim, a expressão é a isoterma de adsorção do tipo Langmuir, pois quando $p \rightarrow 0$, $\theta \rightarrow \chi p$ e quando $p \rightarrow \infty$, $\theta \rightarrow 1$. Além disso, a expressão para $\chi(T)$, a qual pode ser avaliada por meio da mecânica estatística, é interpretada com maior significância física.

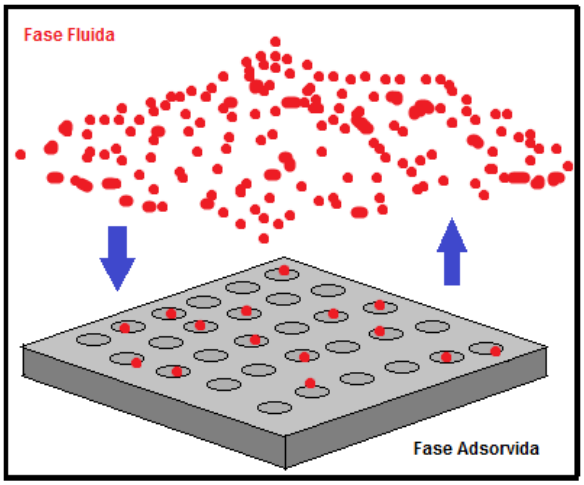


Figura 5.10: Representação do equilíbrio entre as fases adsorvida e fluida (reservatório de partículas).

Outras expressões, para o equilíbrio entre fases adsorvida e fluida, podem ser obtidas, seguindo-se etapas semelhantes às mostradas anteriormente.

5.5.2 Modelo de isoterma deduzido a partir da função de partição grande-canônica

Uma outra abordagem para a dedução de modelos de isotermas, parte da utilização da função de partição grande-canônica. Segundo HILL (2012), esta abordagem seria mais apropriada, pois esta função é adequada para a descrição de sistemas que apresentam equilíbrio de fases.

A estrutura conceitual do modelo permanece a mesma: N moléculas *indistinguíveis* adsorvem sobre M sítios *equivalentes, independentes e distinguíveis*.

Introduz-se, então, a variável *s*, a qual contabiliza o número de moléculas adsorvidas em um dado sítio. O valor de s pode variar entre zero e s_{max} (número máximo de moléculas adsorvidas). A função de partição molecular de um dado sítio contendo *s* moléculas é, assim, descrita pela **Eq. 5.52**.

$$q(s) = \sum_j \frac{-\varepsilon_j(s)}{kT} \qquad \textbf{(5.52)}$$

O somatório contabiliza as *j* interações possíveis com energia ε_j, que podem haver entre *s* moléculas num dado sítio.

Dado que o número de sítios, dos M sítios disponíveis, contendo s moléculas seja a_s, a função de partição canônica do sistema é representada pela **Eq. 5.53**.

$$Q(N,M,T) = \sum_{a_s} \frac{M!q(0)^{a_0}\, q(1)^{a_1}\, q(2)^{a_2} \ldots q(s_{max})^{a_{s_{max}}}}{a_0!\, a_1!\, a_2! \ldots a_{s_{max}}!} \quad \textbf{(5.53)}$$

Sendo, entretanto, que o somatório de todos os possíveis valores de a_s resultam no número total de sítios, M. Além disso, o somatório entre os possíveis valores de $s.a_s$ devem resultar em N moléculas.

A função de partição grande-canônica é obtida por meio da soma de todas as funções de partição canônicas, ponderadas por um termo λ, relacionado ao potencial químico do sistema (**Eq. 5.54 e 5.55**).

$$\Xi = \sum_{N=0}^{s_{max}M} Q(N,M,T)\lambda^N \quad \textbf{(5.54)}$$

$$\Xi = \sum_{a_s} \frac{M!q(0)^{a_0}[q(1)\lambda\ \ ]^{a_1}[q(2)\lambda^2]^{a_2} \ldots [q(s_{max})\lambda^{s_{max}}]^{a_{s_{max}}}}{a_0!\, a_1!\, a_2! \ldots a_{s_{max}}!} \quad \textbf{(5.55)}$$

A expressão anterior pode ser simplificada aplicando-se *o teorema multinomial*, também conhecido como *polinômio de Leibniz* (**Eq. 5.56**). Tal teorema, nada mais é do que uma a generalização do teorema binomial e é obtido pela extensão do somatório a todos os valores inteiros não negativos α_0, α_1, α_2,..., α_p, sujeito à restrição imposta pela **Eq. 5.57** (MORGADO *et al.*, 2002).

$$\left(x_1 + x_2 + x_3 + \ldots + x_p\right)^n = \sum_{\alpha} \frac{n!}{\alpha_1!\alpha_2!\alpha_3! \ldots \alpha_p!} x_1^{\alpha_1} x_2^{\alpha_2} x_3^{\alpha_3} \ldots x_p^{\alpha_p} \quad \textbf{(5.56)}$$

$$\alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3 + \ldots + \alpha_p = n \quad \textbf{(5.57)}$$

Aplicando-se o teorema, obtém-se a **Eq. 5.58**.

$$\Xi(\lambda,M,T) = \xi(\lambda,T)^M \quad \textbf{5.58)}$$

Na qual, a função ξ é expressa por:

$$\xi = q(0) + q(1)\lambda + q(2)\lambda^2 + \cdots + q(s_{max})\lambda^{s_{max}} \quad \textbf{(5.59)}$$

A expressão para ξ tem a forma da função de partição grande canônica, porém referindo-se a um único sítio.

A modelagem de diferentes tipos de sítios, o que, fisicamente, representaria a heterogeneidade da fase sólida, considerando-se a hipótese de que os diferentes sítios são independentes pode ser realizada utilizando-se a **Eq. 5.60**.

$$\Xi(\lambda, M, T) = \xi_1^M \xi_2^N \xi_3^O \ldots \xi_x^P \quad \textbf{(5.60)}$$

Na equação anterior, as funções ξ são polinômios definidos para M sítios do tipo 1, N sítios do tipo 2, O sítios do tipo 3, ..., P sítios do tipo x, conforme ilustrado na **Figura 5.11**.

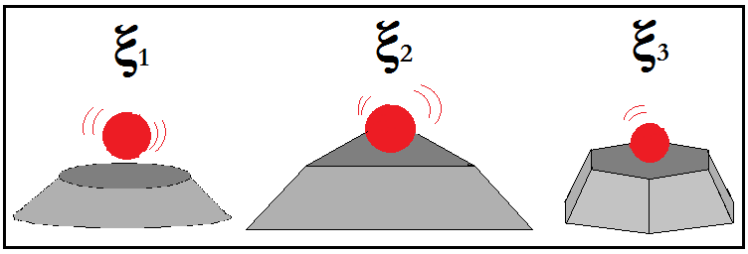


Figura 5.11: Representação de diferentes tipos de sítios. A distribuição das moléculas sobre cada tipo de sítios é descrita por uma função ξ distinta para cada tipo de sítio.

Considera-se então que cada um dos M sítios formam subsistemas, os quais estão em equilíbrio uns com os outros e com um reservatório de partículas.

Como o sistema está em equilíbrio o potencial químico e a temperatura para cada subsistema são os mesmos do reservatório de partículas que, na prática representa um fluido ou um gás, em contato com a fase sólida.

O número médio de partículas presentes no sistema macroscópico formado por todos os M sítios é calculado como:

$$\bar{N} = \lambda \left(\frac{\partial \ln \Xi}{\partial \lambda}\right)\Big|_{M,T} = M\,\lambda \left(\frac{\partial \ln \xi}{\partial \lambda}\right)\Big|_{T} \quad \textbf{(5.61)}$$

$$\bar{s} = \frac{\bar{N}}{M} = \lambda \left(\frac{\partial \ln \xi}{\partial \lambda}\right)\Big|_{T} = \frac{\sum_{s=0}^{s_{max}} s q(s) \lambda^s}{q(s)\lambda^s} \quad \textbf{(5.62)}$$

A **Eq. 5.62** descreve o número médio de moléculas por sítio e é a própria expressão para a isoterma estatística oriunda da função de partição grande canônica.

É conveniente exemplificar o uso do modelo de isoterma com algumas aplicações.

Iniciando pela modelagem de um gás ideal reticulado, o valor de s, segundo as considerações do modelo, apresentadas na **Seção 5.5.1**, pode ser 0 ou 1, significando ausência ou presença de apenas uma molécula adsorvida, respectivamente. Assim, tem-se que q (0) = 1 e q (1) = q, o que resulta em:

$$\xi = 1 + q\lambda \tag{5.63}$$

$$\bar{s} = \theta = \lambda\left(\frac{\partial \ln \xi}{\partial \lambda}\right)\Big|_T = \frac{q\lambda}{1 + q\lambda} \tag{5.64}$$

Observa-se que a expressão obtida é a mesma dada pela **Eq. 5.50** na **Seção 5.5.1**.

Supondo agora, que um sítio seja composto de duas regiões adjacentes capazes de adsorver, cada uma, uma única molécula, com a função de partição q_1 para a região 1 e q_2 para a região 2. Admite-se também o surgimento de uma interação potencial, w, entre duas moléculas que adsorvem nas regiões do sítio, conforme ilustrado na **Figura 5.12**.

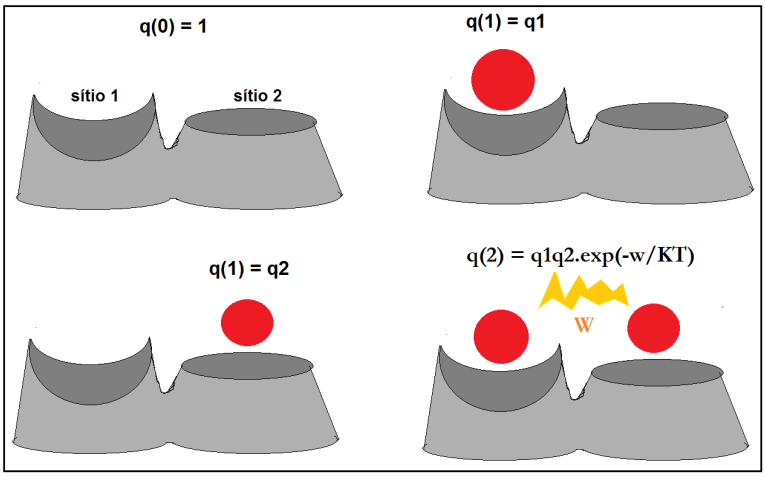


Figura 5.12: Ilustração das possíveis configurações do sítio formado por duas regiões distintas. Uma única configuração é possível quando não há moléculas adsorvidas. Quando uma única molécula adsorve, duas funções de partição molecular, para cada região do sítio, são possíveis. Quando duas moléculas adsorvem, uma em cada sítio, a função de partição deve contabilizar a energia de interação entre as mesmas, segundo as considerações do modelo.

Considerando-se todos os possíveis estados dos pares de regiões que constituem os sítios, tem-se que:

$$q(0) = 1,\ q(1) = q_1 + q_2,\ q(2) = q_1 q_2 e^{-w/kT}$$

$$\xi = 1 + (q_1 + q_2)\lambda + q_1 q_2 e^{-w/kT}\lambda^2 \qquad \textbf{(5.65)}$$

A expressão para a isoterma apresenta-se como:

$$\bar{s} = \frac{\bar{N}}{M} = \frac{(q_1 + q_2)\lambda + 2q_1 q_2 e^{-w/kT}\lambda^2}{1 + (q_1 + q_2)\lambda + q_1 q_2 e^{-w/kT}\lambda^2} \qquad \textbf{(5.66)}$$

Observa-se que a partir da expressão anterior, pode-se igualar o termo λ referente à fase estacionária com o mesmo termo referente à fase fluida. Sabendo que $\lambda = e^{\frac{\mu_0}{kT}}$, tem-se que:

$$\lambda = e^{\mu_{sólida}/kT} = e^{\mu_{fluida}/kT} = e^{\frac{\mu_0}{kT} + \ln C} = e^{\frac{\mu_0}{kT}} C \qquad \textbf{(5.67)}$$

A expressão anterior contempla um parâmetro mensurável C, a concentração do componente de interesse na fase fluida. Substituindo-se λ, na **Eq. 5.66**, pela

expressão anterior e definindo $K_a = (q_1 + q_2)\, e^{\mu_0 /kT}$ e $K_b = q_1 q_2 e^{\left(\mu_0 /kT\right)^2}$, a expressão se torna:

$$\bar{s} = \frac{\bar{N}}{M} = \theta = \frac{K_a C + 2K_b e^{-w/kT} C^2}{1 + K_a C + K_b e^{-w/kT} C^2} \qquad \textbf{(5.68)}$$

Na expressão anterior, θ é a fração de sítios ocupados. A expressão apresenta uma forma mais conveniente e aplicável, além disso, as constantes podem ser, fisicamente, melhor interpretadas.

Outros modelos de isotermas, contemplando a adsorção de moléculas em sítios contendo várias regiões de interação, formação de várias camadas de moléculas e diferentes tipos de interações laterais, entre moléculas adsorvidas, podem ser obtidos a partir da expressão para a isoterma estatística deduzida.

A principal vantagem da abordagem estatística é a capacidade de relacionar os termos da isoterma com configurações e interações específicas que o sistema pode apresentar, sendo útil também para o reconhecimento e seleção das conformações mais significativas para representação do problema real.

5.6 Métodos experimentais para avaliação de modelos de isotermas

Há considerável variedade de métodos de avaliação de modelos de isotermas, descritos na literatura. Em geral, são divididos em dois grupos: métodos estáticos e métodos dinâmicos, os quais serão discutidos nas seções a seguir.

As diferenças entre as diversas metodologias reside na acuracidade de cada técnica, esforço experimental, disponibilidade de equipamentos e instrumentação adequados e disponibilidade de quantidades consideráveis de amostra, em muitos casos, dos próprios componentes puros (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2013; GUIOCHON *et al.*, 2006).

5.6.1 Recomendações técnicas gerais para a avaliação de isotermas

A determinação de isotermas adequadas à sistemas multicomponentes e em condições de sobrecarga (altas concentrações) se tornou um tema de estudo bastante envolvente e, dada sua complexidade - devido à influência de fenômenos como a competitividade entre as espécies químicas presentes, heterogeneidade da

fase sólida e dispersão dos picos - são recomendados alguns passos experimentais, para a adequada avaliação dos modelos e de seus parâmetros.

Uma primeira recomendação, relaciona-se à determinação do valor da constante de Henry para cada componente. Esses valores são obtidos analisando-se experimentos realizados com baixas concentrações dos solutos de interesse (diluição infinita). Dados à baixas concentrações são valiosos, pois, em geral, grande parte dos modelos de isotermas devem convergir para valores da constante de Henry, de forma que, em condições de diluição infinita, a resposta prevista seja coerente com a informação experimental nestas mesmas condições.

A calibração direta do detector é importante para a conversão do sinal de resposta para valores em unidades de concentração. Recomenda-se a determinação de tempos e volumes mortos do sistema cromatográfico e a manutenção da variação da temperatura da coluna em uma faixa de aproximadamente ±1 ºC.

No caso de sistemas multicomponentes, recomenda-se, primeiramente, a determinação dos parâmetros de isotermas para os componentes puros, de modo que a influência de outras espécies esteja ausente. Posteriormente, os parâmetros envolvendo interações entre componentes distintos são determinados, utilizando-se a informação experimental oriunda dos sistemas com mais de um componente. Esse procedimento é útil para a redução do número de parâmetros a serem ajustados.

5.6.2 Métodos estáticos de avaliação de isotermas

5.6.2.1 Método em batelada

Neste método, adiciona-se uma quantidade conhecida do material sólido adsorvente à uma solução contendo os componentes de interesse, em uma dada concentração. A mistura é então agitada por um longo tempo até que o equilíbrio seja alcançado. A concentração final dos componentes de interesse é, então, determinada utilizando-se algum método analítico adequado. A quantidade adsorvida sobre a superfície do sólido pode ser calculada por meio de um balanço de massa, levando-se em consideração, a concentração inicial e final da solução utilizada. Repete-se este procedimento utilizando-se várias soluções de concentrações diferentes, afim de se obter dados para a construção da curva da isoterma (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2013; GUIOCHON *et al.*, 2006).

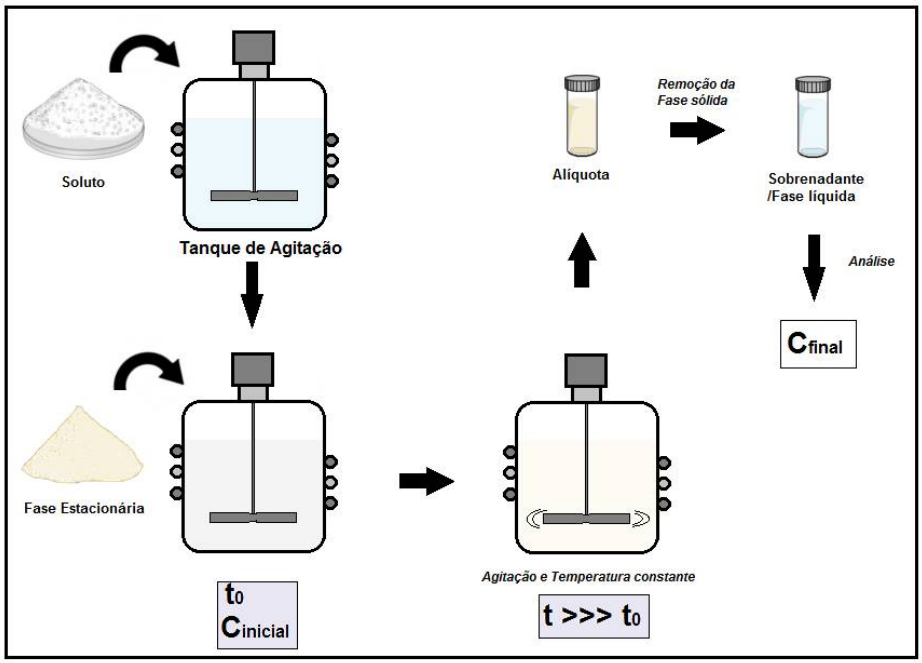


Figura 5.13: Ilustração do procedimento experimental básico para avaliação de dados de equilíbrio de adsorção pelo método em batelada.

Uma desvantagem deste método é que o mesmo consome muito tempo para ser executado, além de ser impreciso, devido à muitos passos do procedimento envolverem trabalho manual. A expansão dos resultados para uma coluna empacotada tem se mostrado inadequada, devido às incertezas relacionadas à porosidade.

5.6.2.2 Método de sorção/dessorção

O método de sorção/dessorção consiste em alimentar à uma coluna, inicialmente livre de solutos, uma solução de concentração conhecida dos componentes de interesse. A alimentação deve ser suficiente para garantir que o equilíbrio seja atingido.

Em seguida, remove-se a coluna do sistema e utilizando-se uma solução de lavagem (solvente puro), limpa-se o sistema de forma a remover resíduos do soluto. A coluna é conectada ao sistema, novamente, e alimenta-se solvente de forma a promover a dessorção dos componentes adsorvidos no material sólido.

O soluto dessorvido da coluna é coletado e analisado de maneira a determinar sua concentração na solução. Estes procedimentos devem ser repetidos alimentando-se soluções de diferentes concentrações para se construir a curva da isoterma.

Este método possui a desvantagem de consumir muito tempo de execução além da necessidade de grandes quantidades de amostra para o preparo das soluções. Entretanto, os resultados obtidos são bastante confiáveis.

5.6.2.3 Método da circulação

O método da circulação é semelhante ao método apresentado anteriormente, no entanto, a solução contendo os solutos de interesse é alimentada ao sistema cromatográfico, configurado em circuito fechado. A passagem da solução é realizada até que se verifique o estabelecimento do equilíbrio (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2013; GUIOCHON *et al.*, 2006).

Pequenas alíquotas da solução são analisadas, por meio dos métodos adequados, e a quantidade adsorvida pode então ser determinada por cálculos de balanço de massa.

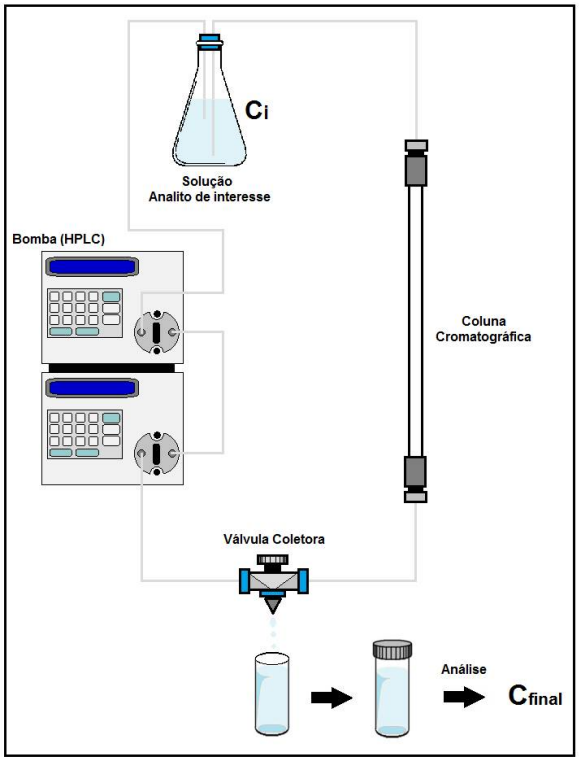


Figura 5.14: Ilustração do procedimento experimental para avaliação de dados de equilíbrio de adsorção por meio do método da circulação.

Soluções de várias concentrações são utilizadas de forma a se obter os vários pontos para construção da curva da isoterma. As desvantagens relacionadas à este procedimento são semelhantes às relacionadas ao método de sorção/dessorção.

5.6.3 Métodos dinâmicos de avaliação de isotermas

5.6.3.1 Análise frontal

Este método é amplamente utilizado para a obtenção de dados de equilíbrio de adsorção. Consiste em analisar o perfil de uma curva de breakthrough (gerada, quando se fornece uma alimentação do tipo pulso de base larga) para se obter o valor da quantidade de amostra adsorvida.

Segundo LIMOUSIN *et al.* (2007), o procedimento se resume em equilibrar a coluna cromatográfica alimentando-se uma solução de concentração inicial C_1 conhecida. Em seguida, num dado intervalo de tempo t_2, altera-se a concentração de alimentação, rapidamente, para um valor C_2. O perfil cromatográfico é registrado durante um determinado período de tempo, o suficiente para garantir a formação de um patamar no sinal de resposta e, em seguida, altera-se novamente a concentração de alimentação passando-se de C_2 para C_1 (**Figura 5.15**).

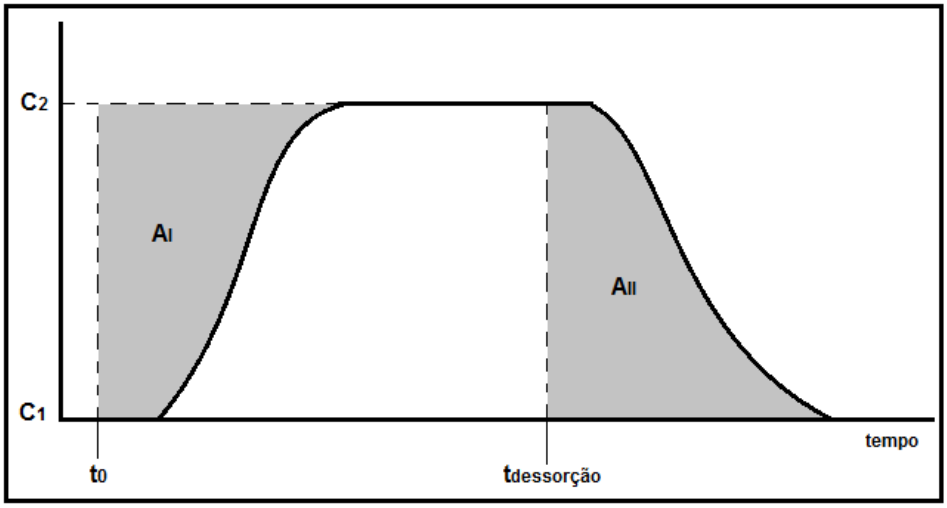


Figura 5.15: Curva de Breaktrough utilizada para a avaliação de dados de equilíbrio de adsorção pelo método da análise frontal.

O balanço de massa integral (**Eq. 5.69**) do componente de interesse é utilizado para calcular a concentração do soluto na fase adsorvida. As áreas sombreadas na **Figura 5.15** representam a região varrida pelo balanço de massa integral. As áreas correspondentes ao processo de adsorção (A_I) e ao processo de dessorção (A_{II}), do componente de interesse, devem ser iguais, para o caso da fisiossorção.

$$V_{planta}(C_2 - C_1) + V_{coluna}\left(\varepsilon_{total}(C_2 - C_1) + (1 - \varepsilon_{total})\big(q(C_2) - q(C_1)\big)\right) = \dot{V}\int_0^{t_{dessorção}}\big(C_2 - C(t)\big)dt \quad \textbf{(5.69)}$$

Várias curvas de *breakthrough,* obtidas com a alimentação de soluções á diferentes concentrações, são necessárias para a construção da curva da isoterma. É recomendado que se realize o aumento da concentração da alimentação, passo-a-passo, de forma a gerar uma "escada" com patamares de valores crescentes de concentração, de forma a economizar em quantidade de amostra.

Este método pode ser utilizado com soluções contendo mais de um componente, no entanto o registro da curva de *breakthrough* deve ser realizado utilizando-se detectores específicos para cada soluto de forma a se obter os perfis separadamente.

5.6.3.2 Análise de frente dispersa

Este método baseia-se na teoria do equilíbrio da cromatografia e na teoria de propagação de ondas. Tais teorias permitem a determinação dos dados de equilíbrio a partir de experimentos dinâmicos.

De acordo com as teorias mencionadas, o tempo de retenção (t_R) à um dado valor de concentração qualquer (C_R) na frente dispersa do cromatograma, obtido pela injeção de um pulso de alimentação, está correlacionado com a derivada da função que descreve a isoterma, no referido ponto (C_R), pela **Eq. 5.70**.

$$\left.\frac{dq}{dc}\right|_{C_R} = \frac{t_R(C_R) - t_0}{t_0}\,\frac{\varepsilon_t}{1 - \varepsilon_t} \quad \textbf{(5.70)}$$

Supondo-se que a substância de interesse possa ser descrita por uma isoterma tipo Langmuir, o fronte disperso terá a forma mostrada na **Figura 5.16**. Assim, o frente dispersa é a própria "cauda" formada durante o processo de dessorção.

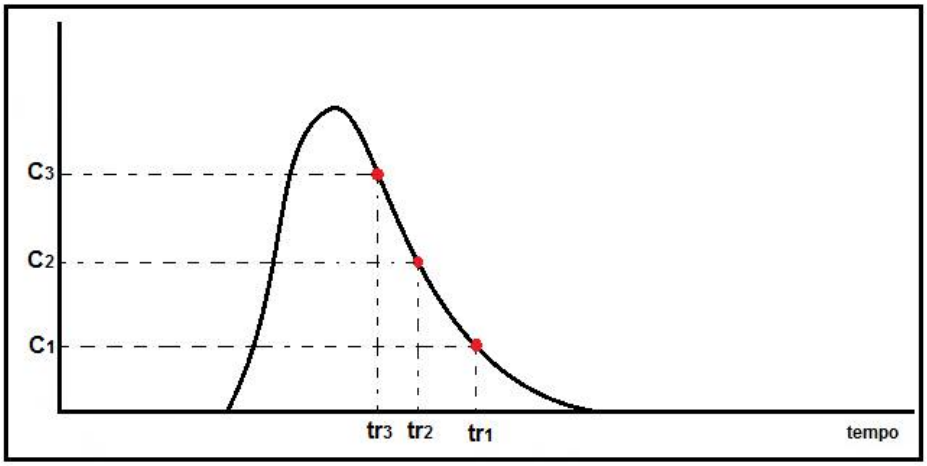


Figura 5.16: Curva gerada pela injeção de um pulso de concentração. Um único pulso é suficiente para a aplicação do método de análise de frente dispersa.

Aplicando-se a **Eq. 5.70**, ao longo da frente dispersa, pode-se obter dados para a construção de todo um segmento da isoterma. Uma das vantagens desse método é a possibilidade de se obter vários pontos da isoterma utilizando-se os dados de apenas um pulso de alimentação (LIMOUSIN *et al.*, 2007; SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2013; GUIOCHON *et al.*, 2006).

A expansão para sistemas multicomponentes implica em alterações na derivada descrita na **Eq. 5.70**. Tais alterações estão longe de serem triviais e assim, por praticidade, este método é aplicado apenas nos casos de sistemas com um único componente.

5.6.3.3 Método do pico máximo

O método do pico máximo ou método do tempo de retenção é uma variação do método de análise de frontes dispersos. A diferença reside no fato de que no método do pico máximo, somente o valor máximo da concentração é analisado, utilizando-se a mesma equação envolvendo a derivada da função que descreve a isoterma (LIMOUSIN *et al.*, 2007).

O pico máximo de concentração é fortemente afetado pelo equilíbrio termodinâmico e pouco sensível aos efeitos cinéticos presentes durante o processo de sorção/dessorção. Deste modo, os dados são mais precisos e refletem com maior acuracidade o equilíbrio de adsorção.

5.6.3.4 Método da perturbação

O método da perturbação consiste em, primeiramente equilibrar a coluna cromatográfica utilizando-se uma solução de concentração conhecida (C_a). Após a formação do platô de concentração, injeta-se na corrente alimentada um pequeno pulso de solução, de concentração ligeiramente maior que C_a, ou o próprio solvente puro (GUIOCHON *et al.*, 2006).

O efeito que se deseja obter é a formação de um pico gaussiano ao longo da linha do platô de concentração (**Figura 5.17**).

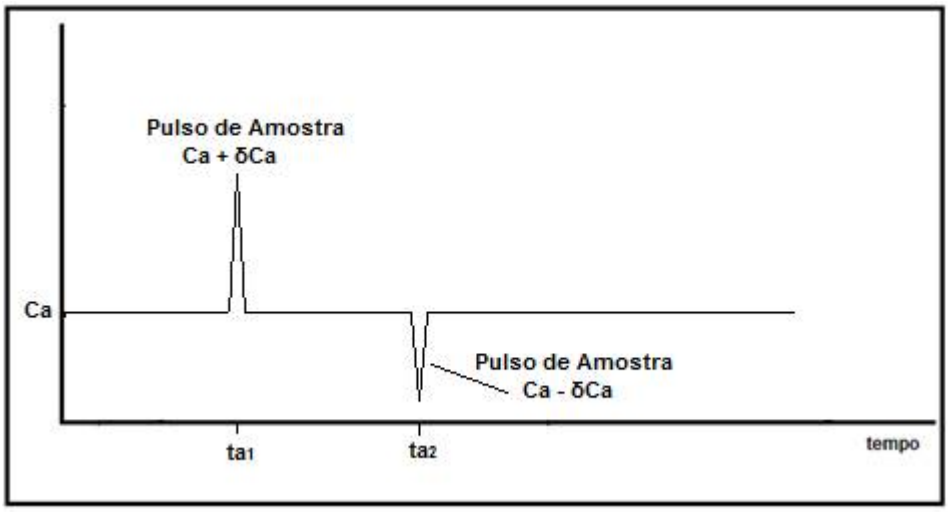


Figura 5.17: Aplicação do método da perturbação. Injeção de pequenos pulsos de amostra ligeiramente superior (ou inferior) à concentração de equilíbrio da coluna (C_a).

O procedimento é repetido em diferentes platôs de concentração para a obtenção de dados de equilíbrio em várias concentrações de alimentação.

O fundamento deste método reside no fato de que pequenas variações na concentração de alimentação, na forma de pulsos, produzem picos simétricos e com tempos de retenção bem definidos. Estes tempos de retenção estão correlacionados com a derivada da função que descreve a isoterma, segundo a **Eq. 5.70**, reapresentada a seguir (**Eq. 5.71**).

$$\left.\frac{dq}{dc}\right|_{C_a} = \frac{t_a(C_a) - t_0}{t_0} \frac{\varepsilon_t}{1 - \varepsilon_t} \qquad \textbf{(5.71)}$$

Este método fornece resultados com boa acuracidade, entretanto deve-se fornecer pulsos que não sejam confundidos com ruídos do sinal de resposta. A extensão para

sistemas multicomponentes é automática, porém as perturbações introduzidas acarretam o aparecimento de tantos picos quantos forem o número de componentes presentes na corrente alimentada.

5.6.3.5 Método inverso

O método inverso consiste na aplicação de metodologias de estimação de parâmetros, no caso, dos parâmetros de ajuste que compõem os diferentes modelos de isotermas.

Este método requer a seleção de um modelo para a coluna e para a isoterma de adsorção. Esses modelos são numericamente resolvidos por meio de algoritmos computacionais adequados de modo a gerar perfis de concentração que possam ser comparados com os perfis obtidos experimentalmente, nas mesmas condições (volumes de injeção, temperatura, faixas de concentração, etc). Paralelamente, necessita-se da implementação de métodos de otimização de forma a automatizar, direcionar e gerir a busca pelos valores dos parâmetros que minimizem a diferença entre os perfis de concentração simulados e experimental (GUIOCHON & LIN, 2003).

A identificação do melhor modelo de isoterma de adsorção requer a repetição do procedimento variando-se a forma dos mesmos. Uma desvantagem deste método é que os erros oriundos do modelo da coluna e de outros parâmetros, como coeficientes de transporte, por exemplo, são acumulados no valores dos parâmetros estimados.

CAPÍTULO VI

DESENVOLVIMENTO DE MODELO ESTATÍSTICO DE ISOTERMAS PARA ADSORÇÃO DE ENANTIÔMEROS

6.1 Comentário inicial sobre a premência de um modelo estatístico referente à adsorção de enantiômeros.

Um dos objetivos do presente trabalho foi a elucidação dos fatores físicos de adsorção, que poderiam estar relacionados às peculiaridades observadas nas formas dos perfis de concentração experimentais, em condições de sobrecarga dos componentes de interesse. A estratégia selecionada para atingir este objetivo foi a análise dos parâmetros oriundos de modelos de isotermas de adsorção.

Diversos tipos de modelos de isotermas, com capacidade para descrever diferentes fenômenos físicos, podem ser encontrados na literatura. Entretanto, grande parte dos modelos possuem parâmetros de ajuste cuja interpretação física não é clara ou está relacionada à múltiplos efeitos físicos simultaneamente.

Desta forma, se faz necessário um modelo de isoterma de adsorção que possuísse parâmetros com uma relação bem definida entre as diferentes formas de interação dos pares sítio/componente e componente/componente (interações entre moléculas adsorvidas).

Outra característica importante, que deve ser contemplada pelo modelo de isoterma, é a capacidade de descrever os efeitos associados à heterogeneidade da fase sólida. Informações oriundas da literatura comprovam que, modelos descrevendo a adsorção a dois sítios (especificamente, para separação de enantiômeros) são melhor ajustados e assim, descrevem com maior fidelidade os perfis experimentais.

Modelos derivados da termodinâmica estatística atendem aos requisitos anteriormente expostos, principalmente, pelo fato de possibilitarem uma compreensão aprofundada dos fenômenos modelados, em nível molecular. Além disso, conforme será apresentado em seção posterior, todos os parâmetros são passíveis de interpretação física inequívoca e, dessa forma, fornecem alguma intuição sobre os processos físicos relevantes no fenômeno adsortivo.

A próxima seção deste capítulo foi dedicada à dedução de um modelo estatístico adequado às necessidades expostas anteriormente. O modelo foi desenvolvido utilizando-se a abordagem descrita por HILL (2012), a qual foi expandida para um sistema binário (enantiômeros) considerando-se uma fase estacionária composta por dois sítios.

6.2 Dedução do modelo de isoterma estatístico para adsorção de enantiômeros - caso generalizado

A dedução do modelo de isoterma estatístico, demonstrada nos próximos parágrafos, tem como ponto de partida a expressão genérica que define a *função de partição grande-canônica* para um único sítio de adsorção, apresentada na **Eq. 6.1**.

$$\Xi(\lambda, M, T) = \xi(\lambda, T)^M \qquad \textbf{(6.1)}$$

Na equação anterior, Ξ é a função de partição grande-canônica para o sistema compreendendo M sítios distinguíveis e independentes. A função ξ é definida para apenas um único sítio de adsorção e tem a forma apresentada pela **Eq. 6.2**.

$$\xi = q(0) + q(1)\lambda + q(2)\lambda^2 + \cdots + q(s_{max})\lambda^{s_{max}} \qquad \textbf{(6.2)}$$

Na qual $q(s)$ é a *função de partição molecular* do sítio contendo *s* moléculas, sendo o número máximo de moléculas por sítio, igual a s_{max}. A função λ está relacionada ao potencial químico do sistema em questão.

Supondo que a fase estacionária seja heterogênea e composta, majoritariamente de dois tipos de sítios, implica que as interações energéticas entre as moléculas adsorvidas são diferentes para cada tipo de sítio.

Arbitra-se que um dos sítios seja capaz de interagir com um dos enantiômeros de uma forma bastante específica sendo capaz de "reconhecê-lo", preferencialmente ao

outro enantiômero. Nomea-se este tipo de sítio como *sítio "quiral"*. Por conseqüência, o outro tipo de sítio recebe a denominação *sítio "aquiral"*, uma vez que considera-se que o mesmo não seja capaz de adsorver seletivamente nenhum dos componentes considerados.

Admite-se que o número de sítios do *tipo "quiral"* e do *tipo "aquiral"* seja M_q e M_{aq}, respectivamente. A **Eq. 6.1** pode ser reescrita na forma da **Eq. 6.3**. O número total de sítio é $M = M_q + M_{aq}$.

$$\Xi(\lambda, M, T) = \xi_q^{M_q} \xi_{aq}^{M_{aq}} \quad \textbf{(6.3)}$$

Supõe-se então, que cada sítio seja composto de duas regiões capazes de adsorver, cada uma, uma única molécula de um dos componentes. O sítio do tipo *"quiral"* possui uma *região A* responsável pela seletividade quiral, em relação à um dos enantiômeros e uma outra *região B*, capaz de adsorver ambos enantiômeros de forma não seletiva. O sítio do tipo *"aquiral"* possui duas regiões *A' e B'*, ambas capazes de adsorver qualquer um dos dois componentes porém, sem qualquer seletividade quiral.

Supõe-se também que a fase fluida contém dois componentes, no caso, dois enantiômeros, cuja identidade (estrutura química) não é relevante para a proposição do modelo.

Dessa forma, segundo HILL (2012), para o caso de dois componentes a função de partição grande-canônica para um dos sítios tem a forma da **Eq. 6.4**. Na equação a seguir, *s* representa o número de moléculas de um dos componentes (1 ou 2 de acordo com os índices). $s_{1,\max}$ e $s_{2,\max}$ representam o número máximo possível de moléculas, de cada componente, que podem adsorver.

$$\xi = \sum_{s_1=0}^{s_{1,\max}} \sum_{s_2=0}^{s_{2,\max}} q(s_1, s_2) \lambda_1^{s_1} \lambda_2^{s_2} \quad \textbf{(6.4)}$$

Na **Figura 6.1** são ilustrados os conceitos para os sítios *"quirais"*, *"aquirais"* e para a representação simplificada dos enantiômeros.

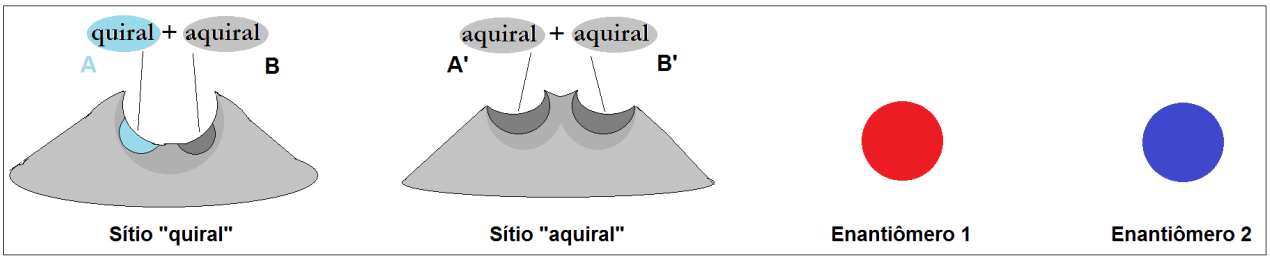


Figura 6.1: Ilustração das premissas desenvolvidas para os sítios de adsorção "quiral e aquiral" e para os dois componentes de interesse (enantiômeros). O *sítio "quiral"* possui uma região com seletividade para um dos enantiômeros (região A, em azul) e uma outra região sem qualquer seletividade (região B, em cinza escuro). O *sítio "aquiral"* possui as duas regiões sem qualquer seletividade quiral (regiões A' e B', em cinza escuro).

A expressão para o cálculo do número médio de moléculas adsorvidas do componente 1 é apresentada na **Eq. 6.5**.

$$\overline{N_1} = \lambda_1 \left(\frac{\partial \ln \Xi}{\partial \lambda_1}\right)\Bigg|_{\lambda_2,T} \qquad \textbf{(6.5)}$$

Calculando-se o logaritmo natural da função de partição grande-canônica, obtém-se:

$$\ln \Xi = \ln\left(\xi_q^{M_q} \xi_{aq}^{M_{aq}}\right) \qquad \textbf{(6.6)}$$

$$\ln \Xi = M_q \ln \xi_q + M_{aq} \ln \xi_{aq} \qquad \textbf{(6.7)}$$

Substituindo-se a **Eq. 6.7** na **Eq. 6.5**, obtém-se:

$$\overline{N_1} = \lambda_1 \left(\frac{\partial \ln \Xi}{\partial \lambda_1}\right)\Bigg|_{\lambda_2,T} = \lambda_1 \left(\frac{\partial (M_q \ln \xi_q + M_{aq} \ln \xi_{aq})}{\partial \lambda_1}\right)\Bigg|_{\lambda_2,T}$$

$$= \lambda_1 M_q \left(\frac{\partial \ln \xi_q}{\partial \lambda_1}\right)\Bigg|_{\lambda_2,T} + \lambda_1 M_{aq} \left(\frac{\partial \ln \xi_{aq}}{\partial \lambda_1}\right)\Bigg|_{\lambda_2,T} \qquad \textbf{(6.8)}$$

A mesma expressão pode ser obtida para o outro enantiômero (componente 2), conforme apresentado na **Eq. 6.9**.

$$\overline{N_2} = \lambda_2 \left(\frac{\partial \ln \Xi}{\partial \lambda_2}\right)\Bigg|_{\lambda_1,T} = \lambda_2 \left(\frac{\partial (M_q \ln \xi_q + M_{aq} \ln \xi_{aq})}{\partial \lambda_2}\right)\Bigg|_{\lambda_1,T}$$

$$= \lambda_2 M_q \left(\frac{\partial \ln \xi_q}{\partial \lambda_2}\right)\Bigg|_{\lambda_1,T} + \lambda_2 M_{aq} \left(\frac{\partial \ln \xi_{aq}}{\partial \lambda_2}\right)\Bigg|_{\lambda_1,T} \qquad \textbf{(6.9)}$$

Dividindo-se as **Eq. 6.8 e 6.9** pelo número total de sítios *M* obtém-se a expressão para o número de moléculas por sítio (**Eq. 6.10 a 6.13**).

$$\overline{s_1} = \frac{\overline{N_1}}{M} = \lambda_1 \frac{M_q}{M_q + M_{aq}} \left(\frac{\partial \ln \xi_q}{\partial \lambda_1} \right) \Bigg|_{\lambda_2, T} + \lambda_1 \frac{M_{aq}}{M_q + M_{aq}} \left(\frac{\partial \ln \xi_{aq}}{\partial \lambda_1} \right) \Bigg|_{\lambda_2, T} \quad \textbf{(6.10)}$$

$$\overline{s_1} = \frac{\overline{N_1}}{M} = \left(\lambda_1 \frac{M_q}{M_q + M_{aq}} \right) \frac{\left(\frac{\partial \xi_q}{\partial \lambda_1} \right) \Big|_{\lambda_2, T}}{\xi_q} + \left(\lambda_1 \frac{M_{aq}}{M_q + M_{aq}} \right) \frac{\left(\frac{\partial \xi_{aq}}{\partial \lambda_1} \right) \Big|_{\lambda_2, T}}{\xi_{aq}} \quad \textbf{(6.11)}$$

De forma similar, para o componente 2:

$$\overline{s_2} = \frac{\overline{N_2}}{M} = \lambda_2 \frac{M_q}{M_q + M_{aq}} \left(\frac{\partial \ln \xi_q}{\partial \lambda_2} \right) \Bigg|_{\lambda_1, T} + \lambda_2 \frac{M_{aq}}{M_q + M_{aq}} \left(\frac{\partial \ln \xi_{aq}}{\partial \lambda_2} \right) \Bigg|_{\lambda_1, T} \quad \textbf{(6.12)}$$

$$\overline{s_2} = \frac{\overline{N_2}}{M} = \left(\lambda_2 \frac{M_q}{M_q + M_{aq}} \right) \frac{\left(\frac{\partial \xi_q}{\partial \lambda_2} \right) \Big|_{\lambda_1, T}}{\xi_q} + \left(\lambda_2 \frac{M_{aq}}{M_q + M_{aq}} \right) \frac{\left(\frac{\partial \xi_{aq}}{\partial \lambda_2} \right) \Big|_{\lambda_1, T}}{\xi_{aq}} \quad \textbf{(6.13)}$$

O próximo passo para o desenvolvimento do modelo consiste em definir a forma das funções de partição grande-canônicas ξ. Para tal, é necessário estabelecer todas as possíveis e relevantes formas de organização entre as moléculas dos dois componentes e as regiões de cada tipo de sítio.

Na **Figura 6.2** são apresentadas as possíveis configurações do sistema constituído pelos sítios *"quirais"* e *"aquirais"* e pelos dois componentes (enantiômeros) 1 e 2.

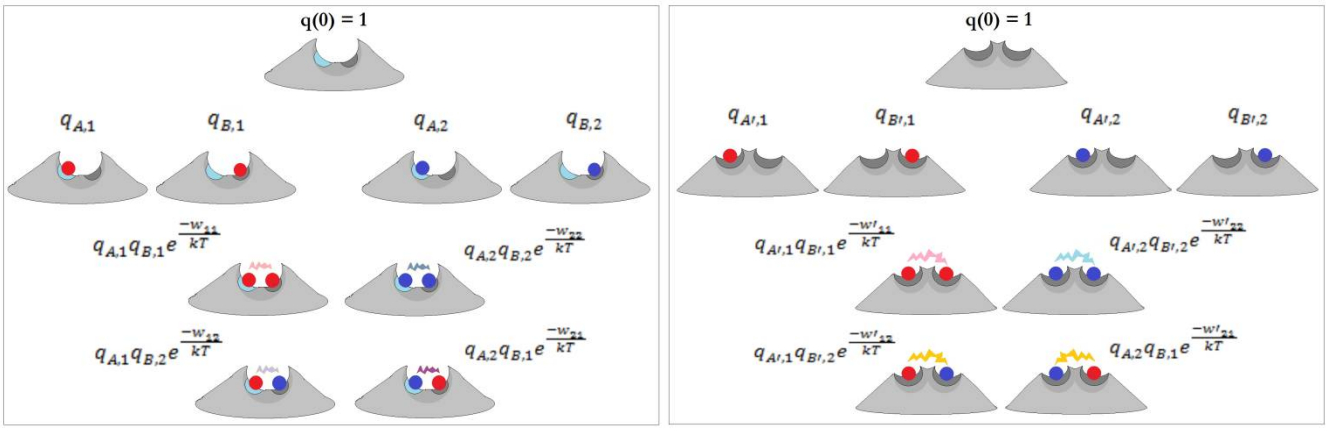


Figura 6.2: Ilustração do modelo conceitual para adsorção de enantiômeros em uma fase sólida constituída de dois tipos de sítios. As imagens ilustram as possíveis configurações assumidas pelo componente 1 (esfera em vermelho) e pelo componente 2 (esfera em azul) ao adsorverem sobre as regiões A ou B dos sítios "quirais" (à esquerda) e "aquirais" (à direita).

Com auxílio da **Figura 6.2**, a função ξ para o *sítio "quiral"* contempla os termos mostrados na **Eq. 6.14**. Na equação a seguir,

$$\xi_q = q(0,0) + q(1,0)\lambda_1 + q(0,1)\lambda_2 +$$

$$+ q(1,1)\lambda_1\lambda_2 + q(2,0){\lambda_1}^2 + q(0,2){\lambda_2}^2 \quad \textbf{(6.14)}$$

Assim, se pode estabelecer que no caso da ausência de moléculas adsorvidas sobre as regiões dos sítios, é possível uma única configuração assim:

$$q(0,0) = 1 \quad \textbf{(6.15)}$$

Para o segundo caso, no qual há apenas uma única molécula adsorvida, são possíveis duas diferentes configurações da função $q(s_1, s_2)$, dessa forma têm-se que:

$$q(1,0) = q_{A,1} + q_{B,1} \quad \textbf{(6.16)}$$

$$q(0,1) = q_{A,2} + q_{B,2} \quad \textbf{(6.17)}$$

Uma única molécula do componente 1 ou 2, ao adsorver sobre uma das regiões do sítio "quiral", A ou B, assume configurações descritas pela função de partição

molecular. A primeiro momento, conforme denotam as **Eq. 6.16 e 617**, as funções de partição são consideradas distintas para cada par região/molécula adsorvida.

Para o caso de duas moléculas adsorvidas, quatro combinações são possíveis: duas combinações, para o caso de duas moléculas do mesmo componente (**Eq. 6.18 e 6.19**) e duas combinações, para o caso de uma molécula de cada componente (**Eq. 6.20**).

$$q(2,0) = q_{A,1}q_{B,1}e^{\frac{-w_{11}}{kT}} \quad \textbf{(6.18)}$$

$$q(0,2) = q_{A,2}q_{B,2}e^{\frac{-w_{22}}{kT}} \quad \textbf{(6.19)}$$

$$q(1,1) = q_{A,1}q_{B,2}e^{\frac{-w_{12}}{kT}} + q_{A,2}q_{B,1}e^{\frac{-w_{21}}{kT}} \quad \textbf{(6.20)}$$

Nas equações anteriores, os termos exponenciais modelam possíveis interações energéticas laterais entre duas moléculas adsorvidas. Os termos multiplicam os produtos das funções de partição pois, quando relevantes, modificam a probabilidade e, por consequência, as configurações permitidas para as as moléculas adsorvidas.

As energias de interação são expressas pelos termos w nos argumentos das exponenciais. Os índices que acompanham o termo w indicam a identidade de cada um dos dois componentes que interagem entre si. Supõe-se, a princípio, que os termos w_{12} *e* w_{21} são diferentes.

A expressão completa para a função ξ_q tem a forma apresentada na **Eq. 6.21**.

$$\xi_q = 1 + (q_{A,1} + q_{B,1})\lambda_1 + (q_{A,2} + q_{B,2})\lambda_2 +$$

$$+ (q_{A,1}q_{B,2}e^{\frac{-w_{12}}{kT}} + q_{A,2}q_{B,1}e^{\frac{-w_{21}}{kT}})\lambda_1\lambda_2 + (q_{A,1}q_{B,1}e^{\frac{-w_{11}}{kT}})\lambda_1{}^2 + (q_{A,2}q_{B,2}e^{\frac{-w_{22}}{kT}})\lambda_2{}^2$$

(6.21)

Para o sítio *"aquiral"*, a expressão para ξ tem a mesma forma da **Eq. 6.14**.

$$\xi_{aq} = q(0,0) + q(1,0)\lambda_1 + q(0,1)\lambda_2 +$$

$$+ q(1,1)\lambda_1\lambda_2 + q(2,0)\lambda_1{}^2 + q(0,2)\lambda_2{}^2 \quad \textbf{(6.22)}$$

De forma semelhante, como no caso do sítio *"quiral"*, obtém-se um conjunto similar de equações para as funções $q(s_1, s_2)$, apresentadas a seguir. Ressalta-se que o índice sobrescrito (') refere-se à grandezas relacionadas aos sítios *"aquirais"*.

Ausência de moléculas.

$$q(0,0) = 1 \quad \textbf{(6.23)}$$

Uma molécula.

$$q(1,0) = q_{A',1} + q_{B',1} \quad \textbf{(6.24)}$$

$$q(0,1) = q_{A',2} + q_{B',2} \quad \textbf{(6.25)}$$

Duas moléculas.

$$q(2,0) = q_{A',1} q_{B',1} e^{\frac{-w'_{11}}{kT}} \quad \textbf{(6.26)}$$

$$q(0,2) = q_{A',2} q_{B',2} e^{\frac{-w'_{22}}{kT}} \quad \textbf{(6.27)}$$

$$q(1,1) = q_{A',1} q_{B',2} e^{\frac{-w'_{12}}{kT}} + q_{A',2} q_{B',1} e^{\frac{-w'_{21}}{kT}} \quad \textbf{(6.28)}$$

Neste ponto é conveniente introduzir uma consideração simplificadora em relação às funções de partição moleculares. Tal consideração é útil pois, por meio dela o número de parâmetros que compõem a isoterma diminuem.

Como tanto o sítio *"quiral"* como o *"aquiral"* possuem regiões que não apresentam seletividade quiral e assim, não apresentam afinidade preferencial por um dos enantiômeros, considera-se que as funções de partição moleculares relacionadas à essas regiões sejam iguais para ambos tipos de sítios. As equações que estabelecem essas igualdades são apresentadas a seguir.

$$q_{A',1} = q_{B',1} = q_{B,1} \quad \textbf{(6.29)}$$

$$q_{A',2} = q_{B',2} = q_{B,2} \quad \textbf{(6.30)}$$

$$w'_{12} = w'_{21} \quad \textbf{(6.31)}$$

Aplicando-se as considerações anteriores, a função ξ_{aq} (**Eq. 6.32**) assume a forma apresentada na **Eq. 6.33**.

$$\xi_{aq} = 1 + (q_{A',1} + q_{B',1})\lambda_1 + (q_{A',2} + q_{B',2})\lambda_2 +$$

$$+ (q_{A',1}q_{B',2}e^{\frac{-w'_{12}}{kT}} + q_{A',2}q_{B',1}e^{\frac{-w'_{21}}{kT}})\lambda_1\lambda_2 + (q_{A',1}q_{B',1}e^{\frac{-w'_{11}}{kT}})\lambda_1{}^2 + (q_{A',2}q_{B',2}e^{\frac{-w'_{22}}{kT}})\lambda_2{}^2$$

(6.32)

$$\xi_{aq} = 1 + 2q_{B,1}\lambda_1 + 2q_{B,2}\lambda_2 + 2q_{B,1}q_{B,2}e^{\frac{-w'_{12}}{kT}}\lambda_1\lambda_2 +$$

$$+ (q_{B,1}^2 e^{\frac{-w'_{11}}{kT}})\lambda_1{}^2 + (q_{B,2}^2 e^{\frac{-w'_{22}}{kT}})\lambda_2{}^2$$

(6.33)

Derivando-se as expressões para ξ_q e ξ_{aq} (**Eq. 6.21 e 6.33**) em relação a λ_1 e λ_2 obtém-se:

$$\left(\frac{\partial\, \xi_q}{\partial \lambda_1}\right)\Bigg|_{\lambda_2,T} = (q_{A,1} + q_{B,1}) + (q_{A,1}q_{B,2}e^{\frac{-w_{12}}{kT}} + q_{A,2}q_{B,1}e^{\frac{-w_{21}}{kT}})\lambda_2 + 2(q_{A,1}q_{B,1}e^{\frac{-w_{11}}{kT}})\lambda_1$$

(6.34)

$$\left(\frac{\partial\, \xi_{aq}}{\partial \lambda_1}\right)\Bigg|_{\lambda_2,T} = 2q_{B,1} + 2q_{B,1}q_{B,2}e^{\frac{-w'_{12}}{kT}}\lambda_2 + 2(q_{B,1}^2 e^{\frac{-w'_{11}}{kT}})\lambda_1$$

(6.35)

$$\left(\frac{\partial\, \xi_q}{\partial \lambda_2}\right)\Bigg|_{\lambda_1,T} = (q_{A,2} + q_{B,2}) + (q_{A,1}q_{B,2}e^{\frac{-w_{12}}{kT}} + q_{A,2}q_{B,1}e^{\frac{-w_{21}}{kT}})\lambda_1 + 2(q_{A,1}q_{B,1}e^{\frac{-w_{22}}{kT}})\lambda_2$$

(6.36)

$$\left(\frac{\partial\, \xi_{aq}}{\partial \lambda_2}\right)\Bigg|_{\lambda_1,T} = 2q_{B,2} + 2q_{B,1}q_{B,2}e^{\frac{-w'_{12}}{kT}}\lambda_1 + 2(q_{B,2}^2 e^{\frac{-w'_{22}}{kT}})\lambda_2$$

(6.37)

Substitui-se as expressões para as derivadas das funções de partição nas **Eq. 6.11 e 6.13**. Têm-se, então, para o componente 1, a isoterma de adsorção na forma da **Eq. 6.38**.

$$\overline{s_1} = f_q \frac{(q_{A,1} + q_{B,1})\lambda_1 + (q_{A,1}q_{B,2}e^{\frac{-w_{12}}{kT}} + q_{A,2}q_{B,1}e^{\frac{-w_{21}}{kT}})\lambda_2\lambda_1 + 2(q_{A,1}q_{B,1}e^{\frac{-w_{11}}{kT}})\lambda_1{}^2}{\xi_q}$$

$$+ f_{aq} \frac{2q_{B,1}\lambda_1 + 2q_{B,1}q_{B,2}e^{\frac{-w'_{12}}{kT}}\lambda_2\lambda_1 + 2(q_{B,1}^2 e^{\frac{-w'_{11}}{kT}})\lambda_1{}^2}{\xi_{aq}}$$

(6.38)

Similarmente, para o componente 2, obtêm-se a **Eq. 6.39**.

$$\overline{s_2} = f_q \frac{(q_{A,2} + q_{B,2})\lambda_2 + (q_{A,1}q_{B,2}e^{\frac{-w_{12}}{kT}} + q_{A,2}q_{B,1}e^{\frac{-w_{21}}{kT}})\lambda_1\lambda_2 + 2(q_{A,1}q_{B,1}e^{\frac{-w_{22}}{kT}})\lambda_2{}^2}{\xi_q}$$

$$+ f_{aq} \frac{2q_{B,2}\lambda_2 + 2q_{B,1}q_{B,2}e^{\frac{-w'_{12}}{kT}}\lambda_1\lambda_2 + 2(q_{B,2}^2 e^{\frac{-w'_{22}}{kT}})\lambda_2{}^2}{\xi_{aq}}$$

(6.39)

Sendo f_q e f_{aq} as frações de sítios *"quirais" e "aquirais"* (**Eq. 6.40 e 6.41**), respectivamente, sujeitas à restrição imposta pela **Eq. 6.42**.

$$f_q = \frac{M_q}{M_q + M_{aq}} \quad \textbf{(6.40)}$$

$$f_{aq} = \frac{M_{aq}}{M_q + M_{aq}} \quad \textbf{(6.41)}$$

$$f_q + f_{aq} = 1 \quad \textbf{(6.42)}$$

Como as fases adsorvida e fluida estão em equilíbrio, a expressão para λ_1 e λ_2 podem ser desenvolvidas de modo a explicitar a concentração de cada componente na fase fluida, a qual é, exatamente, o parâmetro experimentalmente mensurável.

$$\lambda_{sólida,i} = e^{\frac{\mu_{sólida,i}}{kT}} \qquad \lambda_{fluida,i} = e^{\frac{\mu_{fluida,i}}{kT}} \quad \textbf{(6.43)}$$

$$\lambda_{sólida,i} = \lambda_{fluida,i} \quad \textbf{(6.44)}$$

$$\lambda_{fluida,i} = e^{\frac{\mu_{fluida,i}{}^0}{kT} + \ln C_i} \quad \textbf{(6.45)}$$

$$\lambda_{fluida,i} = e^{\frac{\mu_{fluida,i}{}^0}{kT}} C_i \quad \textbf{(6.46)}$$

Nas equações anteriores, *i* assume os valores 1 ou 2, referindo-se aos componentes 1 ou 2, respectivamente. A expressão para λ_i é válida considerando-se que a fase líquida tem comportamento tendendo ao de uma solução ideal.

As **Eq. 6.38 e 6.39** são verdadeiramente as expressões para as isotermas de adsorção. Os parâmetros das equações estão imbuídos de maior significância física, pelo fato de estarem correlacionados com as funções de partição moleculares e com as energias de interação intermolecular.

A isoterma estatística deduzida contempla efeitos relativos à heterogeneidade da fase sólida (fração de sítios, f_q *e* f_{aq}), interações lateriais (parâmetro de energia, w) e constantes de equilíbrio (funções de partição, q). Entretanto, é importante ressaltar que tais efeitos são adequadamente descritos, considerando-se as restrições e considerações estabelecidas durante o processo de criação do modelo conceitual.

Outros modelos de isotermas podem ser deduzidos, por meio de procedimentos semelhantes, a fim de se obter expressões capazes de descrever configurações específicas, que podem ser assumidas pelo par sítio/componente.

6.3 Considerações para simplificação do modelo

O modelo deduzido e apresentado na seção anterior, possui uma grande quantidade de parâmetros a serem ajustados, o que é uma característica inconveniente quando se trata do problema de estimação de parâmetros.

Nesta seção, são propostas algumas simplificações em relação ao modelo estatístico, com o objetivo de reconhecer a importância e significância dos vários parâmetros na descrição dos perfis de resposta experimentais.

Primeiramente, com a substituição dos termos λ_1 e λ_2 nas expressões para as isotermas, de forma a evidenciar o termo de concentração de cada componente, surge o termo referente à exponencial do potencial químico na condição padrão ($e^{\mu_{fluida,i}{}^0/kT}$). Este termo pode ser combinado com as funções de partição moleculares e condensados nas variáveis $K_{j,i}$ (constantes de equilíbrio), em que *j* refere-se a região do sítio e *i* ao componente, conforme demonstrado a seguir.

$$K_{A,1} = q_{A,1} e^{\frac{\mu_{fluida,1}{}^0}{kT}} \qquad K_{B,1} = q_{B,1} e^{\frac{\mu_{fluida,1}{}^0}{kT}} \tag{6.47}$$

$$K_{A,2} = q_{A,2} e^{\frac{\mu_{fluida,2}{}^{0}}{kT}} \qquad K_{B,2} = q_{B,2} e^{\frac{\mu_{fluida,2}{}^{0}}{kT}} \tag{6.48}$$

Como primeira aproximação, considerou-se que a adsorção descrita pelas constantes $K_{A,1}$, $K_{B,1}$ e $K_{B,2}$ são equivalentes e iguais a K_{aq}, sendo a constante $K_{A,2}$ significativamente distinta das outras e igual a K_q.

$$K_{A,1} = K_{B,1} = K_{B,2} = \boldsymbol{K_{aq}} \tag{6.49}$$

$$K_{A,2} = \boldsymbol{K_q} \tag{6.50}$$

Em relação ao termos de energia de interação lateral (W), considerou-se que somente W_{22} é significativamente distinto dos outros termos, os quais foram tomados como equivalentes.

$$W_{22} = \boldsymbol{W_q} \tag{6.51}$$

$$W_{11} = W_{12} = W_{21} = W'_{22} = W'_{11} = W'_{12} = \boldsymbol{W_q} \tag{6.52}$$

As isotermas podem ser reescritas utilizando-se as considerações apresentadas anteriormente e assim, tomam a forma das **Eq. 6.53 e 6.54**.

$$\overline{s_1} = \boldsymbol{f_q} \frac{2K_{aq}C_1 + 2\left(K_{aq}{}^2 e^{-W_{aq}/KT}\right)C_1{}^2 + \left(K_{aq}K_{aq}e^{-\frac{W_{aq}}{KT}} + K_q K_{aq} e^{-\frac{W_{aq}}{KT}}\right)C_1C_2}{\xi_q}$$

$$+ \boldsymbol{f_{aq}} \frac{2K_{aq}C_1 + 2(K_{aq}{}^2 e^{-\frac{W_{aq}}{KT}})C_1{}^2 + 2(K_{aq}{}^2 e^{-\frac{W_{aq}}{KT}})C_1C_2}{\xi_{aq}}$$

(6.53)

$$\overline{s_2} = \boldsymbol{f_q} \frac{\left(K_q + K_{aq}\right)C_2 + 2\left(K_q K_{aq} e^{-W_q/KT}\right)C_2{}^2 + \left(K_{aq}K_{aq}e^{-\frac{W_{aq}}{KT}} + K_q K_{aq} e^{-\frac{W_{aq}}{KT}}\right)C_1C_2}{\xi_q}$$

$$+ \boldsymbol{f_{aq}} \frac{2K_{aq}C_2 + 2(K_{aq}{}^2 e^{-\frac{W_{aq}}{KT}})C_2{}^2 + 2(K_{aq}^2 e^{-\frac{W_{aq}}{KT}})C_1C_2}{\xi_{aq}}$$

(6.54)

As expressões completas para as funções ξ_q e ξ_{aq} tem a forma:

$$\xi_q = 1 + 2K_{aq}C_1 + \left(K_q + K_{aq}\right)C_2 +$$

$$+ \left(K_{aq}K_{aq}e^{-\frac{W_{aq}}{KT}} + K_qK_{aq}e^{-\frac{W_{aq}}{KT}}\right)C_1C_2 + \left(K_{aq}{}^2e^{-W_{aq}/KT}\right)C_1{}^2 + \left(K_qK_{aq}e^{-W_q/KT}\right)C_2{}^2$$

(6.55)

$$\xi_{aq} = 1 + 2K_{aq}C_1 + 2K_{aq}C_2 + 2(K_{aq}{}^2e^{-\frac{W_{aq}}{KT}})C_1C_2 +$$

$$+ (K_{aq}{}^2e^{-\frac{W_{aq}}{KT}})C_1{}^2 + (K_{aq}{}^2e^{-\frac{W_{aq}}{KT}})C_2{}^2$$

(6.56)

As **Eq. 6.53 a 6.56** podem ser diretamente implementadas no problema de estimação.

Os seis parâmetros a serem estimados são as constantes K_q, K_{aq}, W_q e W_{aq}, a fração de um dos tipos de sítios f_q ou f_{aq} (o valor da outra fração está restrito à condição expressa na **Eq. 6.42**) e o valor do número total de sítios *M* (o qual está implícito no lado esquerdo das expressões para as isotermas em que, $\overline{s_i} = \overline{N_i}/M$).

CAPÍTULO VII

METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DE DADOS EXPERIMENTAIS E ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS

A presente seção está dividida em duas partes: a primeira, dedicada à descrição da metodologia envolvida na obtenção dos dados experimentais e a segunda, dedicada à descrição dos métodos computacionais e algoritmos utilizados no procedimento de estimação de parâmetros.

Na primeira parte deste capítulo, são descritos os métodos e técnicas utilizados para a obtenção dos dados experimentais referentes à porosidade da coluna cromatográfica, os tempos mortos para diversas vazões de eluentes, dados relacionados à eficiência de separação da coluna (HETP) e seus respectivos parâmetros de dispersão, perfis de concentração em condições de sobrecarga para a mistura racêmica e para os enantiômeros isolados do praziquantel, curvas de calibração do detector e, por fim, a metodologia de obtenção dos enantiômeros separados e purificados.

Na segunda parte, são descritos os modelos utilizados para a simulação do sistema cromatográfico, o método de integração das equações algébrico-diferenciais, o método de otimização e estimação de parâmetros, bem como o uso e a estrutura do método inverso.

7.1 Metodologia para obtenção de dados experimentais

7.1.1 Material e equipamentos

Para a execução dos diversos experimentos foram utilizados os seguintes materias: 1,3,5 Tri-tert-butilbenzeno (TTBB), 97% (Sigma-Aldrich, EUA), etanol grau HPLC

(Tedia, Brasil), praziquantel R + S (LaSiFA - Farmanguinhos/Fiocruz, Brasil), micro seringa de agulha fixa Hamilton®, modelo 1725N CTC, 250 µL (Hamilton, EUA), becheres e balões volumétricos em borosilicato (Quimex, Brasil).

Todos os solventes utilizados foram filtrados utilizando-se filtro de PTFE 0,2 µm (Sartorius Stedim, Alemanha) em sistema de baixa pressão, utilizando-se um kitasato (Labor Quimi, Brasil) acoplado a uma bomba de vácuo Prismatec®, modelo 131, 2 CV (Prismatec, Brasil).

O preparo das soluções utilizadas nos experimentos foi realizado com auxílio de uma balança analítica Bioprecisa®, modelo FA2104N, (Bioprecisa, Brasil), para as etapas de pesagem. Todas as amostras foram filtradas com auxílio de uma seringa descartável Eurojet®, 3 mL (Euromed, Egito) e filtro PTFE hidrofóbico, SimplePure®, 0,45 µm, 25 mm (Allcrom, Brasil). As amostras filtradas foram acondicionadas em *vials* Chromacol® de 1mL (Thermo Fisher Scientific, EUA).

Os experimentos foram conduzidos em um cromatógrafo UHPLC Ultimate 3000 Dionex®, equipado com duas bombas HPG-3200BX Dionex®, detector UV-VIS monocanal VWD-3400RS Dionex®, coletor de frações AFC-3000 Dionex® (Thermo Fisher Scientific, EUA), válvula para injeção manual, modelo 8125, Rheodyne® (Thermo Fisher Scientific, EUA) e *loop* de 2 mL (Thermo Fisher Scientific, EUA). O equipamento foi operado a partir de um terminal PC Optiplex-5000, plataforma *Microsoft Windows 7*. O *software* utilizado para operação e configuração do equipamento foi o *Chromeleon 7.0* (Thermo Fisher Scientific, EUA). A coluna cromatográfica quiral utilizada foi uma Lux-cellulose 2® (Phenomenex, EUA), contendo como fase estacionária tris 3-cloro, 4-metilfenilcarbamato de celulose, 250 mm de comprimento, 0,46 cm de diâmetro interno e partículas de 10 µm. A **Figura 7.1** apresenta um esquema do sistema cromatográfico utilizado.

Para a limpeza do sistema cromatográfico e remoção de resíduos de amostras foi utilizado metanol filtrado grau HPLC (Tedia, Brasil).

Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Combustíveis da Escola de Química (LABCOM/UFRJ).

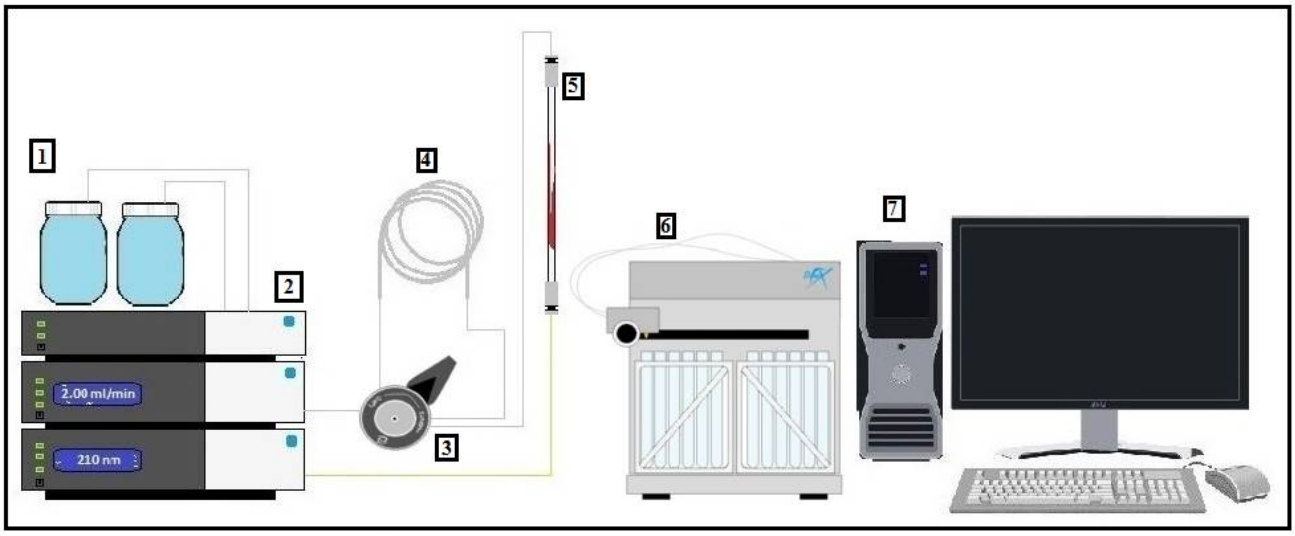


Figura 7.1: Ilustração do sistema cromatográfico utilizado. 1- Reservatórios de eluente, 2- Detector e Bomba, 3- Injetor manual, 4- Loop (2 mL), 5- Coluna Cromatográfica, 6- Coletor de frações automático, 7- Computador.

7.1.2 Porosidade da coluna e tempos mortos

A porosidade total da coluna cromatográfica foi avaliada por meio dos tempos de retenção do composto químico 1,3,5 Tri-terc-butilbenzeno (TTBB), obtidos em diversas vazões de eluente (etanol grau HPLC), segundo metodologia descrita por LIM, CHING & TAN (2008).

As soluções de TTBB foram preparadas na concentração de 2 g/L e foram injetados volumes de 200 µL no sistema. Os perfis cromatográficos e os tempos de retenção foram registrados monitorando-se o sinal (absorvância) a 240 nm, para vazões de eluente de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 mL/min.

Os valores do tempo de retenção (tempos mortos) e das respectivas vazões foram plotados em um gráfico do qual se obtém a porosidade total da coluna, segundo a **Eq. 7.1**.

$$Q(vazão) = \frac{V_c \cdot \varepsilon_{total}}{t_0} \qquad \textbf{(7.1)}$$

Os experimentos para obtenção dos tempos de retenção do TTBB foram repetidos, pelo menos, 3 vezes (triplicatas). Os dados foram analisados utilizando-se o *software Microsoft Excel 2007®*.

7.1.3 Parâmetros de dispersão e eficiência de separação da coluna

Os parâmetros relativos à transferência de massa no interior da coluna foram obtidos por meio de injeções de 200 µL de solução de praziquantel (mistura racêmica) a 1 g/L sob vazões de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 mL/min. Os tempos de retenção e o número de pratos teóricos, registrados pelo *software* para os dois enantiômeros, em cada condição foram utilizados para a determinação dos parâmetros de dispersão da coluna. Todos os cálculos descritos a seguir são baseados na literatura (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012).

O número de pratos (uma medida da eficiência de separação) para cada componente e em cada condição foram utilizados no cálculo da altura equivalente de pratos teóricos ($HETP$) segundo a **Eq. 7.2.** Sendo L_c o comprimento da coluna cromatográfica.

$$HETP = \frac{L_c}{N_{pt}} \tag{7.2}$$

A velocidade intersticial (**Eq. 7.3**) é utilizada juntamente com os valores de $HETP$, para cada condição, na avaliação dos efeitos de transporte de massa predominantes. Tal análise foi realizada por meio da plotagem dos dados de $HETP$ como função da velocidade intersticial.

$$v_{int} = \frac{Q}{\varepsilon . A_c} \tag{7.3}$$

O coeficiente de dispersão axial (D_{ax}) é calculado a partir da **Eq. 7.4**. Para o caso do modelo de equilíbrio dispersivo, todos os efeitos de transferência de massa são condensados e representados pelo coeficiente de dispersão aparente.

$$D_{app} = \frac{HETP.u}{2} \tag{7.4}$$

O parâmetro adimensional *Peclet*, o qual representa a razão entre os efeitos de transporte de massa relacionados à advecção e os efeitos de transporte relacionados à dispersão axial, reduz-se à forma apresentada na **Eq. 7.5**, para o caso do equilíbrio dispersivo.

$$P_e = \frac{N_{pt}}{2} \quad \textbf{(7.5)}$$

7.1.4 Perfis de concentração em condições de sobrecarga para mistura racêmica

Os perfis de concentração (eluição) foram gerados para a amostra de praziquantel (mistura racêmica) nas concentrações de alimentação de 1, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 g/L e utilizando-se uma vazão de 2mL/min de etanol. Para estes experimentos, foram preparadas soluções de praziquantel R + S dissolvidos em etanol nas concentrações já citadas. As soluções foram filtradas e acondicionadas em vials até sua utilização.

Foram injetados volumes de 200 µL das soluções de praziquantel e os perfis de concentração foram gerados registrando-se a intensidade do sinal do detector (absorvância), à 210 nm por um tempo total de 11,5 minutos. Os experimentos para obtenção dos perfis foram repetidos, pelo menos, 3 vezes (triplicatas). A **Figura 7.2** resume e ilustra o procedimento experimental para a obtenção dos perfis de concentração (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012; FELINGER, ZHOU & GUIOCHON, 2003).

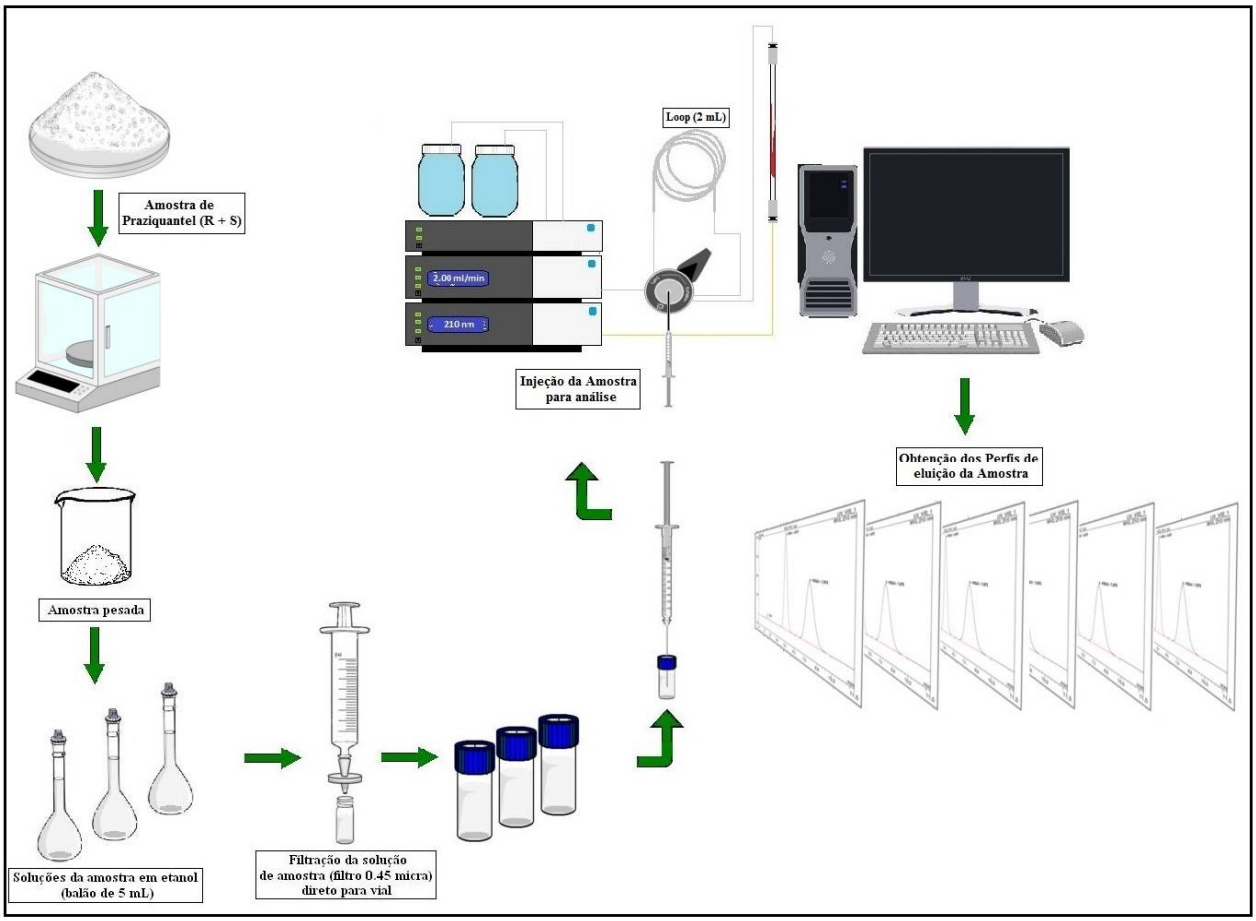


Figura 7.2: Ilustração do procedimento experimental para a obtenção das curvas de sobrecarga de praziquantel (R + S).

7.1.5 Obtenção dos enantiômeros puros

Os enantiômeros do praziquantel foram obtidos por meio da coleta de frações da fase móvel contendo os isômeros separados após a resolução dos mesmos a partir da amostra racêmica.

Para a obtenção dos enantiômeros foram injetados volumes de 200 µL de soluçãos 40 g/L de mistura racêmica em etanol, utilizando-se uma vazão de 2mL/min de etanol. As soluções dos respectivos enantiômeros separados foram acumuladas, após sucessivas injeções da amostra racêmica, e acondicionadas em frascos de vidro âmbar sob refrigeração.

As soluções dos enantiômeros separados foram concentradas em evaporador rotatório, sob baixa pressão e aquecimento (70 ºC). Após esta etapa, o concentrado foi transferido para um pequeno frasco de vidro e submetido à secagem utilizando-

se um secador a ar, de baixa temperatura. Após a secagem as amostras foram estocadas em um dessecador. A **Figura 7.3** resume e ilustra o procedimento experimental para a obtenção dos enantiômeros puros.

A pureza das amostras foi determinada a partir da análise de soluções a 1g/L das amostras de cada enantiômero separado. Foram injetados volumes de 200 µL das soluções preparadas, a vazão utilizada foi de 2 mL/min de eluente (etanol), a absorvância foi monitorada a 210 nm e o tempo de análise foi de 11,5 minutos. A pureza foi então calculada, considerando-se como contaminante somente o enantiômero em menor quantidade (menor área no cromatograma), caso presente.

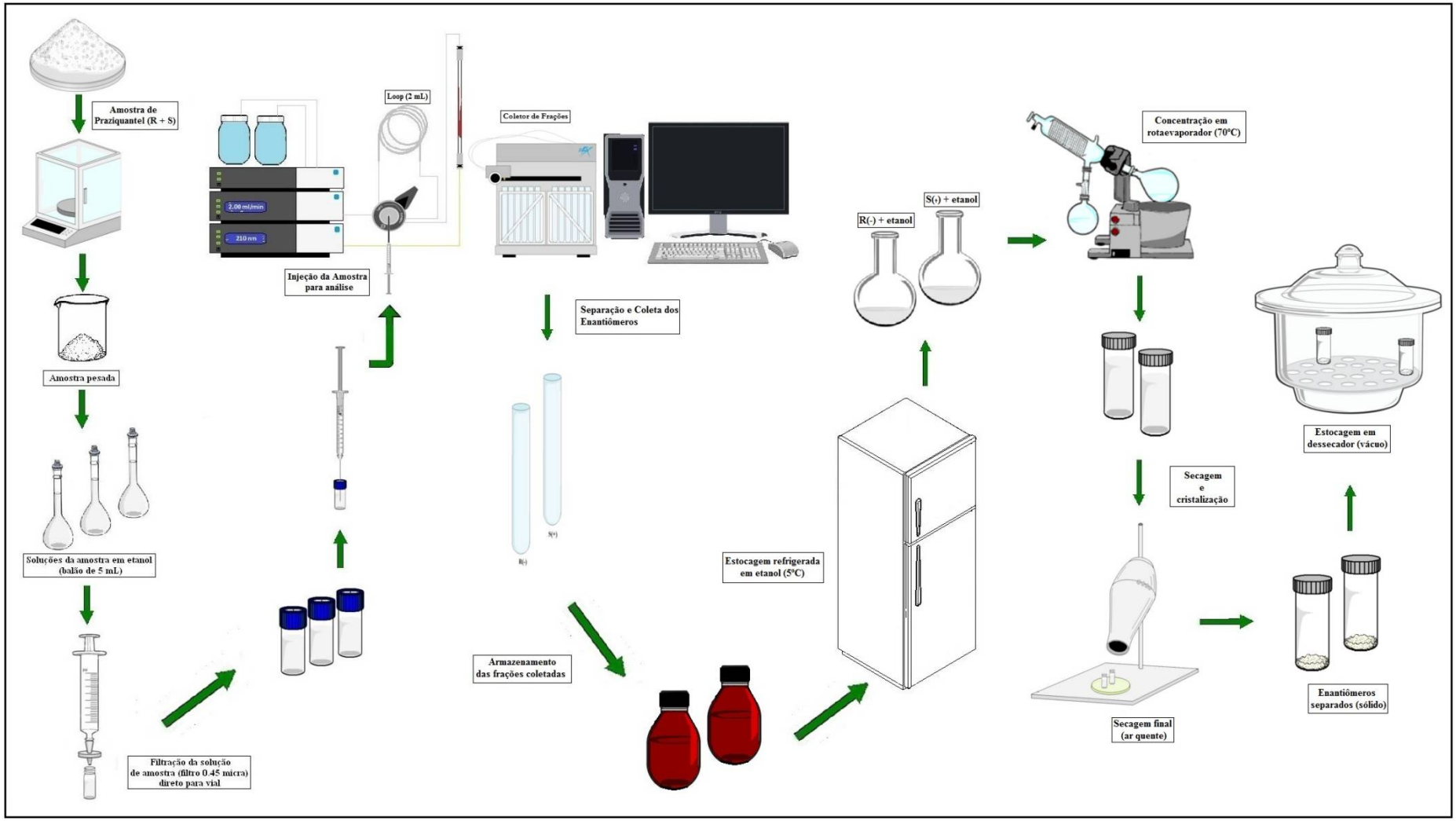


Figura 7.3: Ilustração do procedimento experimental para obtenção dos enantiômeros puros do praziquantel na forma sólida.

7.1.6 Perfis de concentração em condições de sobrecarga para os enantiômeros puros

O procedimento experimental para obtenção dos perfis de concentração (eluição) a partir de soluções preparadas com os enantiômeros puros do praziquantel seguem a mesma metodologia descrita para a obtenção dos perfis de sobrecarga para a amostra racêmica (**Seção 7.1.4**). Entretanto, os perfis foram gerados para diversas concentrações de alimentação de cada um dos enantiômeros puros (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012; FELINGER, ZHOU & GUIOCHON, 2003).

7.1.7 Curvas de calibração do detector

O procedimento de estimação de parâmetros utiliza os dados experimentais (perfis de sobrecarga) com o sinal em unidades de concentração (g/L) e não em unidades de absorvância (mAU). Assim, para converter os dados referentes aos perfis cromatográficos se faz necessária uma curva de calibração do detector que relacione a intensidade do sinal (absorvância) com a concentração da amostra (g/L).

A curva de calibração do detector foi gerada, primeiramente, removendo-se a coluna do sistema e alimentando-se a solução da amostra numa dada concentração, direto no detector, segundo metodologia descrita por SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN (2012), conforme é ilustrado na **Figura 7.4**.

Soluções de praziquantel racêmico foram preparadas nas concentrações de 0,015, 0,1, 0,3, 0,5, 0,8, 1,0, 1,8, 2,5 e 4,0 g/L e foram injetadas no sistema. Utilizou-se uma vazão baixa, de 0,5 mL/min, para que se observa-se a formação de um patamar de intensidade de sinal. O sinal foi monitorado no comprimento de onda de 210 nm e as injeções foram realizadas pelo menos três vezes (triplicatas).

A curva de calibração foi gerada a partir da regressão não-linear utilizando-se um modelo matemático na forma da **Eq. 7.6**. O procedimento de regressão foi realizado com auxílio do software *Microsoft Excel 2007*®.

$$Abs\ [mAU] = \frac{a.(Concentração)}{1+b.(Concentração)} \qquad \textbf{(7.6)}$$

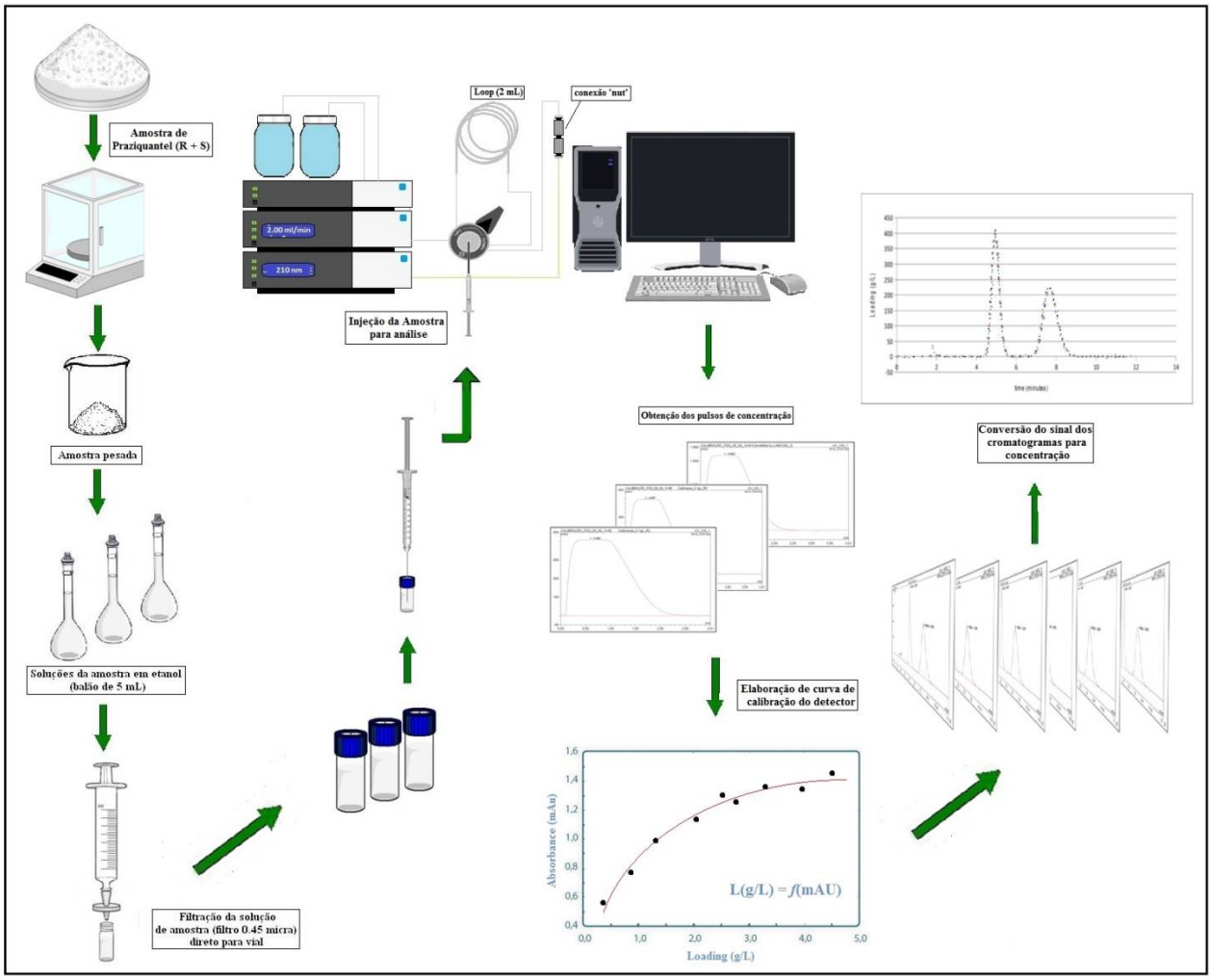


Figura 7.4: Ilustração do procedimento experimental para a elaboração da curva de calibração do detector.

7.1.8 Métodos gerais para acondicionamento, manutenção e regeneração da coluna cromatográfica.

A coluna cromatográfica foi acondicionada durante, pelo menos, 30 minutos antes de cada experimento realizado. Para isso, foi permitida a passagem do eluente (etanol) através do sistema, monitorando-se a linha de base do detector durante o tempo citado. O metanol foi o solvente utilizado para lubrificação da vedação das bombas, conforme recomendado pelo fornecedor (PHENOMENEX, 2015b).

O procedimento de limpeza do sistema cromatográfico consistiu da injeção de pulsos de metanol, aplicando-se o solvente por meio da válvula de injeção manual. Foram aplicados, pelo menos, 5 pulsos de metanol para efetuar a limpeza do sistema.

A regeneração da coluna cromatográfica foi realizada, sempre que verificado um aumento da queda de pressão experimentada pelo sistema. O procedimento de regeneração consistiu da eluição de metanol aumentando-se a vazão gradualmente de forma que a queda de pressão atingisse aproximadamente 1900 psi. O sistema foi mantido nesta condição por 20 minutos, em seguida, após a verificação da redução da queda de pressão para níveis aceitáveis, reduziu-se a vazão para 0,5 mL/min e manteve-se nessa condição durante 6 horas.

O armazenamento da coluna por longos períodos foi realizado após a eluição de metanol durante 4 horas, conforme recomendado pelo fornecedor (PHENOMENEX, 2015).

7.1.9 Avaliação estatística dos resultados experimentais

Os dados experimentais foram avaliados por meio da estatística descritiva básica, utilizando-se média aritmética (**Eq. 7.7**), desvio padrão (**Eq. 7.8**) e coeficiente de variação (**Eq. 7.9**) para a representação dos mesmos. Quando necessário, foi calculado o intervalo de confiança para os dados obtidos (CALADO & MONTGOMERY, 2003).

$$\mu_X = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} x_i \qquad \textbf{(7.7)}$$

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2}, \quad \sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^{N}(x_i - \mu_X)^2}{N-1} \qquad \textbf{(7.8)}$$

$$CV_{\%} = \frac{\sigma}{\mu_X} . 100 \qquad \textbf{(7.9)}$$

Onde x_i representa as replicatas dos valores da grandeza em questão.

A análise da variância (ANOVA) foi realizada para verificação da existência de uma diferença global significativa entre as médias experimentais. Comparações de valores médios foram realizados ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) por meio dos testes estatísticos de *Tukey*. A verificação da normalidade dos erros

experimentais também foi realizada aplicando-se os testes de aderência de *Shapiro-Wilk* e *Kolmogorov-Smirnov* (CALADO & MONTGOMERY, 2003).

7.2 Metodologias e algoritmos computacionais

7.2.1 *Softwares* e equipamentos

O programa *Microsoft Excel 2007*® foi utilizado para a preparação e adequação dos dados necessários à estimação de parâmetros. O ambiente de desenvolvimento *Compac Visual Fortran 7.6*® foi utilizado para a implementação dos algoritmos computacionais para simulação do sistema cromatográfico e estimação de parâmetros. O *software* foi instalado na plataforma *Windows XP mode*®, virtualizada por meio do programa *Windows Virtual PC*®.

Os cálculos envolvidos nos procedimentos computacionais foram realizados em um computador Desktop, equipado com processador Intel(R) Core™, i3-4330 CPU 3,50 GHz, 8,0 GB de memória RAM (2x DDR3 4096 MB, 667 MHz, Kingston®), placa-mãe H81M-H Gigabyte Technology Co™ e sistema operacional *Windows 7 profissional*® x64 bits.

7.2.2 Avaliação da malha de discretização da coluna cromatográfica

O número de elementos finitos envolvidos na discretização do domínio espacial (coluna cromatográfica) foi avaliado por meio de teste de malha.

O teste consistiu na simulação de vários cromatogramas, utilizando-se diferentes números de elementos finitos para composição da malha. Computou-se então o somatório da diferença quadrática média, entre cada ponto dos cromatogramas simulados e do cromatograma de referência, conforme mostrado na **Eq. 7.10**.

$$\langle \sigma_n^2 \rangle = \frac{\sum_{i=1}^{N} \left(Y_{i,n} - Y_{i,500} \right)^2}{N} \qquad \textbf{(7.10)}$$

Na equação acima, Y_i refere-se à concentração da fase móvel (pontos que compõem os cromatogramas) e *N* refere-se ao número total de valores simulados da variável *Y*.

A equação anterior pode ser utilizada como um indicador da semelhança entre os perfis simulados e permite selecionar o número de elementos finitos mais adequado,

ou seja, que representem um balanço entre velocidade de simulação e baixo erro das respostas geradas.

7.2.3 Algoritmo de estimação de parâmetros e alimentação de dados

O procedimento para estimação de parâmetros envolveu a utilização de algoritmos computacionais desenvolvidos em linguagem FORTRAN. O programa completo (*ESTIMA*) consiste de um conjunto de sub-rotinas acopladas, de forma a estimar os parâmetros dos modelos das isotermas de adsorção e fornecer a respectiva avaliação estatística. O detalhamento do programa é apresentado no **Anexo A.1**.

Em termos gerais, o algoritmo estimador realiza a busca pelos parâmetros, os quais minimizam uma função objetivo na forma de máxima verossimilhança, utilizando o método de enxame de partículas. As estimativas são então refinadas por meio do método de Gauss-Newton. Os parâmetros estimados são as constantes do modelo de isoterma utilizado. O modelo da coluna cromatográfica é resolvido numericamente, juntamente com o modelo de isoterma. Os perfis de concentração calculados pela resolução do modelo são comparados com os perfis experimentais, e assim, o algoritmo direciona a busca dos parâmetros de forma a minimizar a diferença entre os perfis calculados e experimentais.

Os dados necessários para a inicialização do programa são fornecidos por meio do arquivo de dados *ENTRADAR.dat* e são lidas por meio de instruções escritas no algoritmo *MAXIMA.for*.

No **Anexo A.2,** é demonstrado a forma de organização dos dados no arquivo *ENTRADAR.dat.*

A primeira linha do arquivo *ENTRADAR.dat* destinam-se a informar o número de variáveis de entrada (*varvent*), o número de variáveis de saída (*varsai*) e o número de parâmetros a serem estimados pelo software (*npar*). A segunda linha destina-se a informar o número de experimentos (a cada experimento corresponde um dado conjunto de condições experimentais e, no presente trabalho, resultados, na forma de perfis de concentração).

As próximas informações fornecida são os chutes iniciais para os valores dos parâmetros a serem estimados. Os valores são fornecidos um por linha do código, sendo a quantidade total de valores, igual ao número de parâmetros.

A próxima informação fornecida refere-se à um *flag* que identifica a presença ou ausência de erros nas variáveis de entrada.

As faixas de busca dos parâmetros são a próxima informação fornecida. Devem ser fornecidos dois valores para definir cada faixa, o primeiro sendo o limite inferior e o segundo sendo o limite superior. Devem ser descritas uma faixa de busca por linha, sendo o número total de faixas de busca igual ao número de parâmetros.

As próximas quatro linhas referem-se, respectivamente, ao número máximo de iterações, ao primeiro e segundo parâmetros de Bailey e o valor para a tolerância da função objetivo.

O valor das perturbações necessárias para o cômputo da derivadas em relação aos parâmetros são as próximas informações fornecidas. Estes valores devem ser escritos um por linha e em número total igual ao número de parâmetros.

São fornecidos a seguir os dados referentes às variáveis de entrada. Os valores para as condições experimentais devem ser separados por um espaço em branco sendo que cada linha corresponde à um dado tipo de variável de entrada.

Finalmente, são fornecidos os valores para os resultados referentes à cada condição experimental. No presente trabalho, foram fornecidos, para cada condição testada, os valores que descrevem os perfis de concentração (g/L), ponto-a-ponto, e os respectivos erros experimentais (variâncias).

Ressalta-se a importância da homogeneidade das unidades referentes aos valores para chutes iniciais, faixas de busca dos parâmetros, valores para as variáveis de entrada e saída que são alimentados ao programa.

7.2.4 Análise estatística dos resultados computacionais

Os valores dos parâmetros estimados e sua correspondente avaliação estatística são impressos em um arquivo nomeado *REPORT.dat*.

O algoritmo computa os desvios padrão para cada parâmetro estimado. A matriz de covariâncias e de correlação são geradas para verificação do grau de interação entre os parâmetros estimado.

A matriz de covariâncias em relação aos parâmetros é dada pela **Eq. 7.11**. Onde $\sigma_{\alpha i}$, corresponde ao desvio padrão em relação ao parâmetro α_i e ${\sigma_{\alpha i}}^2$ corresponde à própria variância em relação ao parâmetro α_i (SCHWAAB & PINTO, 2007).

$$V_\alpha = \begin{bmatrix} {\sigma_{\alpha 1 \alpha 1}}^2 & \sigma_{\alpha 1}\sigma_{\alpha 2} & \cdots & \sigma_{\alpha 1}\sigma_{\alpha n} \\ \sigma_{\alpha 2}\sigma_{\alpha 1} & {\sigma_{\alpha 2 \alpha 2}}^2 & \cdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \sigma_{\alpha n}\sigma_{\alpha 1} & \cdots & \cdots & {\sigma_{\alpha n \alpha n}}^2 \end{bmatrix} \quad \textbf{(7.11)}$$

Os desvios padrão paramétricos foram calculados a partir da matriz de covariâncias, sendo representados pela **Eq. 7.12** (SCHWAAB & PINTO, 2007).

$$\sigma_{\alpha i} = \sqrt{{\sigma_{\alpha i}}^2} \quad \textbf{(7.12)}$$

A matriz de correlação entre os vários parâmetros estimados foi gerada a partir da **Eq. 7.13** (SCHWAAB & PINTO, 2007). Onde ${\sigma_{\alpha ij}}^2$, é igual a $\sigma_{\alpha i}\sigma_{\alpha j}$.

$$\rho_{\alpha ij} = \frac{{\sigma_{\alpha ij}}^2}{\sigma_{\alpha i}\sigma_{\alpha j}} \quad \textbf{(7.13)}$$

Os desvios padrão da predição, relacionados aos valores preditos dos perfis de concentração, são computados para cada componente estimado do modelo (parâmetros estimados), conforme mostrado na **Eq. 7.14** (SCHWAAB & PINTO, 2007).

$$\hat{\sigma}_y = \mathbf{B^T V_\alpha B} \quad \textbf{(7.14)}$$

Onde $\mathbf{V_\alpha}$, é a matriz de covariâncias em relação aos parâmetros estimados, $\mathbf{B}$ é a matriz de sensibilidades do modelo em relação aos parâmetros e $\mathbf{B^T}$ a sua respectiva transposta.

CAPÍTULO VIII

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente capítulo, são apresentados os dados experimentais, os parâmetros calculados (porosidade, parâmetros de transferência de massa, etc.) e a avaliação da qualidade estatística dos resultados obtidos. São apresentados os argumentos utilizados na discussão dos referidos resultados, como também sua comparação com dados encontrados na literatura atual.

8.1 Determinação da porosidade da coluna e tempos mortos

8.1.1 Dados experimentais obtidos

A determinação do valor da porosidade total foi realizada por meio da obtenção dos perfis de concentração de amostras de tri-terc-butilbenzeno (TTBB) em diferentes vazões de etanol.

Na **Tabela 8.1**, são apresentados os valores obtidos para o tempo de retenção do TTBB na coluna cromatográfica. Como o TTBB é uma substância considerada penetrante e não-aderente (não-adsorve), os tempos de retenção apresentados são também os próprios tempos mortos (t_0) do sistema em cada uma das condições experimentais (vazões) testadas

Tabela 8.1: Tempos de retenção das amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Tempos de retenção (TTBB)					
Vazão (mL/min)	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
média	6,495[a]	3,243[b]	1,63[c]	1,095[d]	0,83[e]	0,66[f]
desvio-padrão	0,003	0,006	0,02	0,004	0,02	0,02
*CV%***	0,1	0,2	1,4	0,3	2,7	3,4
*±IC(95%)****	0,006	0,010	0,04	0,006	0,04	0,04

Os dados são apresentados como médias de, pelo menos, três replicatas. Para as vazões de 2,0, 4,0 e 5,0 mL/min as réplicas foram idênticas o que resultou em um desvio-padrão igual a zero. Dessa forma, para as referidas condições experimentais, considerou-se o desvio-padrão dos tempos de retenção, como a raiz quadrada da incerteza de medição (metade do menor valor mensurável), no caso, igual à 0,02. Essa consideração foi necessária para o cômputo dos intervalos de confiança dos tempos de retenção.

Na **Figura 8.1**, são apresentados os perfis de concentração obtidos para a injeção de 200,0 µL da solução de TTBB (2,0 g/L). Os tempos de retenção do primeiro pico eluído, em cada condição experimental, foram considerados na determinação da porosidade. O segundo pico presente é uma impureza da amostra.

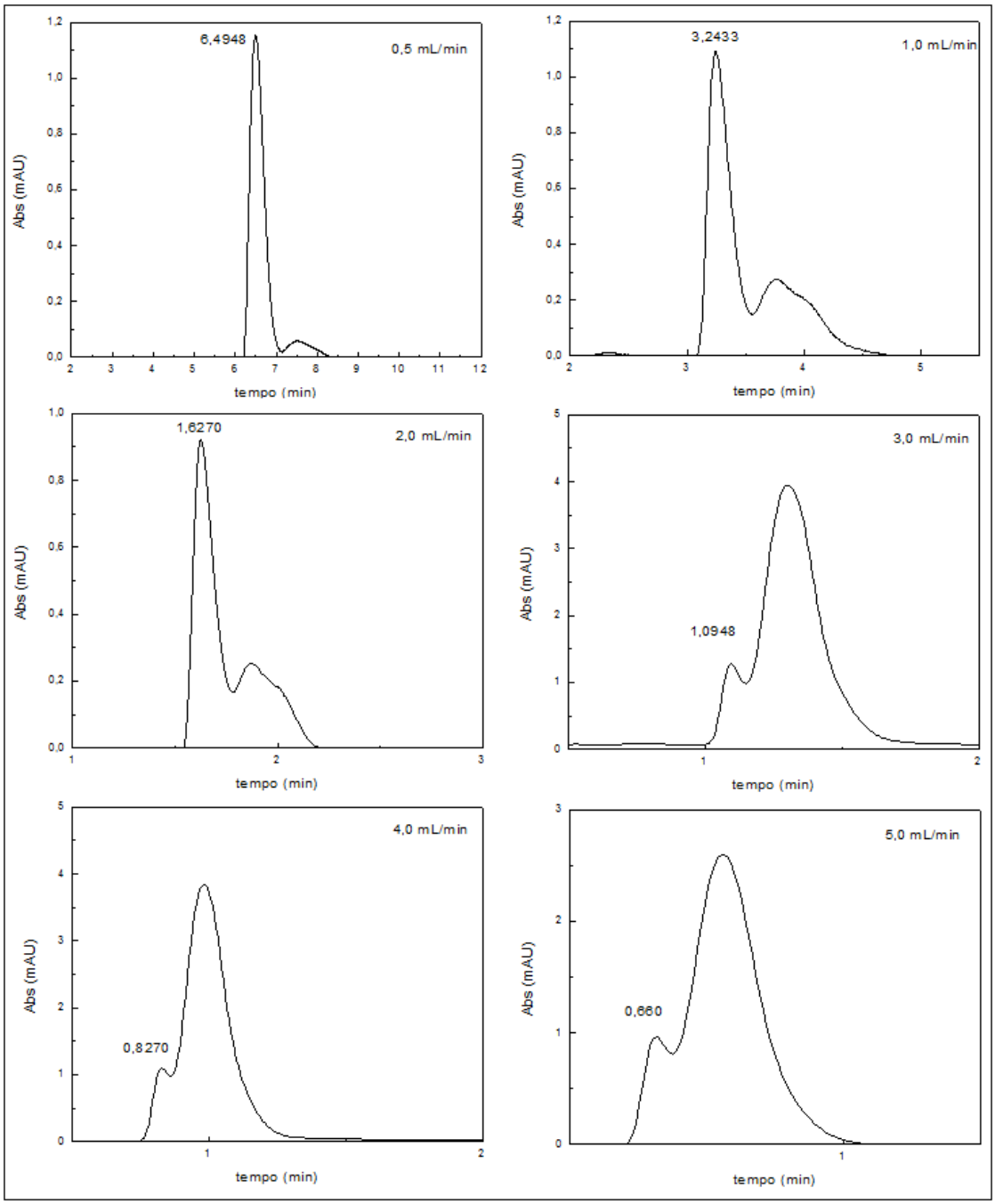


Figura 8.1: Perfis de concentração de amostras de TTBB 97% (solução 1,0 g/L, 20,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.

Os resultados da análise estatística podem ser encontrados no **Anexo B.1**. Foi realizado o teste de normalidade dos resíduos relacionados às medidas experimentais. Os resíduos experimentais (res_i) foram calculados como a diferença entre o valor da replicata (x_i) e valor da média(X), $res_i = x_i - X$. Os valores dos resíduos foram plotados contra dos valores normais esperados e são mostrados na **Figura B.1** (**Anexo B.1**). Para a obtenção de uma medida quantitativa da tendência

à normalidade dos resíduos experimentais, foi calculado o *p-level* do teste de Shapiro-Wilk.

O valor do p-level para o teste de Shapiro-Wilk foi de 0,0002 e menor que o nível de significância considerado neste trabalho (α = 0,05). Desta forma, a hipótese de normalidade deveria ser rejeitada. No presente caso, o teste de normalidade realizado pode estar comprometido, devido ao fato de haver replicatas com valores praticamente iguais, ou seja, valores de resíduos muito pequenos.

Entretanto, como os valores de CV% são muito pequenos e inferiores a 5%, pode-se afirmar que os valores das replicatas são muitos próximos ao valor médio. Além disso, os testes foram conduzidos com auxílio de um equipamento adequado e calibrado, sendo que a maior fonte de incertezas está relacionada ao volume de amostra, manualmente injetado com uma microseringa.

Dessa forma, e para prosseguimento da análise, admite-se então como verdadeiro a não rejeição da hipótese de normalidade dos resíduos experimentais.

A análise da variância (ANOVA) revelou a existência de diferenças estatisticamente significativas (p < 0,05) entre as médias avaliadas (**Tabela B.2, Anexo B.1**).

Por meio do teste estatístico de *Tukey*, determinou-se que todas as médias obtidas são mutuamente diferentes (**Tabela B.3, Anexo B.1**). Tal fato é facilmente constatado, pela observação da **Figura 8.2**. Nota-se que os intervalos de confiança não se interceptam para nenhuma das médias.

As diferenças entre as médias dos valores dos tempos de retenção do TTBB, correspondentes às respectivas vazões de etanol, se apresentaram maiores que o valor MDS (mínima diferença significativa) calculado pelo teste de *Tukey*, no caso 0,0093. Desta forma, conforme já afirmado anteriormente, todas as médias para os tempos de retenção do traçador diferem mutuamente.

A análise estatística dos tempos de retenção experimentais mostrou que, os mesmos, possuem qualidade satisfatória para sua aplicação no cálculo da porosidade e como estimativa dos tempos mortos do sistema, nas várias vazões testadas.

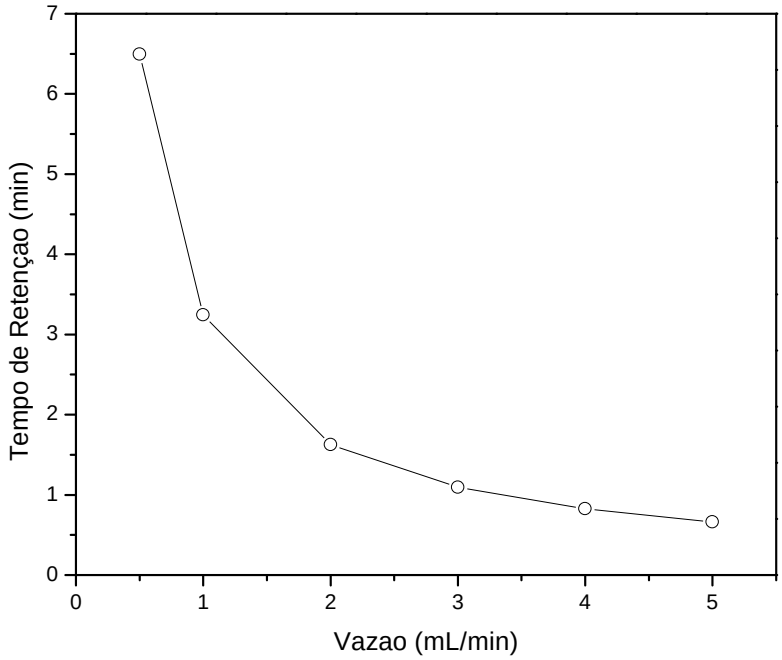


Figura 8.2: Tempos de retenção (tempos mortos) das amostras de TTBB plotados contra os respectivos valores de vazão de etanol.

8.1.2 Cálculo do valor da porosidade total da coluna (ε_t)

O valor da porosidade total da coluna quiral (fase estacionária) foi computado por meio da minimização da função objetivo apresentada na **Eq. 8.1**, a qual envolve os tempos de retenção do traçador (tempos mortos) experimentais e calculados.

$$F_{obj} = \frac{\sum_{i=1}^{N_{exp}} (t_{0,i}^{exp} - t_{0,i}^{calc})^2}{\sigma_i^2} = \frac{\sum_{i=1}^{N_{exp}} (t_{0,i}^{exp} - \left(\frac{V_{coluna} \cdot \varepsilon_t}{Q_i}\right))^2}{\sigma_i^2} \quad \textbf{(8.1)}$$

Os valores dos tempos calculados e experimentais são apresentados na **Figura 8.3**. O valor médio e o intervalo de confiança estimados da porosidade foram de 0,7818 ± 0,0008, sendo o desvio padrão, calculado a partir da matriz de covariância do parâmetro, de 0,0004.

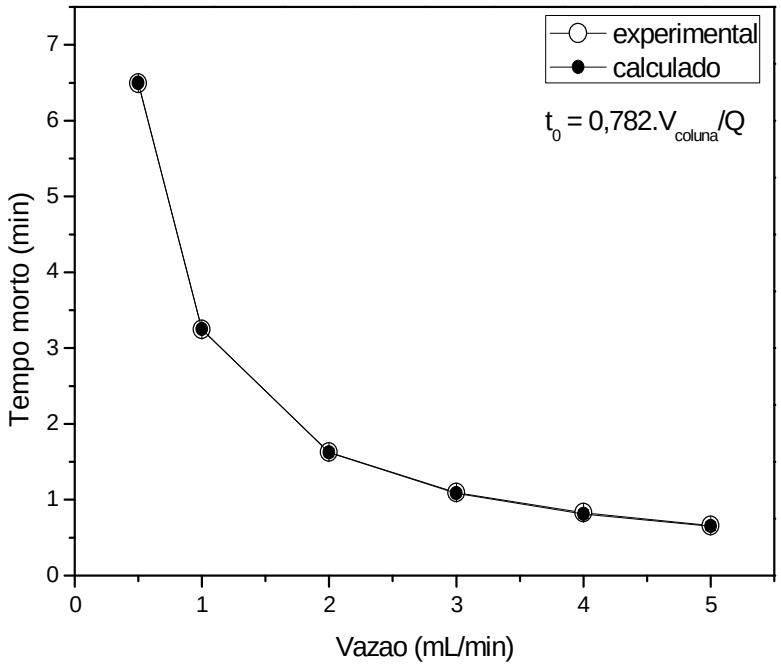


Figura 8.3: Comparação entre os tempos mortos (traçador) experimentais (○) e calculados (●), referentes ao procedimento de estimação do valor da porosidade total da coluna.

Verificou-se que o valor final da função objetivo minimizada (F_{obj} = 13,26) situa-se dentro da faixa estabelecida pelo teste Chi^2, calculado a uma probabilidade de 95% ($\chi^2_{\ inferior}$ = 12,40 e $\chi^2_{\ superior}$ = 39,36). Tais resultados demonstram que a qualidade do ajuste é satisfatória (**Tabela B.4, Anexo B.1**).

O coeficiente de correlação entre os valores experimentais e calculados, após o procedimento de minimização foi de 0,999, indicando uma excelente correlação entre os grupos de dados.

Mediante tais resultados, pode-se afirmar que o valor médio da porosidade e sua incerteza foram corretamente estimados. O valor estimado, para esta propriedade da fase estacionária, foi utilizado durante o procedimento de estimação de parâmetros de isotermas e simulação de perfis cromatográficos.

O valor encontrado para a porosidade está concordante com àquele determinado por VASCONCELOS (2013), de 0,82, a qual utilizou uma coluna Lux cellulose - 2 com partículas de 5 µm.

SILVA JUNIOR (2010) obteve um valor de porosidade de 0,684 para a uma Lux cellulose - 2 utilizando hexano e misturas de hexano e etanol (99,9%/0,1%).

A diferença entre os valores pode estar associada aos diferentes eluentes utilizados. O solvente é capaz de interagir e afetar a conformação dos seletores quirais e a estrutura da cadeia polimérica, alterando assim a fração de vazios e a área superficial disponível da fase estacionária (ASNIN, 2012).

No **Anexo B.2** são apresentados resultados da injeção das amostras de TTBB em altas concentrações (volume de injeção de 200,0 µL de solução 2,0 g/L). Pode-se observar que os perfis de resposta são reproduzidos em altas concentrações e altos volumes. O valor da porosidade calculado a partir de tais dados (0,81) é próximo ao encontrado com os experimentos em baixas concentrações (0,78).

Como TTBB não apresenta picos com longas caudas de dessorção, pode-se afirmar que, nas concentrações testadas, o mesmo comporta-se como um autêntico traçador e é adequado para determinação do valor da porosidade total da coluna.

8.2 Determinação dos parâmetros de transferência de massa da coluna

8.2.1 Dados experimentais para cálculo de HETP como função da velocidade

A determinação da curva de HETP (altura equivalente de pratos teóricos) como função de velocidade da fase móvel envolveu a obtenção dos perfis de concentração da amostra de praziquantel racêmico com o sistema operando em diferentes vazões de etanol.

O número de pratos teóricos (N_{pt}) é a principal medida experimental para determinação do HETP e está relacionado com a eficiência de separação da coluna cromatográfica. Nas **Tabelas 8.2 e 8.3** são apresentados os valores médios para o número de pratos teóricos, calculados pelo *software* de operação do sistema cromatográfico, com base nos perfis experimentais.

Os dados foram obtidos por meio da injeção de 200 µL de solução de PZQ racêmico em etanol, 1 g/L.

Tabela 8.2: Número de pratos teóricos para o primeiro componente separado (Pico 1) em função de diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).* Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Vazão de etanol (mL/min)					
Número de Pratos - Pico 1	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
média	1124^{a}	664^{b}	489^{c}	390^{d}	333^{e}	288^{f}
desvio-padrão	3	1	4	3	4	2
*CV%***	0,3	0,2	0,8	0,8	1,1	0,5
*±IC(95%)****	7	4	6	7	6	4

Tabela 8.3: Número de pratos teóricos para o segundo componente separado (Pico 2) em função diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Vazão de etanol (mL/min)					
Número de Pratos - Pico 1	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
média	910^{a}	506^{b}	360^{c}	285^{d}	242^{e}	209^{f}
desvio-padrão	6	8	3	3	3	2
*CV%***	0,6	1,5	0,7	1,1	1,3	0,7
*±IC(95%)****	14	19	4	7	5	4

Os valores apresentados são médias de, pelo menos, três replicatas. Observa-se que as medidas de dispersão (desvio-padrão e CV%) demonstram que houve boa precisão na obtenção dos dados, dado que os valores do coeficiente de variação são pequenos e inferiores a 5%.

Os dados experimentais foram avaliados quanto à sua qualidade estatística antes do procedimento para cálculo dos parâmetros de transferência de massa na coluna cromatográfica. Tal avaliação é apresentada a seguir.

Nas **Figuras B.3 e B.4** (**Anexo B.3**) são apresentadas as avaliações de normalidade dos resíduos experimentais. Os gráficos mostram os valores dos resíduos, computados para cada replicata, contra os valores normais esperados.

Pode-se notar que, pelos valores calculados dos testes Shapiro-Wilk (p-level > 0,05), os resíduos experimentais, tanto para os dados referentes ao Pico1 quanto aos dados referentes ao Pico 2, possuem uma distribuição tendendo à normal e assim a hipótese de normalidade dos dados não é rejeitada. Com base nisto, pode-se afirmar que os dados possuem boa qualidade estatística e são adequados para realização da análise de variância e testes de hipóteses, assim como o cálculo dos parâmetros físicos desejados.

Os resultados referentes à análise da variância (ANOVA) são apresentados nas **Tabelas B.8 e B.9**. Pode-se notar que a análise revelou que há, de forma geral, diferença significativa entre as médias dos dados experimentais para diferentes vazões de etanol. Isso é constatado pelo valor de p-level do teste F ser inferior ao nível de significância estabelecido de 0,05.

O mesmo pode ser afirmado para a análise da variância dos dados referentes ao Pico 2 (**Tabela B.9**).

O teste de médias de *Tukey* foi realizado visando-se determinar as médias de valores experimentais que provocam as diferenças estatísticas observadas.

As **Tabelas B.10 e B.11** (**Anexo B.3**) apresentam as diferenças entre as médias amostrais calculadas entre cada par de tratamentos (no caso, vazão de etanol). Com o número de graus de liberdade do erro, igual a 14 e um número total de tratamentos, igual a 6 calculou-se que a mínima diferença significativa (MDS) é de 17,24.

Desta forma, como se pode observar, todos as médias amostrais são mutuamente diferentes ao nível de significância estabelecido (α = 0,05). Isto é notado pelo fato de todos os valores de diferenças apresentados em ambas tabelas serem, em módulo, maiores que o valor de MDS.

Com base nos resultados das análises estatísticas realizadas, pode-se afirmar que o conjunto de dados experimentais obtido é adequado para a estimativa dos parâmetros de transferência de massa referentes à coluna cromatográfica utilizada.

8.2.2 Estimativa dos parâmetros de transferência de massa da fase estacionária

Os dados apresentados, anteriormente, de número de pratos em função da vazão de eluente foram convertidos para valores de $HETP$, de acordo com a **Eq. 8.2**.

$$HETP = \frac{L_c}{N_{pt}} \quad \textbf{(8.2)}$$

Na equação apresentada anteriormente, L_c é o comprimento total da coluna (25,0 cm) e N_{pt} o número de pratos teóricos. Os dados convertidos são apresentados na **Tabela 8.4**, para ambos componentes.

Tabela 8.4: Valores de HETP em função da velocidade do eluente. *Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

		Velocidade do Eluente (cm/min)					
HETP (cm)		6,017	12,034	18,052	24,069	30,086	36,103
Pico 1	*média*	0,022	0,037	0,051	0,064	0,075	0,087
	desvio - padrão	0,0001	0,0008	0,0004	0,0005	0,0008	0,0005
	*CV%***	0,27	2,21	0,80	0,77	1,11	0,53
	*$IC_{(95\%)}$****	0,0001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001
Pico 2	*média*	0,027	0,049	0,069	0,088	0,103	0,120
	desvio - padrão	0,0002	0,001	0,0005	0,001	0,001	0,001
	*CV%***	0,61	1,48	0,69	1,05	1,29	0,73
	*$IC_{(95\%)}$****	0,0004	0,002	0,0008	0,002	0,002	0,002

Como se pode observar a relação entre os dados de HETP e velocidade do eluente é aproximadamente linear (**Figura 8.4**). Tal resultado está concordante com o esperado, pois para colunas cromatográficas bem empacotadas, o efeito da dispersão axial é inferior, em relação ao efeito de transferência de massa no interior das partículas que compõem a fase estacionária.

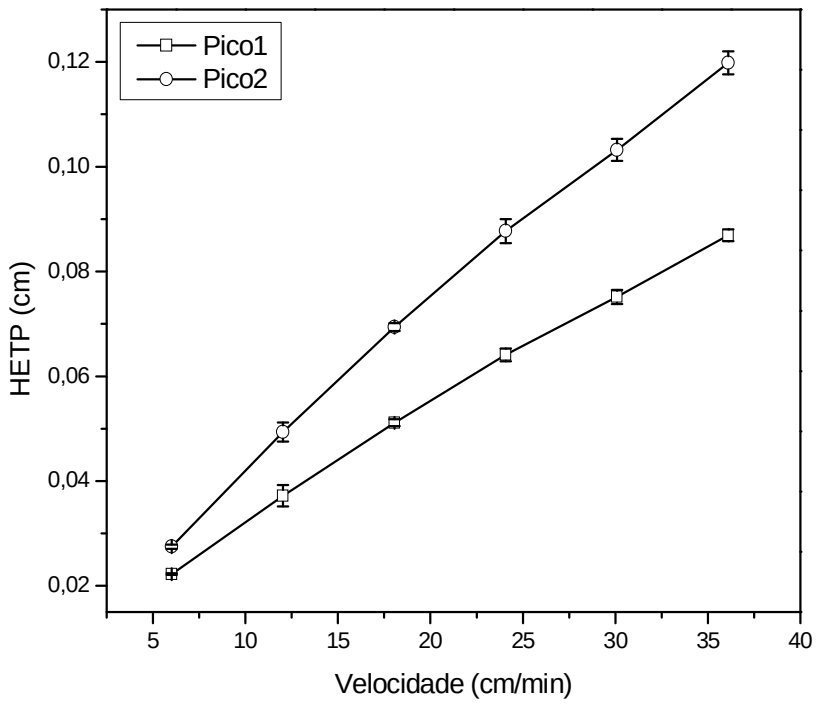


Figura 8.4: Altura equivalente de pratos teóricos como função da velocidade linear para ambos componentes. As barras de erro correspondem ao intervalo de confiança (probabilidade de 95%, segundo a distribuição t-student).

Para o modelo de equilíbrio dispersivo, os efeitos de dispersão associados à transferência de massa são descritos por meio do parâmetro conhecido como coeficiente de dispersão aparente (D_{app}). Tal parâmetro descreve, de forma condensada, os efeitos de transporte de massa.

O valor do coeficiente de dispersão aparente (D_{app}) e do número de Peclet (P_e) foram calculados com base nas expressões mostradas a seguir, e são apresentados nas **Tabelas 8.5 e 8.6**. Na expressão a seguir, u é a velocidade linear do eluente.

$$D_{app} = \frac{HETP.u}{2} \quad \textbf{(8.3)}$$

$$P_e = \frac{N_{pt}}{2} \quad \textbf{(8.4)}$$

Tabela 8.5: Valores calculados para o coeficiente de dispersão aparente (D_{app}) em função da velocidade do eluente. * Intervalo de confiança.

		Velocidade do Eluente (cm/min)					
	D_{app}	6,017	12,034	18,052	24,069	30,086	36,103
	média	0,0669	0,22	0,461	0,77	1,13	1,57
Pico 1	*desvio - padrão*	0,0002	0,005	0,004	0,01	0,01	0,01
	*IC(95%)**	0,0004	0,01	0,006	0,01	0,02	0,02
	média	0,083	0,297	0,626	1,06	1,55	2,16
Pico 2	*desvio - padrão*	0,001	0,004	0,004	0,01	0,02	0,02
	*IC(95%)**	0,001	0,01	0,007	0,03	0,03	0,04

Os valores obtidos para o número de Peclet foram utilizados no modelo da coluna cromatográfica, o qual integra o algoritmo para estimação de parâmetros.

Tabela 8.6: Valores calculados para o número de Peclet (P_e) em função da velocidade do eluente. * Intervalo de confiança.

		Velocidade de Eluente (cm/min)					
	Pe	6,017	12,034	18,052	24,069	30,086	36,103
	média	2248	1345	978	780	665	575
Pico 1	*desvio - padrão*	2	1	2	2	2	1
	*IC(95%)**	4	2	3	4	3	2
	média	1820	1013	720	570	484	417
Pico 2	*desvio - padrão*	3	4	1	2	2	1
	*IC(95%)**	7	9	2	4	2	2

Os desvios padrão relacionados ao coeficiente de dispersão aparente e ao Peclet foram calculados utilizando-se as **Eq. 8.5 e 8.6**.

$$\delta {D_a}^2 = \left(\frac{\partial D_a}{\partial HETP}\right)^2 \delta HETP^2 \quad \textbf{(8.5)}$$

$$\delta {P_e}^2 = \left(\frac{\partial P_e}{\partial N_{pratos}}\right)^2 \delta {N_{pratos}}^2 \quad \textbf{(8.6)}$$

8.3 Calibração do detector

8.3.1 Dados experimentais para absorvância em função de concentração da amostra.

Os dados experimentais para a construção da curva de calibração do detector UV-VIS utilizado no sistema cromatográfico foram obtidos a 210 nm, com uma vazão de etanol de 0,5 mL/min. O detector foi calibrado utilizando-se soluções de praziquantel (R+S) em etanol com concentrações variando de 0,01 a 3,7 g/L.

Os valores médios de absorvância são apresentados na **Tabela 8.7**, juntamente com alguns parâmetros de dispersão estatística.

Tabela 8.7: Valores de Absorvância registrados pelo detector para cada concentração testada. Volume injetado de 200,0 µL.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Absorvância (mAU)			
Concentração de PZQ (R+S) (g/L)	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC$_{(95\%)}$****
0,01	75^{i}	2	2,24	3
0,11	400^{h}	3	0,81	5
0,30	1106^{g}	9	0,81	22
0,50	1625^{f}	1	0,03	5
0,80	2557^{e}	3	0,12	5
1,26	3248^{d}	1	0,02	1
1,80	3629^{c}	16	0,45	26
2,52	4169^{b}	23	0,55	37
3,70	5000^{a}	1	0,02	2,48

Pode-se observar que de forma geral, os dados experimentais possuem baixa dispersão, devido aos baixos valores de desvio-padrão e coeficiente de variação.

Observa-se também que somente a média referente à concentração de 0,01 g/L possui um coeficiente de variação maior comparado aos outros dados. Isso pode estar relacionado ao fato de que em baixas concentrações de analito o detector

trabalha muito próximo do limite inferior de detecção, fornecendo medidas com erros mais elevados.

Verificou-se que o detector satura, ou seja, atinge o limite máximo de absorvância registrada em concentrações próximas a 3,7 g/L, nas quais o valor registrado pelo equipamento é de aproximadamente 5000,0 mAU.

Observa-se que o valor de p-level do teste de aderência de Shapiro-Wilk apresenta-se maior que o nível de significância adotado (α = 0,05). É possível notar, que os pontos plotados estão bem próximos da reta que secciona o gráfico, indicando um tendência ao comportamento normal (**Figura B.5, Anexo B.4**). Assim não rejeita-se a hipótese de normalidade dos dados experimentais.

Com base nisso, prosseguiu-se com a análise da variância, a qual revelou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os dados experimentais, de forma global. Isso é observado devido ao valor do p-level calculado para o teste F ser inferior a 0,05 (**Tabela B.13, Anexo B.4**).

O teste de Tukey foi aplicado buscando-se identificar as médias amostrais que contribuem para a existência das diferenças estatísticas observadas.

Sabendo-se que o número de graus de liberdade para o erro foi de 23, sendo o número de tratamentos igual a 9, o valor calculado para a mínima diferença significativa foi de 8,28. Observou-se que as diferenças entre as médias amostrais para todos os pares de tratamentos (**Tabela B.14, Anexo B.4**) foram superiores ao valor calculado para o MDS, ao nível de significância considerado de 5% (α = 0,05). Assim, pode-se afirmar que todas as médias são mutuamente diferentes umas das outras.

Os dados experimentais obtidos para a calibração do detector, apresentados e analisados até o presente ponto encontram-se satisfatoriamente adequados para a representação da relação não-linear existente entre a resposta do equipamento (absorvância, mAU) e a concentração do analito injetado (g/L). Desta forma, pode-se afirmar que os dados podem ser utilizados para a obtenção de modelos de ajuste para a curva de calibração do detector com boa confiabilidade.

A curva de calibração do detector foi elaborada a partir do ajuste de um modelo matemático aos dados experimentais obtidos. Como é esperado que a resposta do equipamento exiba comportamento linear em baixas concentrações, comportamento não-linear em concentrações elevadas e uma região de saturação, o modelo selecionado para realização do ajuste tem a forma da **Eq. 8.8.**

$$mAU = \frac{A.C(g/L)}{1+B.C(g/L)} \quad \textbf{(8.7)}$$

O modelo apresentado na **Eq. 8.7** foi ajustado aos dados experimentais por meio de um procedimento de regressão não-linear. Tal procedimento foi implementado utilizando-se a função *Solver* do software Microsoft Excel 2007®, na qual se buscou estimar os valores das constantes de ajuste (A e B do referido modelo) por meio da minimização da função objetivo, cuja forma é apresentada na **Eq. 8.8**.

$$F_{obj} = \sum_{i=1}^{n} \frac{\left(Abs_{i,exp} - Abs_{i,cal}\right)^2}{\sigma_i^2} \quad \textbf{(8.8)}$$

Na equação anterior, $Abs_{i,exp}$ é o valor da absorvância experimental, $Abs_{i,cal}$ é o valor calculado pelo modelo e σ_i^2 é a variância experimentalmente observada em cada condição.

Desta forma, obteve-se a curva de ajuste apresentada na **Figura 8.5**, juntamente com os dados experimentais utilizados.

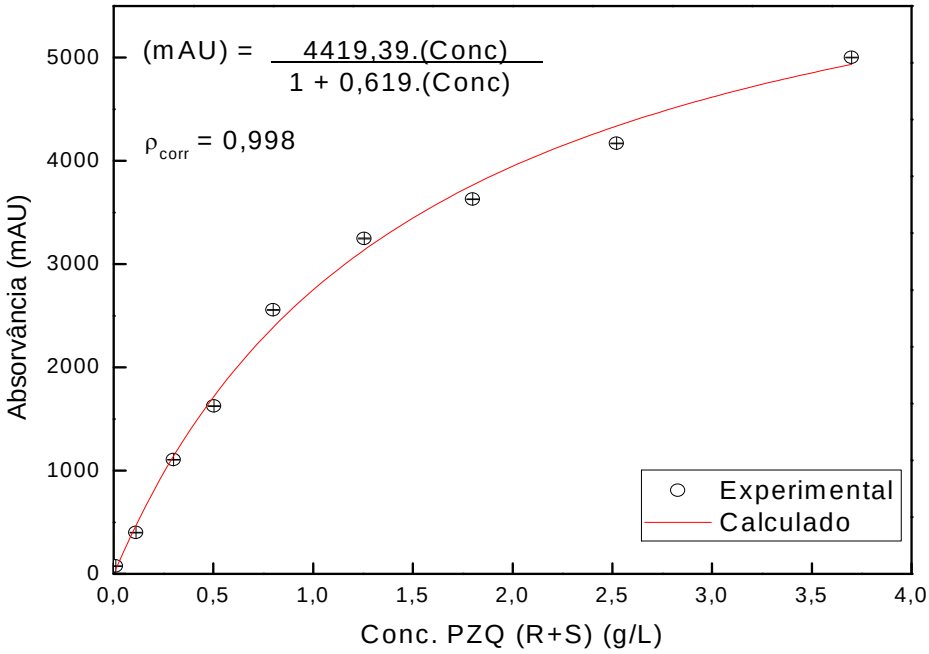


Figura 8.5: Curva de Calibração para a resposta do detector, obtida por regressão não-linear. Parâmetros (média ± $IC_{(95\%)}$): A = 4419 ± 3 mAU.L/g e B = 0,6188 ± 0,0006 L/g.

Os valores dos parâmetros de ajuste são apresentados na **Tabela 8.8**. Os desvios padrão paramétricos foram estimados por meio do cômputo da matriz de covariâncias, apresentada no **Anexo B.4**, juntamente com as matrizes de correlação e desvios da predição.

Tabela 8.8: Valores estimados e dispersão estatística para os parâmetros de ajuste do modelo de calibração. *Intervalo de confiança.

Parâmetros	*Média*	*Desvio-padrão*	*$IC_{(95\%)}$**
A	4419	2	3
B	0,6188	0,0003	0,0006

O teste χ^2 foi utilizado para avaliar a qualidade do ajuste do modelo aos dados experimentais. O valor final da função objetivo foi de 55677,14, o número total de réplicas foi de 37, distribuídos em 9 tratamentos experimentais e 2 é o número de parâmetros. Assim, o os valores tabelados para χ^2_{min} e $\chi^2_{máx}$ foram de 20,57 e 53,20 respectivamente.

Como o valor da função objetivo é muito superior ao valor de $\chi^2_{máx}$, pode-se afirmar que o modelo não é capaz de explicar os erros experimentais observados e que os erros de predição são maiores que os experimentais.

Segundo a literatura, nestes casos, recomenda-se o teste de outros modelos matemáticos de tal maneira a tornar as diferenças entre as variâncias experimentais e preditas não significativas.

Observou-se, porém, que o coeficiente de correlação foi de 0,9979, indicando excelente concordância entre os valores médios experimentais e aqueles preditos pelo modelo.

Como foi demonstrado, os experimentos para calibração foram realizados gerando-se, pelo menos, três ou mais medidas experimentais. Além disso, como se evidenciou, as medidas são satisfatoriamente precisas e possuem baixa dispersão estatística em relação às médias. Assim, além de representar adequadamente o comportamento qualitativo do sinal do equipamento, o modelo descreve bem, o comportamento das médias amostrais obtidas para cada condição testada.

Dessa forma, optou-se pela utilização deste modelo para a conversão dos valores do sinal (em mAU), para valores em unidades de g/L. Tal transformação de dados é de grande importância para a correta implementação do procedimento de estimação de parâmetros de isotermas, dado que o mesmo necessita de dados experimentais em unidades adequadas.

8.4 Separação preparativa dos enantiômeros do Praziquantel

Os enantiômeros do praziquantel foram separados com o sistema operando a 2 mL/min e alimentando-se pulsos de 200,0 µL de solução a 40 g/L. Os componentes separados foram coletados em tubos de ensaio.

O equipamento foi programado para realizar a limpeza do bico coletor entre cada um dos pulsos injetados, porém não foi realizada a limpeza do mesmo no período de tempo entre as frações coletadas, pelo fato de o mesmo ser muito curto. A limpeza foi realizada permitindo-se a passagem do solvente, que eluiu por meio do sistema, pelo bico coletor durante um período de tempo pré-determinado.

As frações coletadas foram concentradas e dessecadas para a obtenção das amostras na forma sólida. Após a execução destas etapas, para remoção do etanol residual, o sólido se encontrava em condições de uso para a determinação da pureza e obtenção dos perfis de sobrecarga dos enantiômeros puros.

A pureza das amostras foi determinada por meio da relação entre áreas dos picos identificados nos cromatogramas, seguindo a fórmula descrita na **Eq. 8.9**. Na qual, *i* identifica um dos enantiômeros de interesse (enantiômero referente ao Pico 1 ou Pico 2).

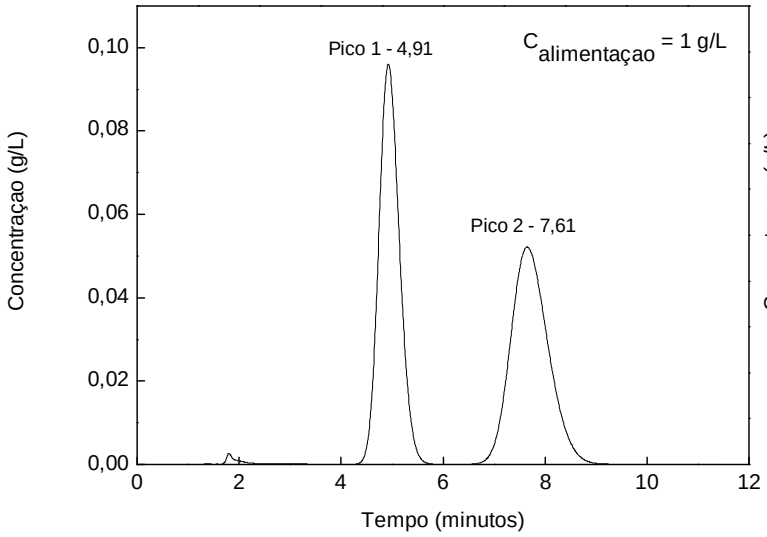
$$Pureza_i(\%) = \frac{(Área_i)}{(Área_{pico1} + Área_{pico2})} . 100\% \quad \textbf{(8.9)}$$

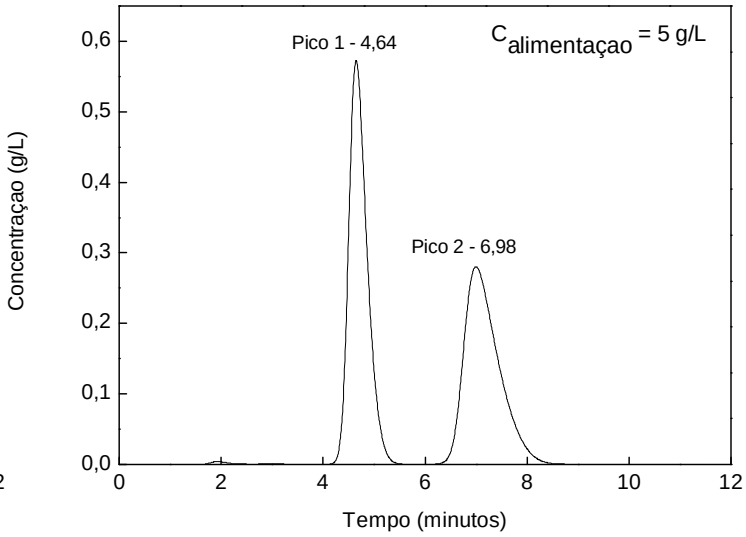
A pureza calculada para cada amostra dos enantiômeros foi de, aproximadamente, 91 ± 2 % e 97,4 ± 0,1 % (média ± $IC_{95\%}$), para os Picos 1 e 2 respectivamente. É importante ressaltar que este valor de pureza refere-se somente à pureza enantiomérica das amostras, o que não expressa a pureza absoluta das mesmas. Isso é evidente, uma vez que outros possíveis contaminantes presentes podem não ser detectados no comprimento de onda de máxima absorvância do praziquantel (210 nm).

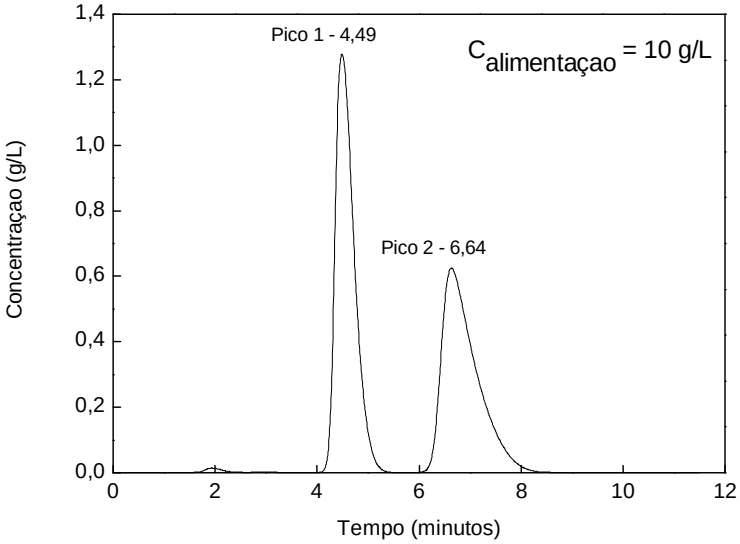
8.5 Perfis de Sobrecarga Experimentais

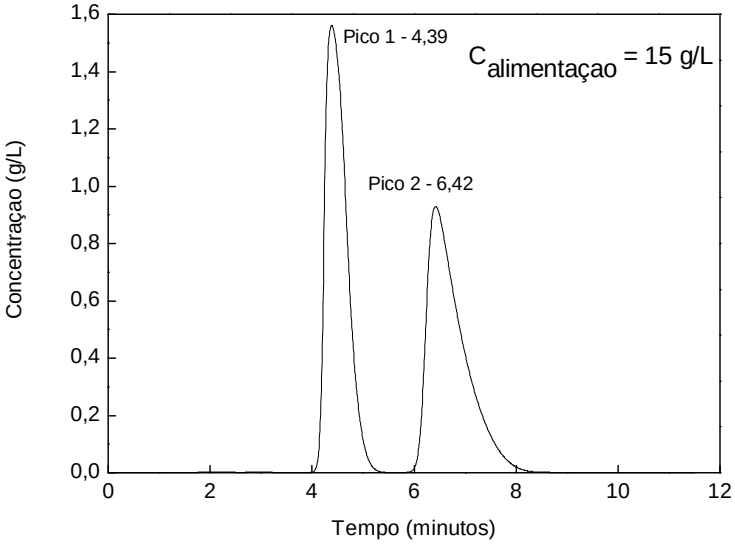
8.5.1 Perfis de concentração experimentais - mistura racêmica

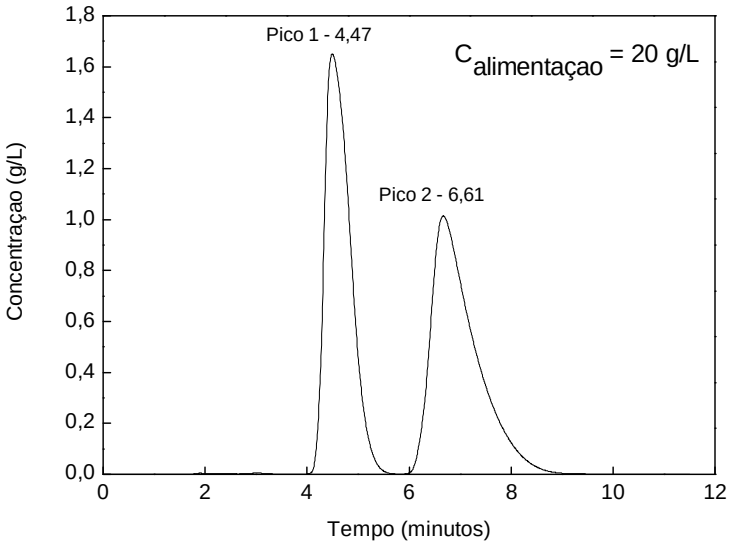
Os perfis de concentração gerados a partir da injeção de 200,0 µL de solução de praziquantel (R + S) nas concentrações de 1, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 g/L são apresentados na **Figura 8.6**. Todos os cromatogramas foram obtidos à uma temperatura de 22 ± 1 ºC. Os perfis cromatográficos são apresentados com o sinal de absorvância já convertida para concentração, utilizando a curva de calibração obtida anteriormente.

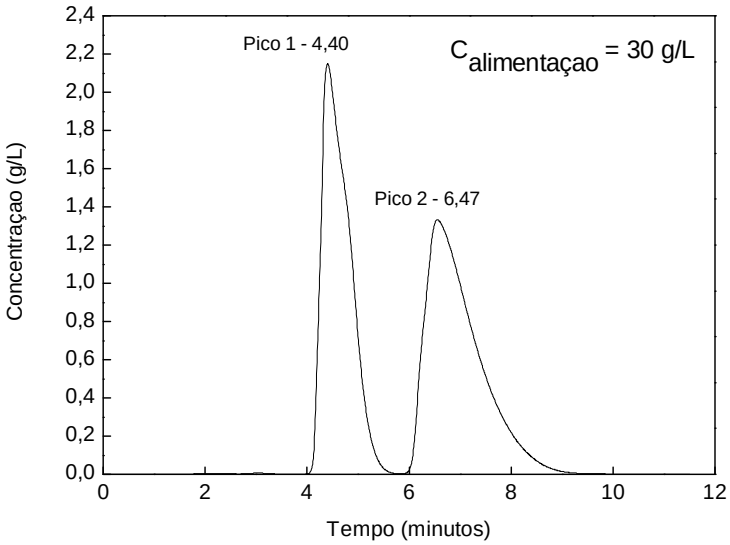

Pico 1 - 4,91
Pico 2 - 7,61
C alimentaçao = 1 g/L
Concentraçao (g/L)
Tempo (minutos)


Pico 1 - 4,64
Pico 2 - 6,98
C alimentaçao = 5 g/L
Concentraçao (g/L)
Tempo (minutos)


Pico 1 - 4,49
Pico 2 - 6,64
C alimentaçao = 10 g/L
Concentraçao (g/L)
Tempo (minutos)


Pico 1 - 4,39
Pico 2 - 6,42
C alimentaçao = 15 g/L
Concentraçao (g/L)
Tempo (minutos)


Pico 1 - 4,47
Pico 2 - 6,61
C alimentaçao = 20 g/L
Concentraçao (g/L)
Tempo (minutos)


Pico 1 - 4,40
Pico 2 - 6,47
C alimentaçao = 30 g/L
Concentraçao (g/L)
Tempo (minutos)

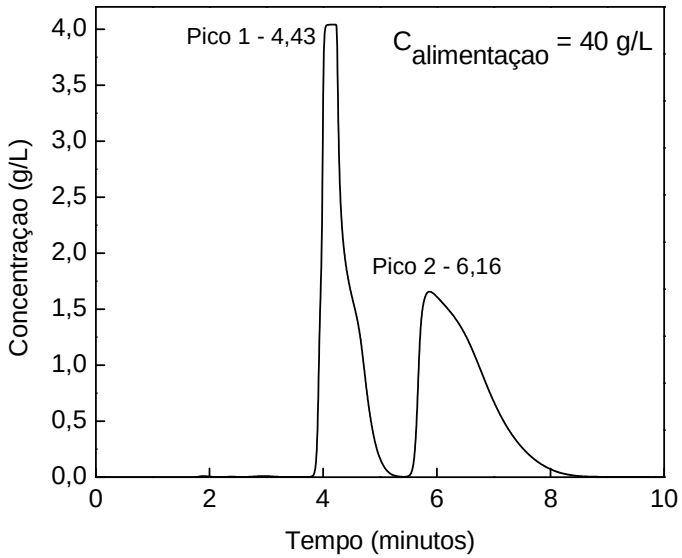


Figura 8.6: Perfis de concentração em condições de sobrecarga para amostras de praziquantel (R + S). Volume de injeção = 200,0 µL, Vazão = 2,0 mL/min.

Observa-se que houve separação por linha de base em todas as concentrações testadas, indicando a grande eficiência da fase estacionária quiral utilizada.

Foi observado que os perfis obtidos à baixas concentrações, como 1 e 5 g/L apresentam picos bastante simétricos, aparentemente, denotando uma relação linear, entre a concentração na fase adsorvida e volumar, característico de isotermas do tipo Henry.

Observa-se então, o aparecimento de não-linearidades (assimetria dos picos) a partir de 10 g/L até 40 g/L. Dentre as não-linearidades observadas estão a formação de "cauda", claramente evidentes no comportamento do Pico 2 e o aparecimento de "ombros", observado no comportamento do Pico 1.

Outro fenômeno observado, é a redução dos tempos de retenção dos picos, conforme há o aumento da concentração da solução inicialmente alimentada. Tal fato, embora, normalmente esperado, é observado a partir da concentração de 1g/L até 15 g/L. Doravante a concentração de 20 g/L à 30 g/L, pode-se notar que os tempos de retenção não se comportam conforme a tendência anteriormente observada e, ao contrário, aumentam de valor.

Entretanto, na concentração de 40 g/L o tempo de retenção diminui de valor novamente. Tais fatos podem ser mais facilmente constatados, se o tempo de

retenção da frente de massa, caracterizando o avanço da frente de massa, for observado, ao invés dos tempos de retenção.

Na **Figura 8.7**, são mostrados os cromatogramas para as concentrações testadas, no qual se observa o que foi anteriormente descrito.

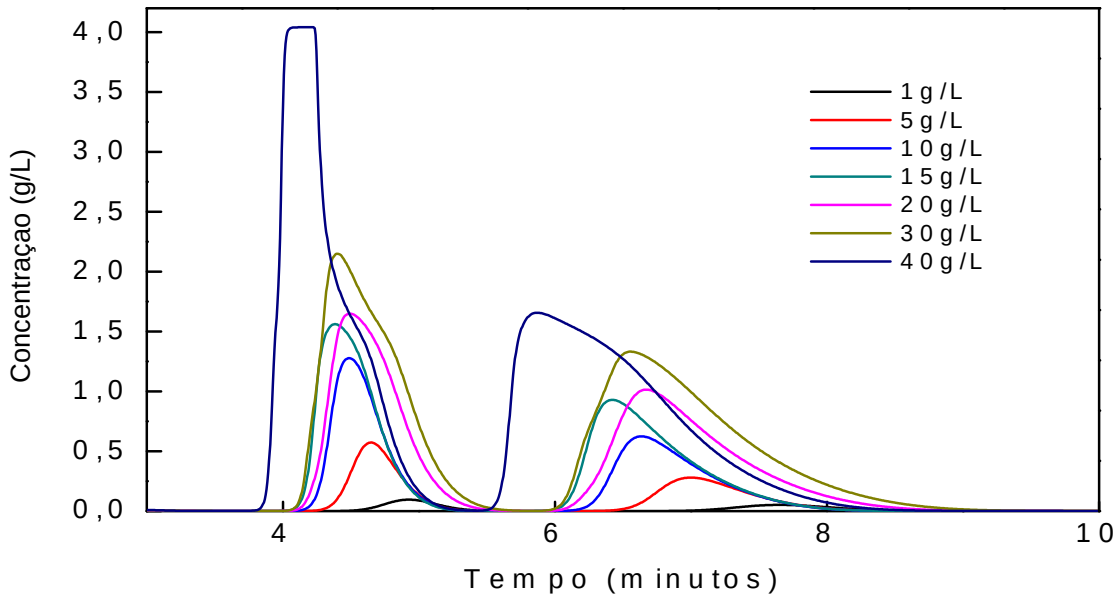


Figura 8.7: Perfis de concentração obtidos para injeção de amostras de praziquantel em diversas concentrações de alimentação. Plotagem para comparação entre os cromatogramas. *Condições de operação: 2,0 mL/min (vazão), 200,0 µL (volume de injeção).

Outra particularidade também é evidente. Os tempos de retorno do sinal para linha de base, relacionados à dessorção dos componentes da fase estacionária, são similares para a faixa de concentração de alimentação compreendida entre 1 e 15 g/L. A partir da concentração de 20 g/L, nota-se que o valor dos tempos de retorno para linha de base aumentam, paralelamente ao que foi observado com os tempos de retenção.

Tais fatos levaram os autores a cogitarem a exploração da faixa de concentrações compreendida entre 20 e 40 g/L, de modo a confirmar as peculiaridades observadas. Desta forma, foi realizado o refino desta faixa de concentração, repetindo-se os experimentos em condições idênticas, porém com valores de concentração intermediários. Os resultados e observações experimentais são apresentados na seção a seguir.

8.5.2 Refino experimental para a faixa de altas concentrações

A informação relativa aos perfis de concentração na faixa de concentrações entre 20,0 e 40,0 g/L foi refinada por meio da obtenção de cromatogramas para as concentrações intermediárias de 25, 27, 33, 35 e 37 g/L de PZQ racêmico.

Os cromatogramas foram gerados nas mesmas condições de operação que os perfis mostrados anteriormente, ou seja, vazão de 2,0 mL/min e volume de injeção de amostra de 200,0 µL.

Na **Figura 8.8**, são apresentados os perfis cromatográficos para as concentrações de alimentação citadas.

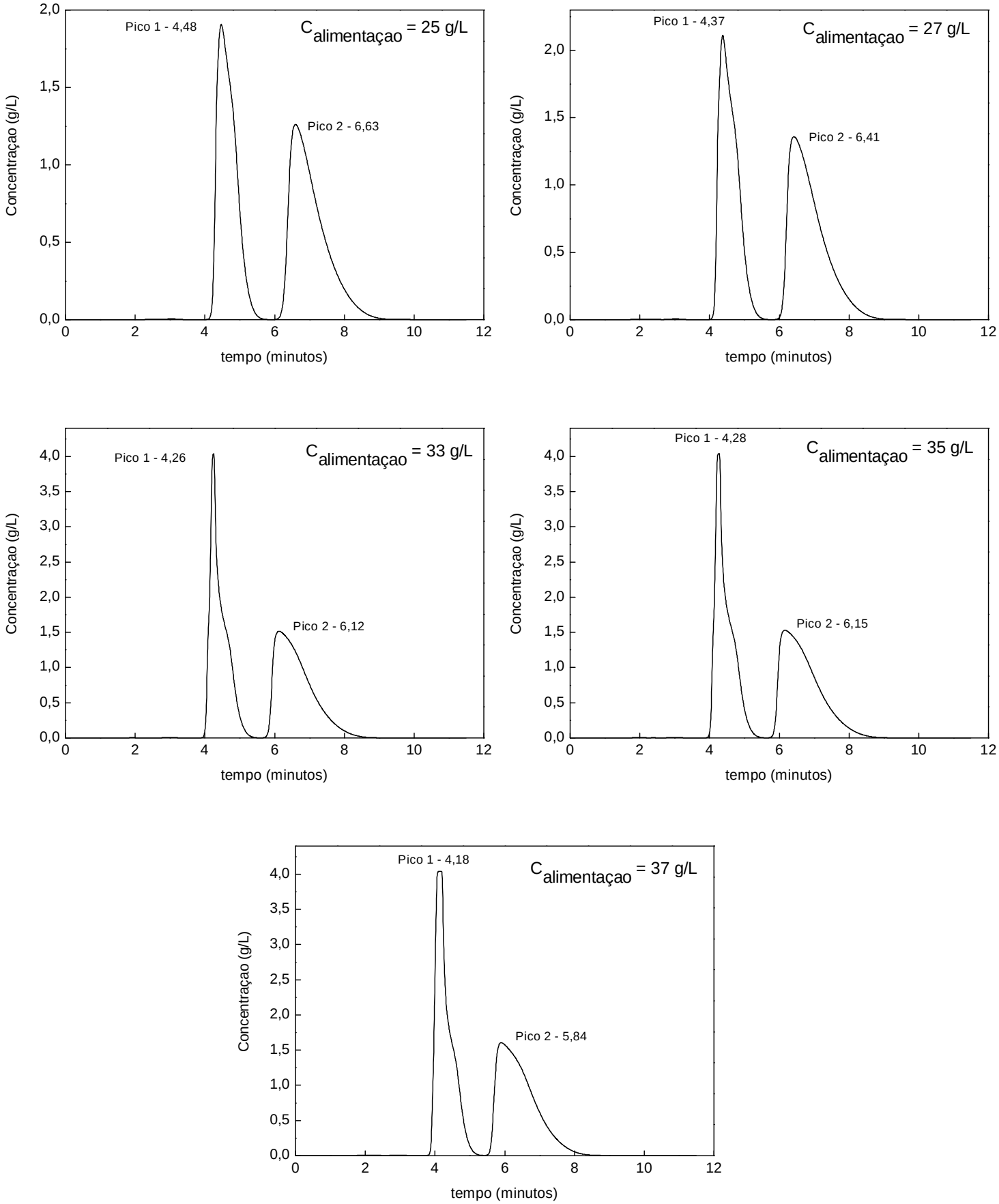


Figura 8.8: Perfis cromatográficos para concentrações de 25, 27, 33, 35 e 37 g/L de praziquantel racêmico. Volume de injeção = 200,0 µL, Vazão = 2,0 mL/min.

Os perfis de concentração foram comparados juntamente com os cromatogramas resultantes da alimentação de amostras a 15, 20, 30 e 40 g/L. Tal comparação é apresentada na **Figura 8.9**.

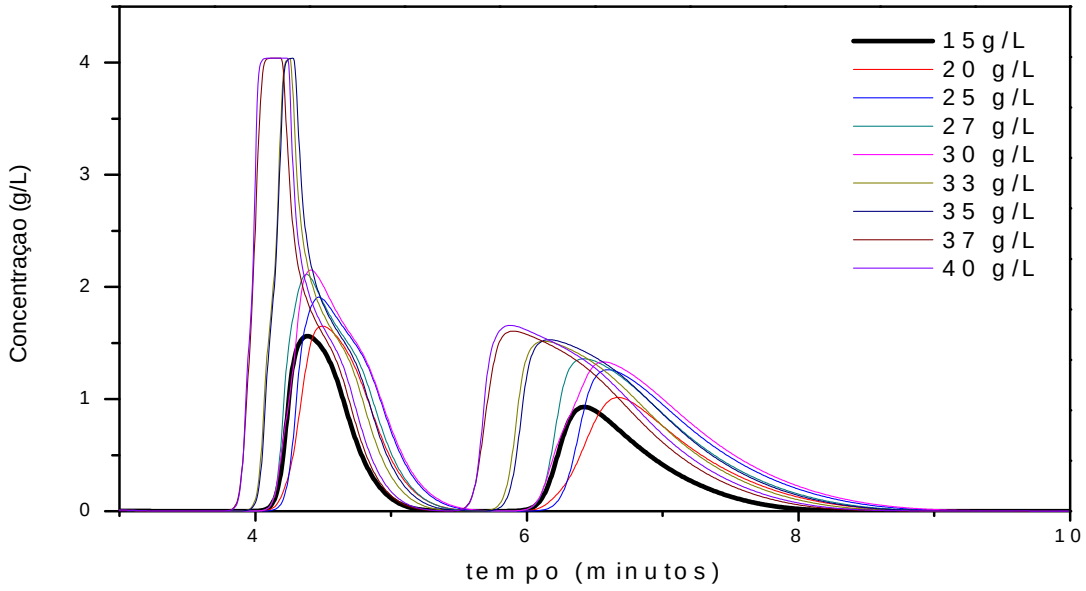


Figura 8.9: Perfis cromatográficos para concentrações de alimentação entre 15 a 40 g/L. Linha cheia - 15 g/L; Linhas Coloridas - concentrações de 20 a 40 g/L.

Pode-se notar que o comportamento anteriormente observado reproduz-se para a faixa de concentrações intermediárias analisada. Percebe-se que os tempos de retorno do sinal para a linha de base aumentam com o aumento da concentração de alimentação, a partir de 20 g/L. Além disso, nota-se novamente que os tempo de retenção dos picos no perfil a 20 g/L são maiores que aqueles a 15 g/L e aumentam timidamente com o aumento da concentração.

A análise quantitativa do comportamento dos perfis de concentração pode ser realizada por meio da avaliação de alguns parâmetros característicos, anteriormente referenciados, como o tempo de retenção, tempo de retenção da frente de massa ou o tempo de retenção da frente de dessorção.

A análise estatística detalhada dos tempos de retenção da frente de massa é apresentada no **Anexo B.5**. O tempo de retenção da frente de massa foi escolhido pelo fato de que o tempo de retenção, embora mais comumente utilizado, não pôde ser calculado corretamente, posto que a resposta do detector ultrapassa o limite máximo de detecção para algumas das concentrações testadas.

O tempo de retenção da frente de massa foi correta e facilmente calculado a partir da derivada do sinal em cada cromatograma obtido. O valor deste parâmetro se caracteriza como o primeiro ponto no qual há a alteração brusca do comportamento da derivada do sinal em relação ao tempo (**Figura 8.10**).

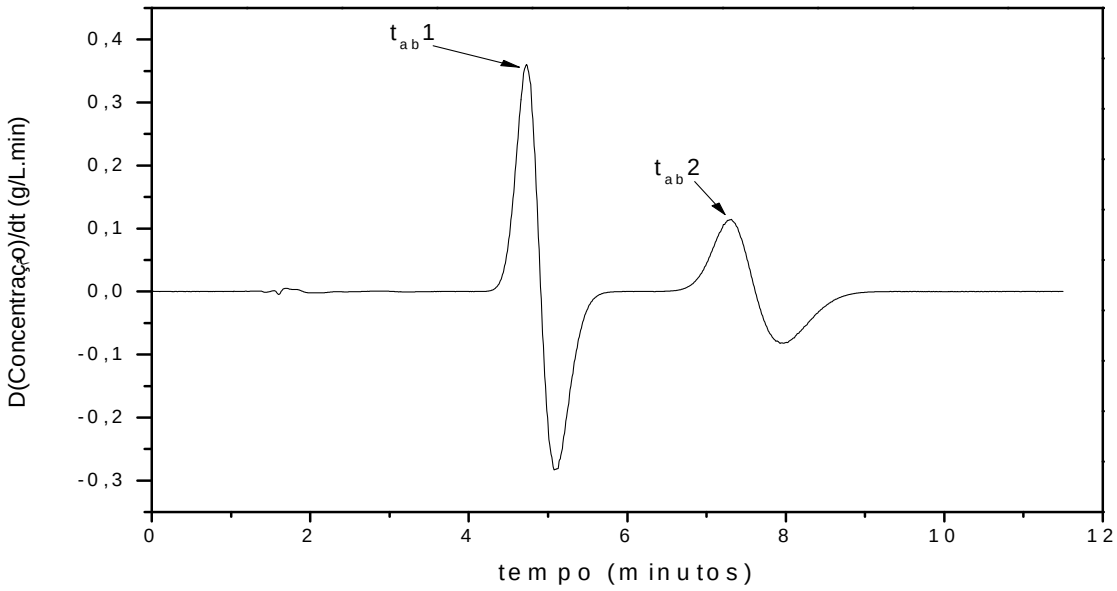


Figura 8.10: Derivada do sinal em relação ao tempo. Os tempos $t_{ab}1$ e $t_{ab}2$ caracterizam os tempos de retenção da frente de massa, identificando o primeiro ponto no qual ocorre a alteração repentina do comportamento do valor da derivada.

Os valores médios dos tempos de retenção da frente de massa e sua variação experimental são apresentados nas **Tabelas 8.9 e 8.10**.

Tabela 8.9: Tempos para retenção da frente de massa para o Pico 1.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

Tempo de retenção da frente de massa (min)				
Concentração (g/L) - Pico 1	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC$_{(95\%)}$****
0,5	4,75[a]	0,02	0,42	0,03
2,5	4,51[b]	0,04	0,91	0,07
5,0	4,33[c]	0,01	0,23	0,02
7,5	4,22[d]	0,01	0,14	0,01
10,0	4,31[c]	0,03	0,60	0,03
12,5	4,28[c]	0,02	0,56	0,04
13,5	4,20[d]	0,01	0,26	0,02
15,0	4,18[d]	0,02	0,43	0,02
16,5	4,05[e]	0,07	1,75	0,01
17,5	4,07[e]	0,01	0,32	0,02
18,5	3,93[f]	0,02	0,52	0,03
20,0	3,92[f]	0,01	0,24	0,02

Tabela 8.10: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

Tempo de retenção da frente de massa *(min)*				
Concentração (g/L) - Pico 2	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC(95%)****
0,5	7,34[a]	0,03	0,45	0,05
2,5	6,75[b]	0,04	0,59	0,01
5,0	6,41[c]	0,01	0,12	0,02
7,5	6,20[d]	0,01	0,16	0,02
10,0	6,38[c]	0,04	0,60	0,06
12,5	6,35[c]	0,05	0,72	0,07
13,5	6,19[d]	0,02	0,36	0,04
15,0	6,15[d]	0,02	0,39	0,03
16,5	5,90[e]	0,01	0,18	0,03
17,5	5,94[e]	0,02	0,33	0,02
18,5	5,68[f]	0,02	0,35	0,03
20,0	5,66[f]	0,01	0,18	0,02

A análise da variância (**Anexo B.5, Tabelas B.20 e B.21**) revelou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os valores de tempos analisados. O teste de médias de *Tukey* foi aplicado e verificou-se que, para um total de 48 dados distribuídos em 12 tratamentos o valor da MDS foi de 0,0449, para o Pico 1 e 0,0652 para o Pico 2. Com isso, grande parte dos valores médios dos tempos de retenção, relacionados aos valores de concentração na alimentação, apresentaram-se estatisticamente diferentes uns dos outros.

Os resultados para o teste de Shapiro-Wilk e a plotagem dos valores dos resíduos experimentais contra os valores Normais esperados são apresentados nas **Figuras B.6 e B.7** (**Anexo B.5**) e demonstram que os resíduos experimentais tendem à uma distribuição normal (*p-level* > 0,05).

Os valores demonstrados nas **Tabelas 8.9 e 8.10** foram plotados em gráficos mostrados nas **Figuras 8.11 e 8.12**, respectivamente. Por meio da representação

gráfica é possível discriminar as faixas de concentração nas quais os efeitos anteriormente comentados surgem.

Verifica-se claramente, que em baixas concentrações, os tempos de retenção se reduzem conforme há o aumento da concentração da amostra alimentada ao sistema cromatográfico. As assimetrias surgem a partir da concentração de 20 g/L na alimentação da mistura, na qual observa-se uma tênue ampliação dos tempos de retenção da frente de massa.

Os perfis de concentração experimentais obtidos e apresentados na presente seção foram utilizados na resolução do problema de estimação de parâmetros de isotermas de adsorção, juntamente com os perfis para os componentes puros, apresentados na **Seção 8.6**.

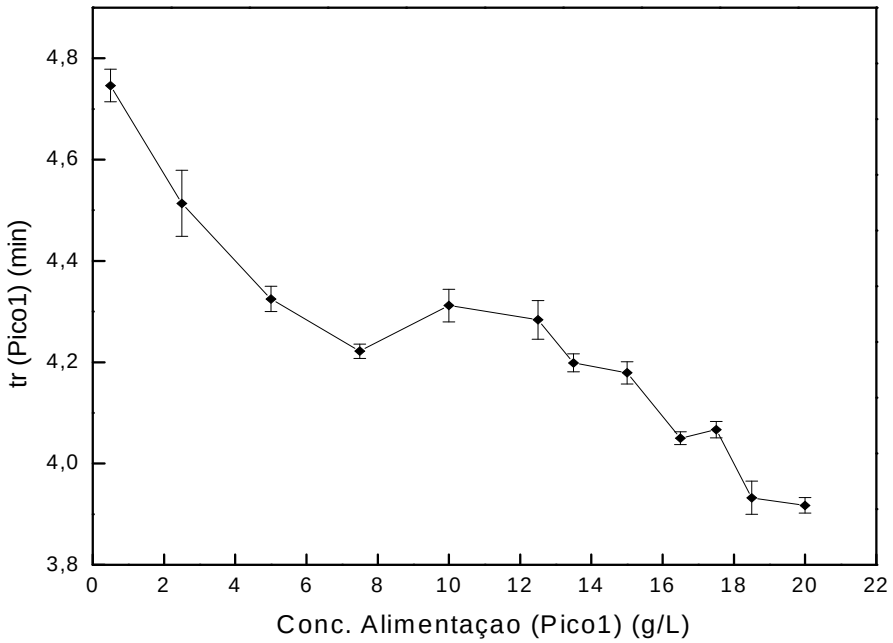


Figura 8.11: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o primeiro componente separado (Pico 1).

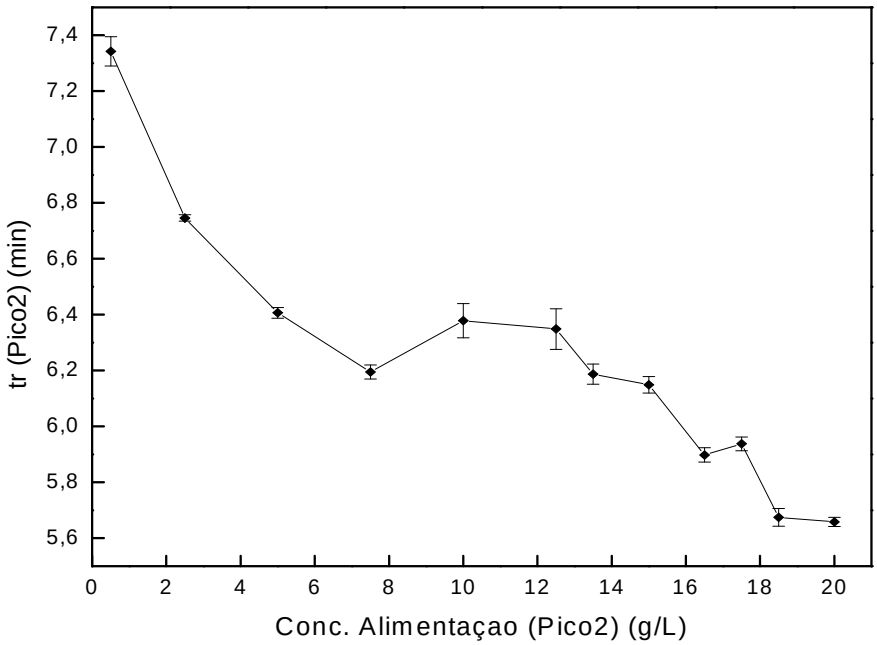


Figura 8.12: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o segundo componente separado (Pico 2).

8.5.3 Perfis de concentração experimentais - componentes puros

Os perfis de sobrecarga foram gerados com os enantiômeros separados buscando-se investigar a resposta produzida pelo sistema ao ser perturbado com quantidades crescentes de um dos componentes majoritariamente.

Vale ressaltar que as expressões "pureza", "componente puro", "enantiômero puro" e similares são utilizadas neste trabalho referenciando as amostras cuja pureza enantiomérica foi determinada e apresentada em seção anterior, a qual trata da separação preparativa dos enantiômeros do praziquantel.

Nas **Figuras 8.13 e 8.14**, são apresentados os perfis de concentração experimentais, gerados como resposta à injeção das amostras dos enantiômeros puros nas concentrações de 0,57, 3,71, 5,02, 7,16, 14,11 e 16,81 g/L. Todos os cromatogramas foram obtidos a uma temperatura de aproximadamente (22 ± 1) ºC.

Os tempos de retenção da frente de massa foram computados de forma similar àquela realizada para os dados oriundos dos perfis cromatográficos para a mistura racêmica (**Tabela 8.11 e 8.12**).

A análise da variância indicou que há diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de tempos de retenção para as diferentes concentrações de alimentação e para ambos componentes puros (**Tabela B.24 e B.25, Anexo B.6**).

Nas **Tabelas B.26 e B.27** (**Anexo B.6**), são apresentados os valores das diferenças entre pares de médias dos tempos de retenção.

Com isso, observou-se que as médias de tempos de retenção para os pares de concentração na alimentação 3,71 - 5,02 g/L e 7,16 - 14,11 g/L, para o Pico 1, não apresentam diferenças estatísticas significativas. Para o Pico 2, determinou-se que todas as médias são estatisticamente diferentes.

Os dados de tempos de retenção foram analisados por meio do teste de aderência de Shapiro-Wilk (**Figura B.8 e B.9, Anexo B.6**). Os valores de 0,91529 (Pico 1) e 0,18439 (Pico 2) foram obtidos para o p-level do teste, o que demonstra que os dados experimentais possuem uma distribuição tendendo à normal.

Tabela 8.11: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 1 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

	Tempo de retenção (frente de massa) (min)			
Concentração do enantiômero (g/L) - Pico 1	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*$\pm IC_{(95\%)}$****
0,57	4,69	0,02	0,36	0,02
3,71	4,42	0,02	0,36	0,02
5,02	4,41	0,02	0,48	0,02
7,16	4,25	0,02	0,57	0,02
14,11	4,22	0,02	0,55	0,02
16,11	4,11	0,02	0,43	0,02

Tabela 8.12: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

	Tempo de retenção (frente de massa) (min)			
Concentração do enantiômero (g/L) - Pico 2	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*$\pm IC_{(95\%)}$****
0,66	7,22	0,03	0,37	0,05
3,67	6,80	0,04	0,56	0,06
8,20	6,53	0,06	1,49	0,06
14,56	5,99	0,02	0,31	0,05
22,18	5,46	0,03	0,46	0,06

Os valores médios foram plotados em forma gráfica e são mostrados nas **Figuras 8.15 e 8.16**.

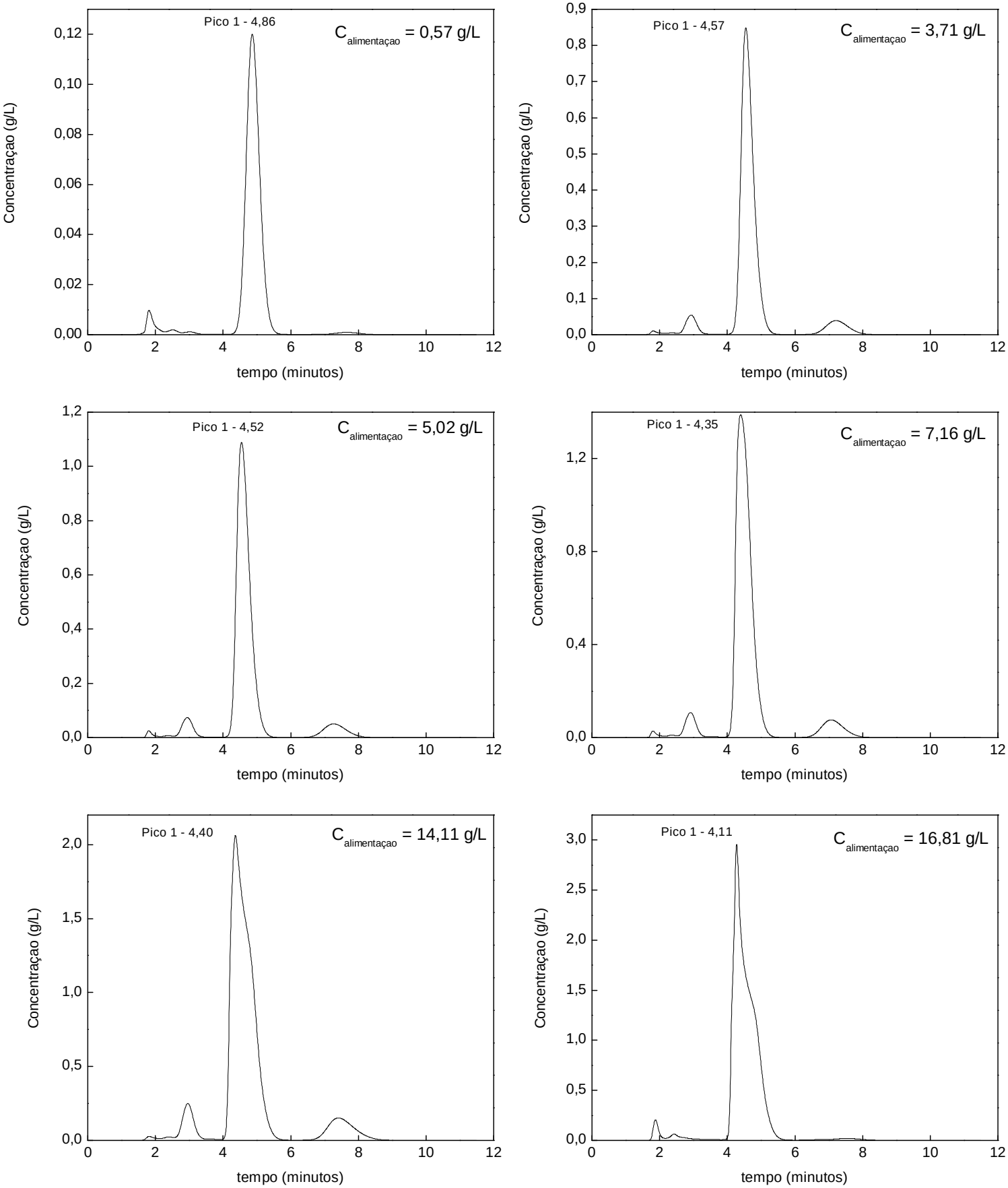


Figura 8.13: Perfis cromatográficos para concentrações de 0,57, 3,71, 5,02, 7,16, 14,11 e 16,81 g/L do Pico 1. Volume de injeção = 200,0 µL, Vazão = 2,0 mL/min.

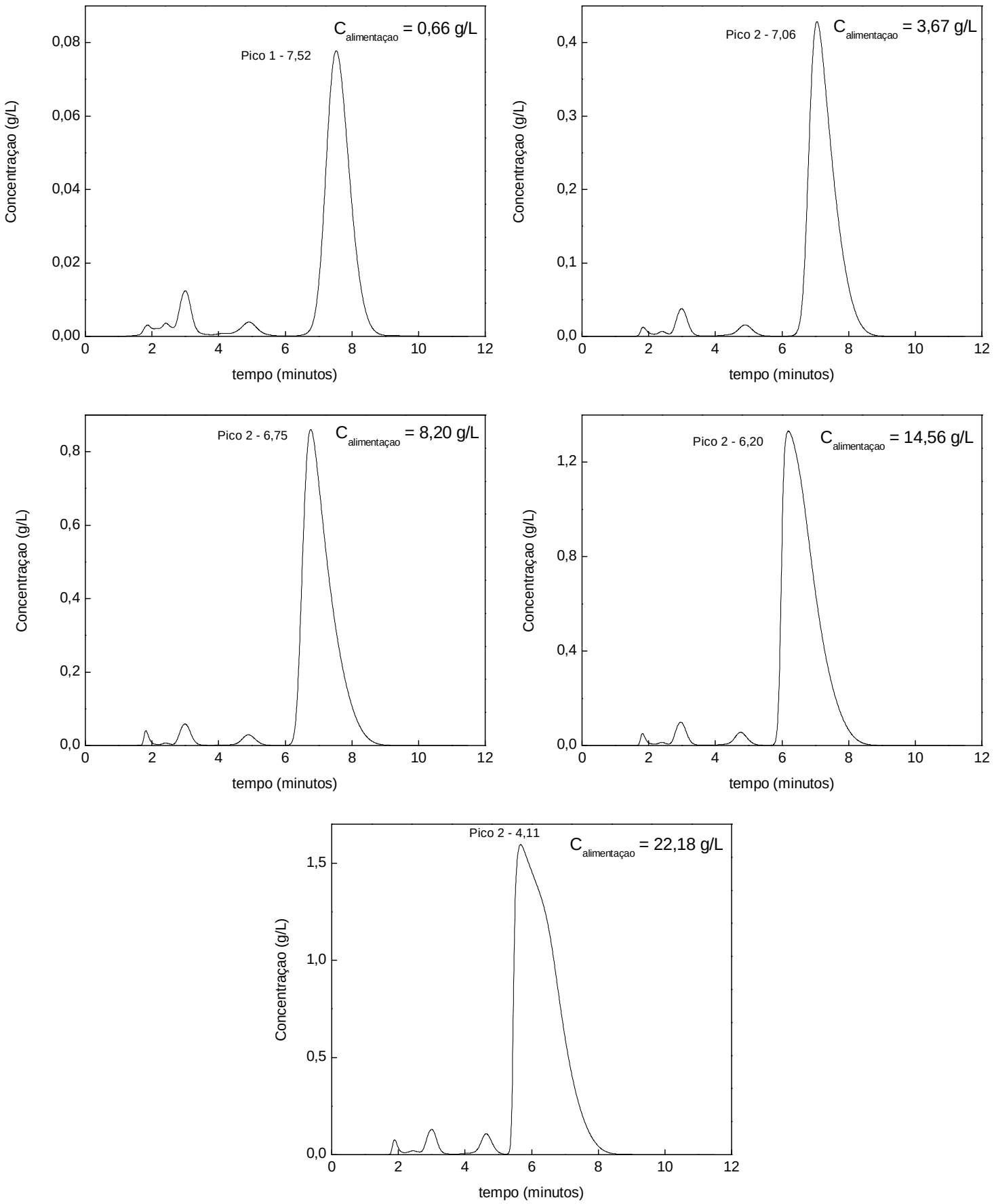


Figura 8.14: Perfis cromatográficos para concentrações de 0,66, 3,67, 8,20, 14,56 e 22,18 g/L do componente 2 (Pico 2).

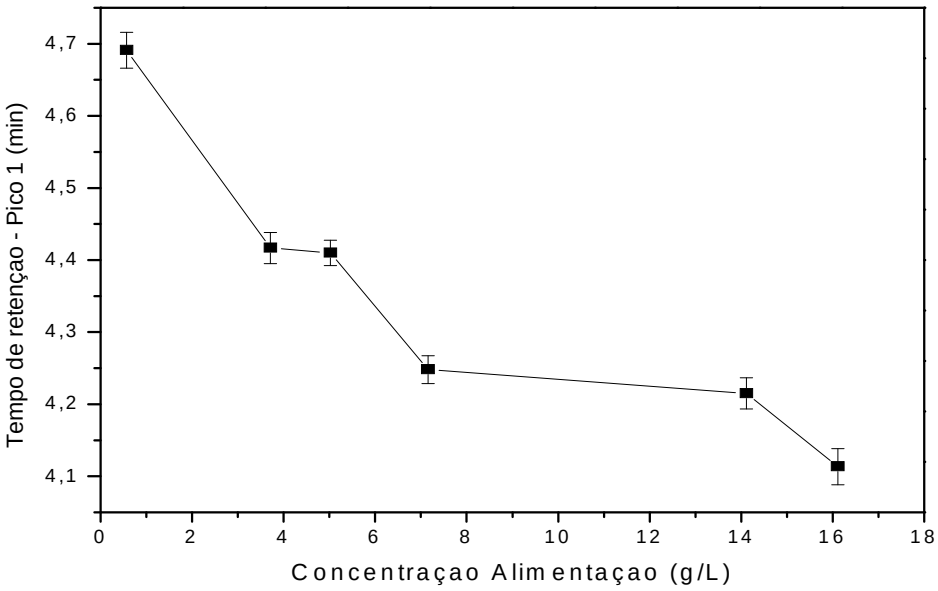


Figura 8.15: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o primeiro componente puro (Pico 1).

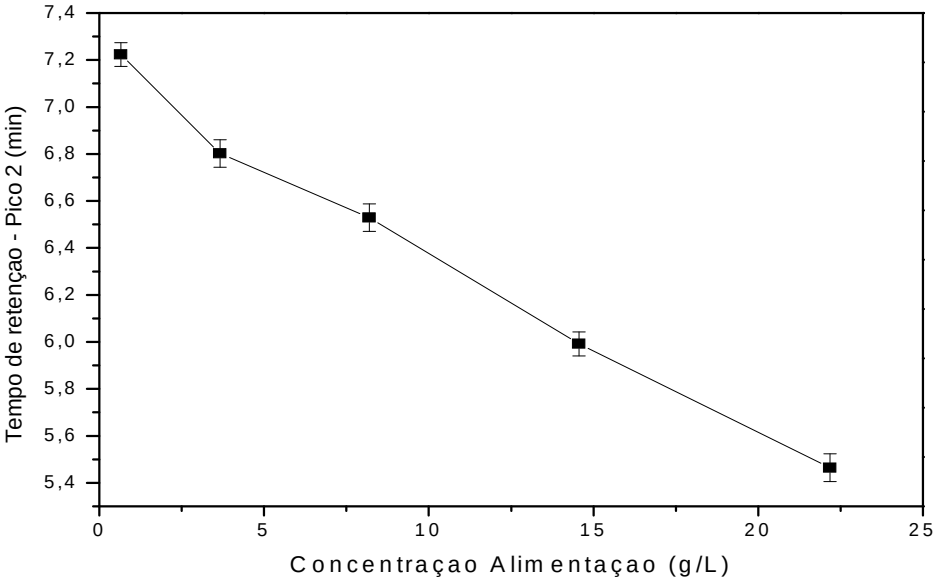


Figura 8.16: Tempos de retenção da frente de massa como função da concentração da amostra alimentada. Dados obtidos para o segundo componente puro (Pico 2).

Pode-se notar que os perfis de concentração para o Pico 1 puro exibiram um comportamento peculiar em altas concentrações da alimentação, de forma semelhante ao observado para os perfis gerados a partir da amostra racêmica. O mesmo foi observado para o Pico 2 puro, cujos perfis de concentração são apresentados na **Figura 8.14**.

As não-linearidades observadas nos perfis de concentração experimentais são melhor visualizadas na **Figura 8.17**, para o Pico 1 puro, e na **Figura 8.18** para o Pico 2 puro.

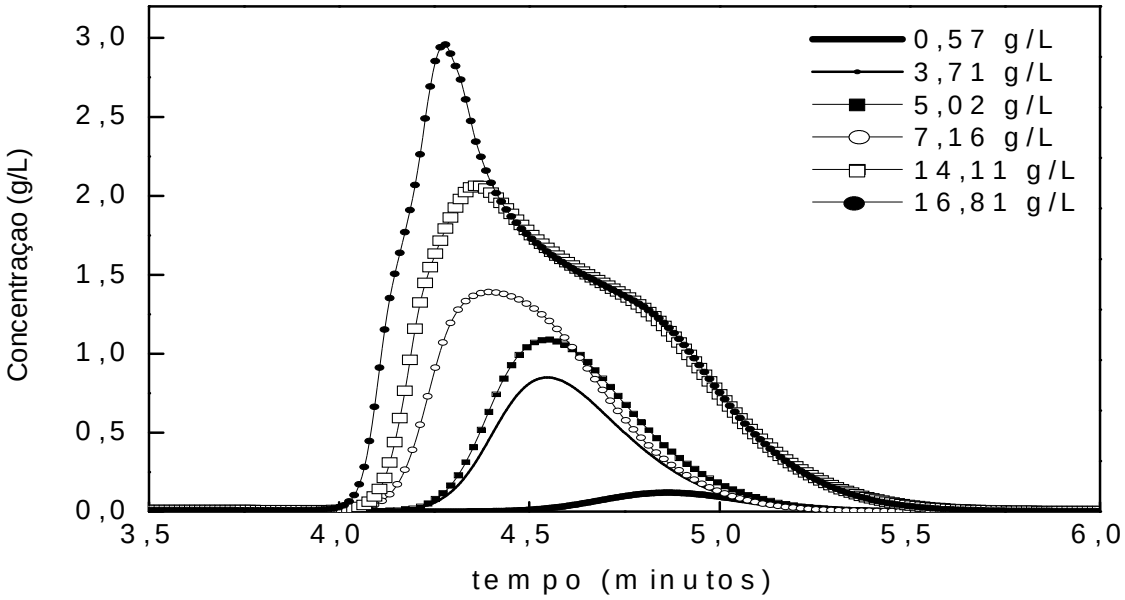


Figura 8.17: Perfis cromatográficos para concentrações de alimentação de 0,57, 3,71, 5,02, 7,16, 14,11 e 16,81 g/L do componente 1 (Pico 1).

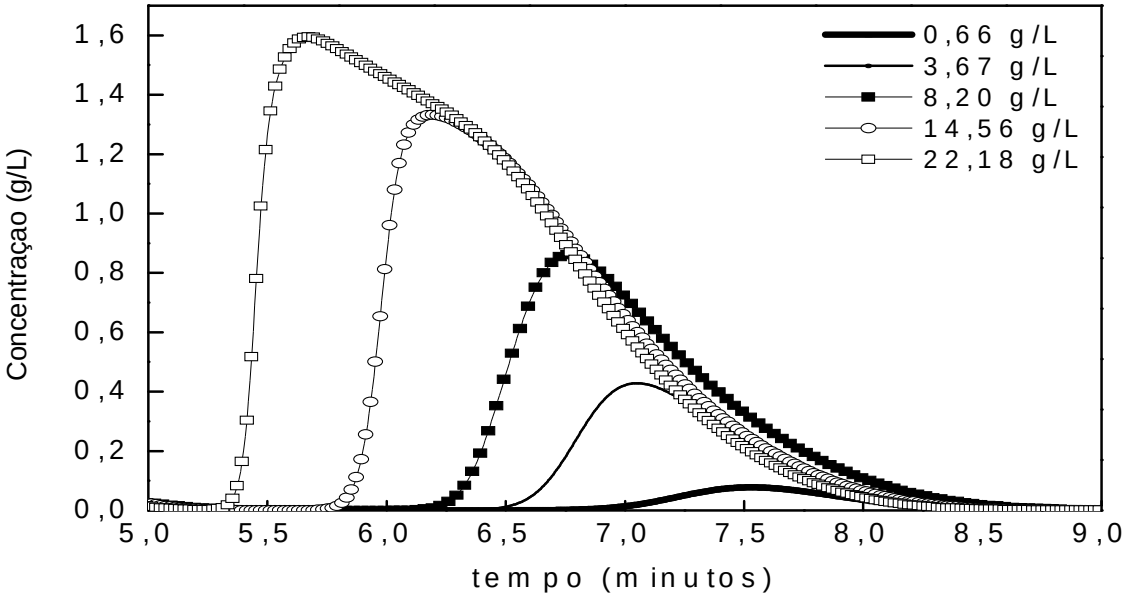


Figura 8.18: Perfis cromatográficos para concentrações de alimentação entre 0,66, 3,67, 8,20, 14,56 e 22,18 g/L do componente 2 (Pico 2).

8.5.4 Análise dos perfis de concentração experimentais para mistura racêmica e componentes puros

Os parâmetros de separação dos analitos são importantes de serem analisados, pois caracterizam a resolução dos componentes nas condições testadas. Os fatores de capacidade para cada componente foram de 1,813 (Pico 1) e 3,352 (Pico 2). Tais valores foram computados utilizando-se o tempo de retenção obtido para a concentração de 1 g/L. A seletividade nesta mesma condição foi de 1,849.

As condições utilizadas no presente trabalho geraram uma melhor separação entre os componentes (α = 1,849), em um tempo menor (10 min), se comparadas com as condições utilizadas pelo fornecedor da fase estacionária - Lux cellulose-2, 5 µm, α = 1,61, tempo total = 18 min, fase móvel: ACN/ 20 nM NH_4HCO_3 + 0,1% DEA (80:20) (PHENOMENEX, 2015c).

LIM & CHING (1996) separaram os enantiômeros do praziquantel e obtiveram seletividades variando de 1,165 a 1,269, para as fases estacionárias celulose tris 3,5-dimetifenilcarbamato, amilose tris 3,5-dimetifenilcarbamato e diversas misturas de Hexano:propanol (fase móvel). Os autores também testaram triacetato de celulose microcristalina (MCTA) como fase estacionária e metanol como fase móvel, o que resultou numa seletividade de 2,916.

A fase estacionária e as condições cromatográficas, utilizadas no presente trabalho, geraram maior enantioseletividade, frente aos enantiômeros do praziquantel, que àquelas encontradas no trabalho de LIM & CHING (1996), sendo inferior apenas, à condição utilizando MCTA.

A literatura atual tem demonstrado que, independentemente das características da fase móvel, a maioria das fases estacionárias baseadas em polímeros modificados com seletores quirais resolvem os mais diversos tipos de analitos, gerando perfis de concentração com características tipo Langmuir. Assim, os perfis tendem a apresentar uma forma gaussiana em baixas concentrações; conforme há o aumento da massa injetada os perfis tendem a apresentar uma frente massa chapada e longas caudas de dessorção (ASNIN, 2012; PEPER *et al.*, 2007; ENMARK *et al.*, 2011).

O mesmo comportamento foi observado para os enantiômeros do praziquantel, tanto em baixas quanto em altas concentrações. Outra característica, comentada anteriormente, relaciona-se ao fato dos tempos de retenção dos picos diminuirem, paralelamente ao aumento da concentração injetada, sendo que, a partir de um certo valor de concentração, verifica-se a ampliação dos tempos de retenção, seguido novamente da redução de valor dos mesmos.

Um comportamento similar foi observado por SEIDEL-MORGENSTERN & GUIOCHON (1993). Os autores verificaram que os tempos de retenção associados aos picos do enantiômeo dextrógiro (+) da base de Troger sofriam um aumento com o aumento da concentração injetada. Este fenômeno foi correlacionado, segundo os autores, à forma da isoterma de adsorção, mais especificamente à presença de pontos de inflexão na mesma.

Os "ombros" observados nos perfis experimentais, tanto nos perfis de mistura racêmica quanto nos perfis de puros, (**Figuras 8.9, 8.17 e 8.18**) podem estar relacionados aos mais diversos fenômenos físicos como formação de multicamadas, interações laterais entre componentes adsorvidos, condensação capilar, etc (ASNIN, 2012). Esse tipo de não-linearidade têm sido observada nos casos em que há separação parcial entre os componentes, o que deve estar associado ao efeito de competição das espécies químicas pelos sítios de adsorção (vide Figura 2 em ZHOU *et al.* (2003), Figuras 8, 9, 10 e 13 em CHARTON *et al.* (1993), Figura 11 em BACIOCCHI *et al.* (2002), Figura 5.A e 5.B em GRITTI & GUIOCHON (2003)).

A ação do eluente sobre a forma das bandas de eluição é outra possibilidade a ser considerada. As deformações observadas nos picos dos analitos podem estar relacionadas à interação do eluente (solvente) com a fase estacionária, normalmente desconsiderada nos estudos envolvendo adsorção em fase líquida (GUIOCHON *et al.*, 2006) . Os trabalhos de POPLEWSKA & ANTOS (2005) e POPLEWSKA, PIATKOWVSKI & ANTOS (2006) têm demonstrado o efeito da composição da fase móvel sobre a forma dos perfis de concentração de analitos, além de demonstrar a adsorção do solvente sobre a fase sólida. O efeito de aditivos na fase móvel foi demonstrado por ARNELL, FORSSÉN & FORNSTEDT (2007). Dependendo do tipo de fase móvel, não apenas deformações podem surgir nos perfis de concentração, como há a possibilidade de todo o mecanismo físico de adsorção ser alterado. Como

por exemplo, bandas com características típicas de Langmuir, exibirem perfis do tipo anti-Langmuir, devido a presença de aditivos na fase móvel.

Os efeitos associados aos mecanismos de interação dos solutos com a fase estacionária têm sido descritos por meio de isotermas de adsorção. A literatura contempla diversos esforços nesta linha, com os mais variados modelos, com base termodinâmica ou não, já apresentados e testados.

Neste trabalho, alguns dos modelos de isotermas mais usuais, foram utilizados para a descrição das bandas de eluição experimentalmente observadas. Um modelo estatístico, proposto para o caso específico de adsorção binária, também foi utilizado. Os resultados obtidos com a aplicação desses modelos são apresentados nas seções a seguir.

8.6 Aplicação de modelos de isotermas e estimação de parâmetros

Nos parágrafos seguintes são apresentados os resultados referentes à estimação de parâmetros dos diversos modelos de isotermas testados. Os modelos foram ajustados utilizando-se, os perfis de concentração dos enantiômeros puros e mistura racêmica. Os dados referentes aos perfis cromatográficos de 25, 27, 33, 35 e 37 g/L, os quais correspondem ao refino experimental tratado na **Seção 8.5.2**, foram utilizados apenas no ajuste dos modelos estatísticos.

Destaca-se que foram utilizadas duas formas para o modelo estatístico proposto no **Capítulo VI**; uma forma completa (estimação de todos os parâmetros) e outra simplificada (vide **Capítulo VI, Seção 6.3**).

A adequação de cada um dos modelos foi verificada por meio da análise estatística das estimativas obtidas.

É importante ressaltar que, para cada modelo de isoterma, foi estabelecida uma relação entre os parâmetros estimados e a constante de Henry para cada componente. Essas relações impõem restrições ao espaço de busca e reduzem o número de parâmetros a serem estimados. Além disso, garantem que os perfis de concentração simulados sejam idênticos aos obtidos experimentalmente, em condições de diluição infinita.

As constantes de Henry (H_i) para cada componente são 8,57 ± 0,15 para o Pico 1 e 15,9 ± 0,2 para o Pico 2, respectivamente. Estes valores foram obtidos por meio da **Eq. 8.10**, utilizando-se os tempos de retenção de cada enantiômero, gerados em baixas concentrações (1 g/L, **Tabelas 8.9 e 8.10**). Os desvios padrão associados às constantes de Henry foram computadas por meio da **Eq. 8.11**, dos valores médios e erros experimentais para a porosidade, tempo morto e tempo de retenção de cada componente.

$$t_r = t_0\left(1 + \frac{1-\varepsilon_t}{\varepsilon_t} H_i\right) \quad \textbf{(8.10)}$$

$$\delta H_i = \sqrt{\left(\frac{\partial H_i}{\partial t_0}\right)^2 . (\delta t_0)^2 + \left(\frac{\partial H_i}{\partial \varepsilon t}\right)^2 . (\delta \varepsilon t)^2 + \left(\frac{\partial H_i}{\partial t_r}\right)^2 . (\delta t_r)^2} \quad \textbf{(8.11)}$$

Em todos os casos apresentados a seguir, o valor final da função objetivo (máxima verossimilhança) se apresentou maior que o limite máximo estabelecido pelo teste Chi^2, embora alguns dos modelos se ajustem satisfatoriamente aos dados experimentais. O valor alto da função objetivo deveu-se ao fato das variâncias experimentais serem muito pequenos e da ordem de 10^{-9}.

8.6.1 Teste de malha de discretização

O algoritmo computacional utilizado neste trabalho resolve a equação diferencial do balanço de massa para o equilíbrio dispersivo, durante o procedimento de estimação de parâmetros. A equação é resolvida para diversos pontos discretos ao longo do domínio espacial de interesse (direção axial da coluna). Tais pontos são gerados por meio de um algoritmo de discretização, o qual integra o método de colocação ortogonal em elementos finitos.

A qualidade dos dados gerados pelo algoritmo de estimação está relacionada à malha de discretização utilizada. Dessa forma, um teste de malha foi realizado com o intuito de avaliar o número adequado de elementos finitos a serem utilizados, de forma a evitar erros numéricos excessivos, que comprometam os resultados gerados pelo procedimento de estimação de parâmetros, posteriormente.

Para a realização do teste de malha, foram simulados cromatogramas utilizando-se o modelo estatístico proposto no **Capítulo VI**. Os cromatogramas foram gerados para diferentes números de elementos finitos (*N*), na faixa de 40 a 500 elementos. O

resultado obtido para 500 elementos foi tomado como uma referência, a partir do qual calculou-se uma variância (**Eq. 8.12**) para verificação da convergência.

$$\langle \sigma_n^2 \rangle = \frac{\sum_{i=1}^{N} \left(Y_{i,n} - Y_{i,500} \right)^2}{N} \qquad \textbf{(8.12)}$$

Na equação anterior, Y_i refere-se à concentração da fase móvel e *N* refere-se ao número total de valores simulados da variável *Y*.

Os valores das variâncias foram computados e são apresentados na **Figura 8.19**.

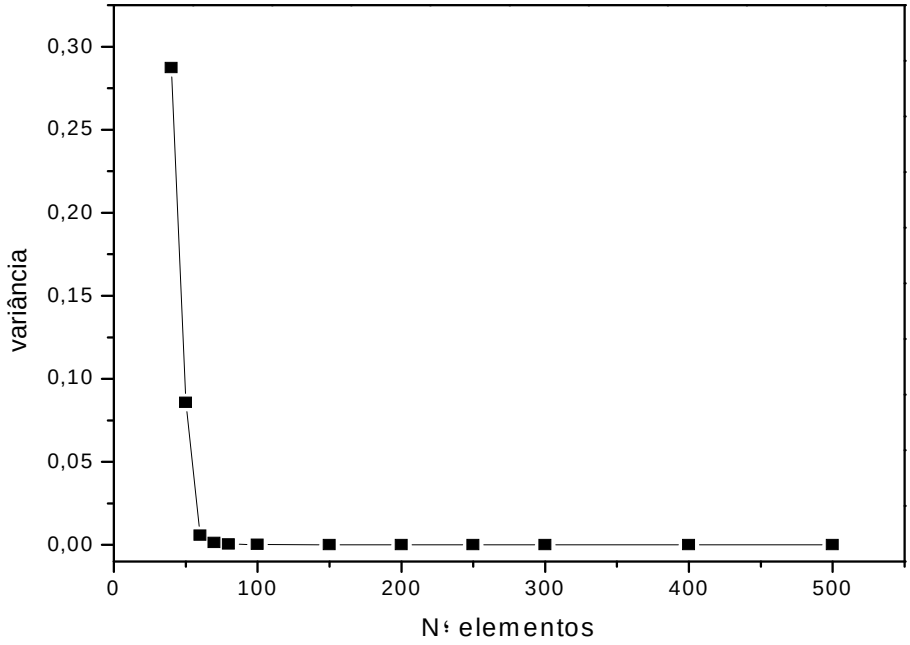


Figura 8.19: Teste de malha de discretização. Variância calculada entre os perfis simulados para diferentes elementos finitos e o perfil de referência (500 elementos finitos), em função do número total de elementos.

Verificou-se que para um número de 80 elementos finitos a variância entre os perfis simulados é inferior à $5{,}0 \times 10^{-4}$, o que indica que as respostas produzidas utilizando-se 80 elementos são similares àquelas produzidas ao se utilizar 500 elementos. Além disso, o tempo de simulação utilizando-se uma malha com 80 elementos é inferior à 2,0 minutos.

Assim, com base nos dados apresentados, decidiu-se realizar o procedimento para estimação dos parâmetros das isotermas testadas, utilizando-se uma malha dividida

em 80 elementos finitos, pois esta configuração apresenta um balanço entre convergência desambigua da resposta simulada e curto tempo de simulação.

8.6.2 Estimação de Parâmetros para enantiômeros puros e mistura racêmica

8.6.2.1 Isoterma tipo Langmuir - sítio simples

O modelo de isoterma tipo langmuir para um único sítio é apresentado nas **Eq. 8.13**. Os perfis experimentais dos dois enantiômeros puros foram utilizados para a estimativa do parâmetro Q_{max}.

Os coeficientes de afinidade b_1 e b_2 foram calculados a partir da estimativa de Q_{max}, por meio da relação com a constante de Henry, para cada componente (**Eq. 8.14**). Essa relação garante que os perfis simulados sejam, praticamente iguais aos perfis experimentais em baixas concentrações (diluição infinita).

$$q_i(C_i) = \frac{Q_{max}.b_i.C_i}{1+\sum_i^n b_i.C_i} \quad , \; i = 1 \; a \; 2 \qquad \textbf{(8.13)}$$

$$b_i = \frac{H_i}{Q_{max}} \qquad \textbf{(8.14)}$$

O Pico 1 e Pico 2 são referenciados por meio dos subscritos 1 e 2, respectivamente. Na equação anterior, Q_{max} refere-se a capacidade máxima do adsorvente e H_i é a constante de Henry, para o respectivo componente.

Os valores dos parâmetros assim como o desvio padrão paramétrico são apresentados na **Tabela 8.13**.

Tabela 8.13: Médias e desvios padrão paramétricos obtidos para o modelo Langmuir - sítio simples.

	Puros		*Mistura racêmica*	
Parâmetros	*média*	*desvio padrão*	*média*	*desvio padrão*
Q_{max} *(g/L)*	141,840	1,23E-03	329,0880	6,79E-07
b_1 *(L/g)*	0,060	1,07E-03	0,0260	4,60E-04
b_2 *(L/g)*	0,112	1,66E-03	0,0483	7,17E-04

Observa-se que o coeficiente de afinidade para o Pico 2 é maior que o coeficiente referente ao Pico 1. Tal resultado é concordante com o esperado, uma vez que o segundo componente é mais retido na fase estacionária, possuindo assim, uma afinidade maior pelos sítios presentes. Os valores dos desvios padrão paramétricos são bastante baixos, pois as incertezas experimentais são diminutas.

A qualidade de ajuste do modelo foi verificada por meio do cálculo do coeficiente de correlação, entre as respostas simuladas e experimentais, e do erro médio (**Tabela 8.14**).

Os coeficientes de correlação global, calculado considerando o ajuste do modelo à todos os perfis de concentração experimentais, foi de 0,88 e 0,95 para os Picos 1 e 2 puros, respectivamente. No caso da mistura racêmica, o coeficiente de correlação global foi de 0,76.

De forma geral o modelo langmuir descreve razoavelmente os perfis experimentais obtidos, sendo que o comportamento dos puros é melhor representado.

Os perfis de respostas simuladas e experimentais, assim como, os coeficientes de correlação do modelo com cada perfil experimental, são demonstrados nas **Figuras 8.21, 8.22 e 8.23** para os componentes puros e mistura racêmica, respectivamente.

Observa-se que esta isoterma, não descreve adequadamente o "ombro" presente nos perfis de altas concentrações. Assim, a correlação entre os dados experimentais e calculados foi menor para o Pico 1, pois o mesmo apresenta um "ombro" mais proeminente que o outro componente.

Tabela 8.14: Dados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo Langmuir - sítio simples.

	Puros	*Mistura racêmica*
Nº Experimentos	11	7
Nº Respostas	863	1726
Nº Parâmetros	1	1
Graus de Liberdade	9492	12081
Erro Quadrático médio	0,01	0,07

O erro médio entre os dados experimentais e calculados apresentou-se maior para o caso da mistura racêmica, do que para os puros.

Os valores finais das funções objetivo, 3,65E+06 (puros) e 2,61E+11 (mistura racêmica), foram maiores que o limite superior estabelecido pelo teste Chi^2, o que demonstra que o modelo não representa adequadamente todos os perfis e erros experimentais.

É importante ressaltar que, o extenso valor da função objetivo também está relacionado ao fato de uma grande quantidade de pontos experimentais serem utilizados para o cômputo da mesma. Pode-se deduzir que a redução do número de dados experimentais levaria a redução do valor da função objetivo, aproximando-a da faixa estatisticamente aceitável. Entretanto, esta não é uma boa prática, pois a redução do número de pontos, que constituem os perfis experimentais, resulta na perda de resolução gráfica dos cromatogramas, o que pode atenuar ou ocultar a verdadeira forma dos perfis de concentração.

Os tempos de retenção da frente de massa podem ser comparados por meio da **Figura 8.20**.

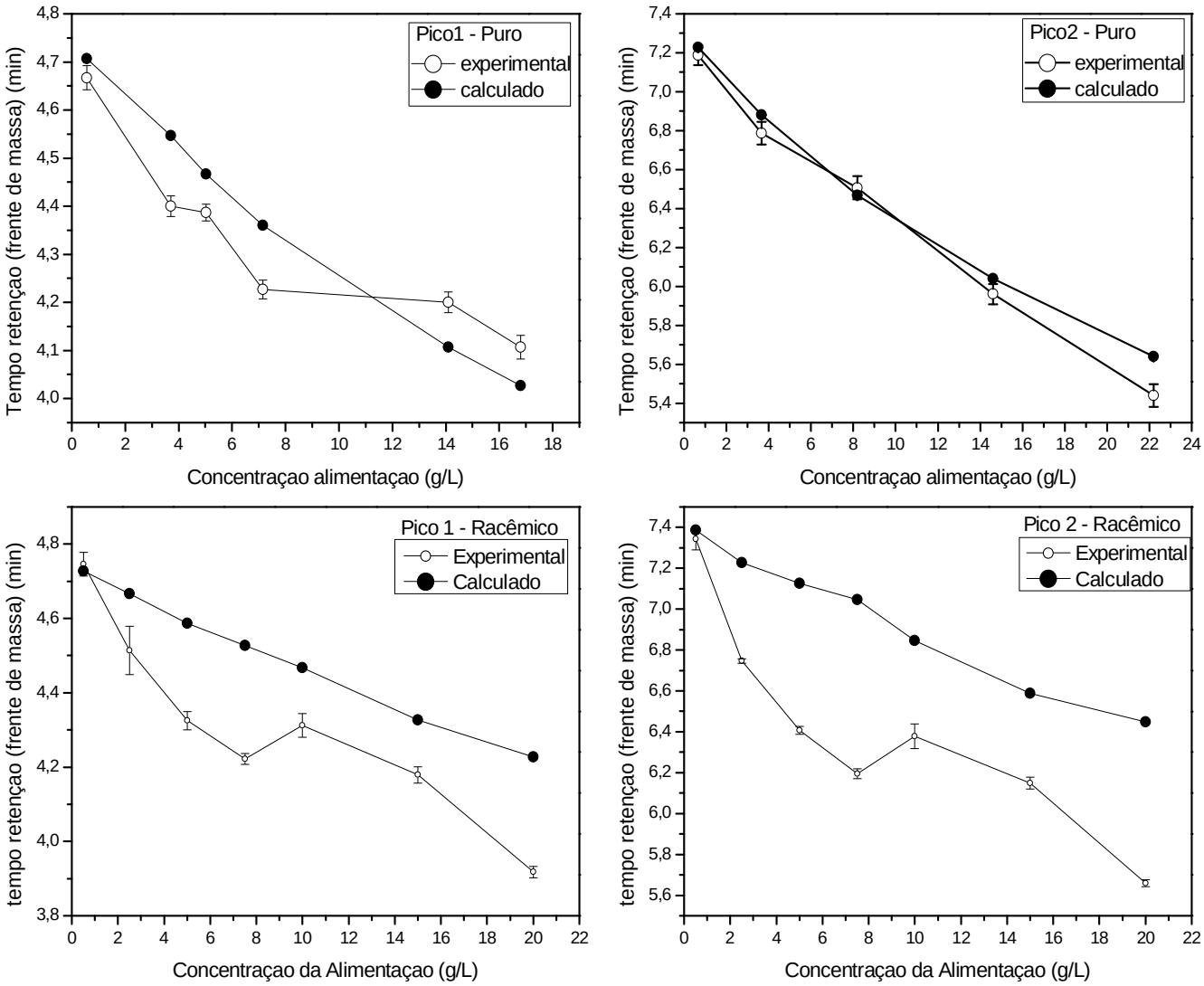


Figura 8.20: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo Langmuir - sítio simples.

O teste F para homogeneidade de variâncias e o teste de médias foram aplicado aos dados dos tempos de retenção da frente de massa experimetais e preditos pelo modelo. Verificou-se que os grupos de dados experimentais e preditos não possuem variâncias iguais, ao nível de significância de 5%.

O teste de médias revelou que o par de médias referentes à concentração de 0,5 g/L para os Picos 1 e 2 da mistura racêmica e 0,57 g/L, para o Pico 1 puro, são estatisticamente iguais, sendo todos os outros pares diferentes.

Os pares de médias referentes às concentrações de 0,66, 3,67 e 8,22 g/L, para o Pico 2, não possuem diferenças estatisticamente significativas. Observa-se também que a diferenças entre os pares de médias aumenta com o aumento da concentração. Essa diferença é maior entre os dados referentes à concentração de alimentação de 22,18 g/L, condição em que se nota o aparecimento do "ombro" no perfil cromatográfico.

O Pico 2 apresenta perfis de concentração com forte característica langmuiriana - perfis simétricos em baixas concentrações e uma extensa cauda de dessorção, em condições de sobrecarga. Dessa forma, a isoterma tipo langmuir descreve o comportamento do segundo componente de forma razoável.

De forma semelhante, o modelo utilizado prevê razoavelmente bem o comportamento dos perfis cromatográficos para o Pico 1. Entretanto, o mesmo, não é totalmente adequado, pelo fato de não descrever o comportamento dos tempos de retenção da frente de massa.

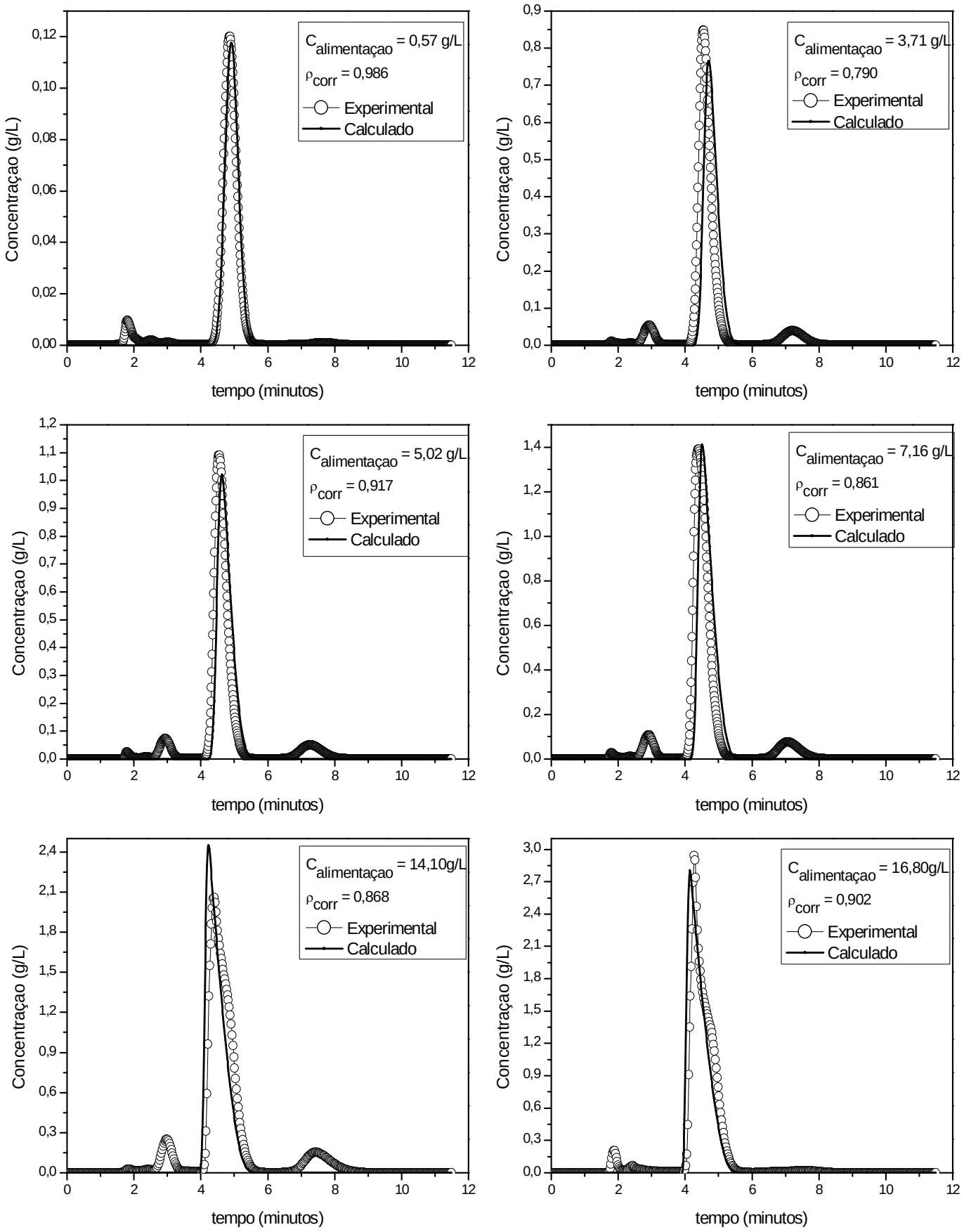


Figura 8.21: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma Langmuir - sítio simples.

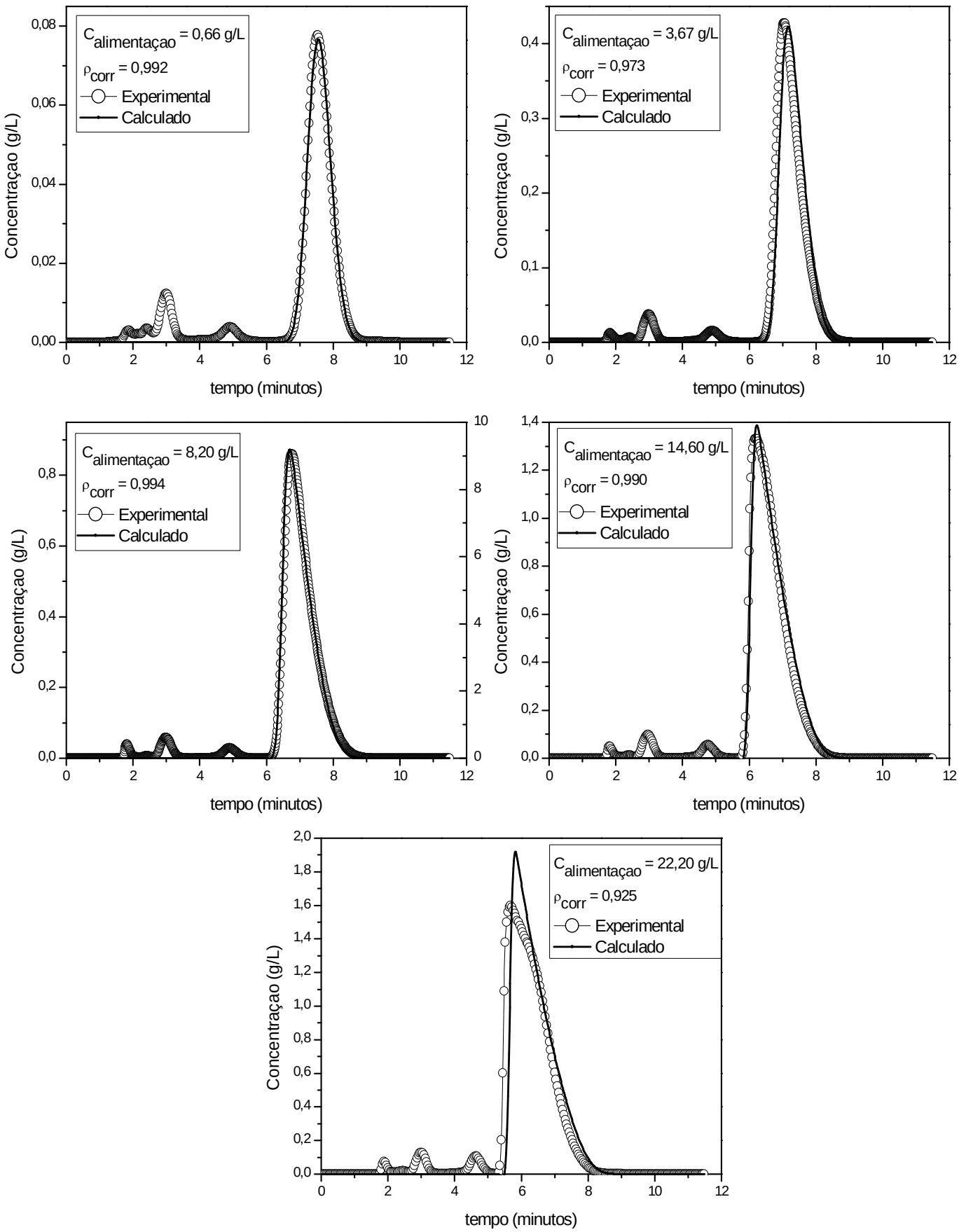
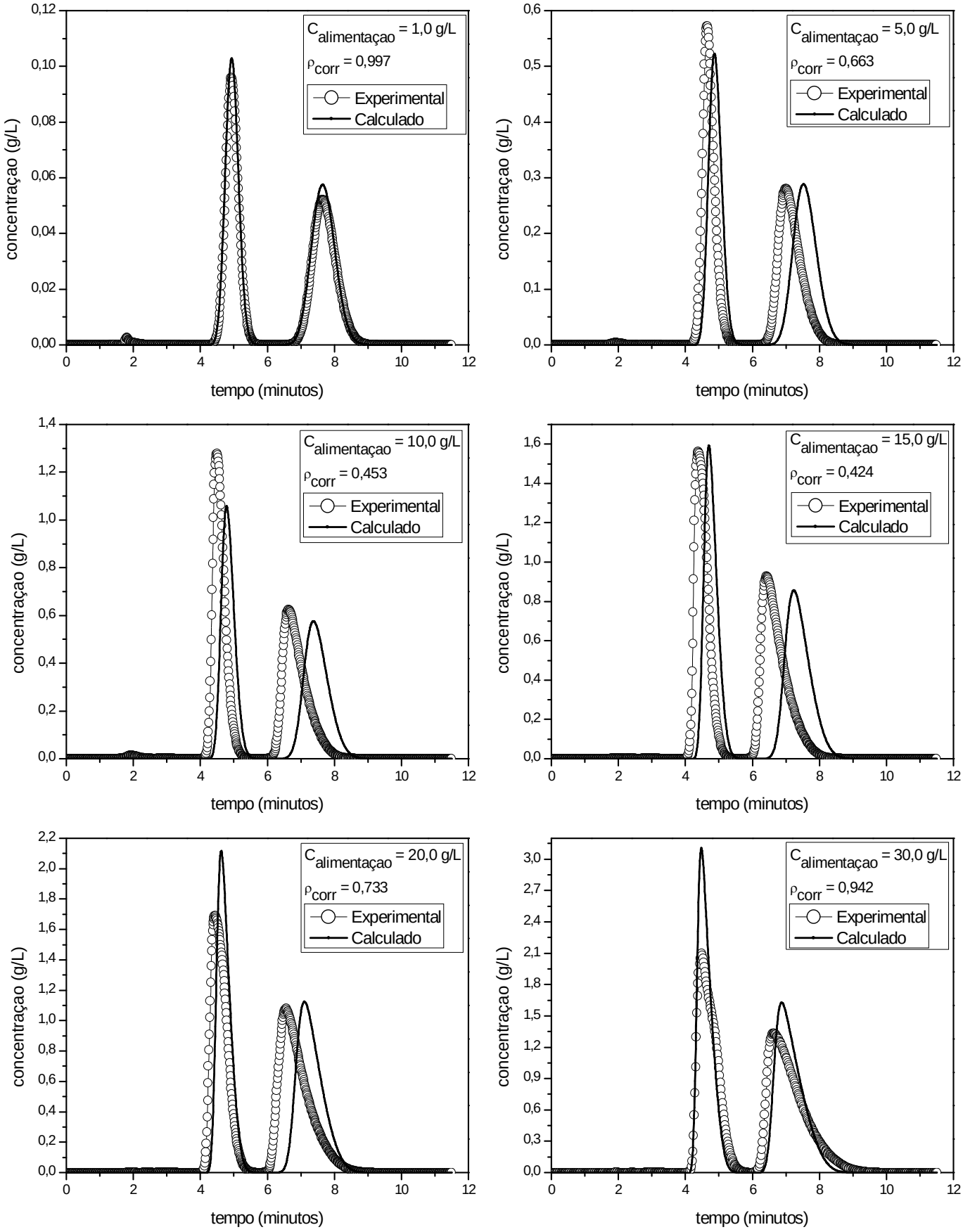


Figura 8.22: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma Langmuir - sítio simples.


C alimentaçao = 1,0 g/L
ρcorr = 0,997
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 5,0 g/L
ρcorr = 0,663
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 10,0 g/L
ρcorr = 0,453
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 15,0 g/L
ρcorr = 0,424
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 20,0 g/L
ρcorr = 0,733
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 30,0 g/L
ρcorr = 0,942
Experimental
Calculado
concentraçao (g/L)
tempo (minutos)

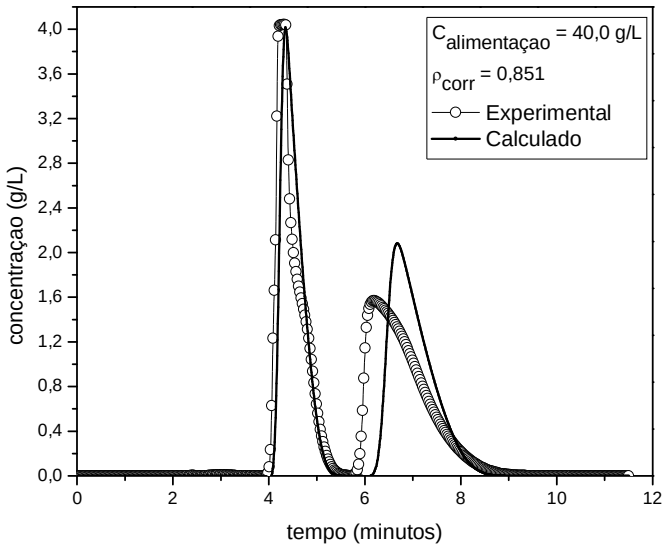


Figura 8.23: Perfis cromatográficos experimentais (○) e calculados (-) para as concentrações de alimentação de 1, 5, 10, 15, 20 e 40 g/L de praziquantel racêmico, 200,0 µL de volume injetado e 2,0 de vazão de eluente. Perfis calculados obtidos utilizando-se a isoterma tipo Langmuir - sítio simples.

Observou-se também que o modelo descreve melhor o comportamento do Pico 1 na mistura racêmica do que o Pico 2. Além disso, os parâmetros estimados para os dados de puros são bastante diferentes daqueles obtidos utilizando-se os dados da mistura racêmica.

Isso pode indicar que os componentes da mistura racêmica disputem os sítios de adsorção de forma mais complexa, de tal modo que o modelo Langmuir competitivo não é capaz de descrever rigorosamente.

As isotermas de adsorção geradas a partir do modelo Langmuir competitivo e dos parâmetros é apresentada na **Figura 8.24**.

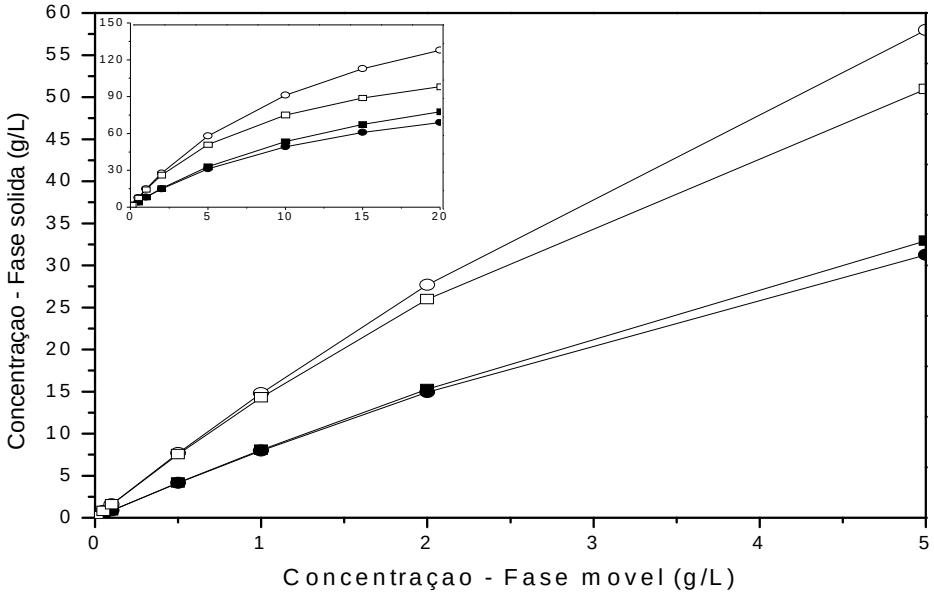


Figura 8.24: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo Langmuir - sítio simples. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro.

8.6.2.2 Isoterma tipo duplo-Langmuir

O modelo de isoterma tipo duplo-Langmuir (**Eq. 8.15**) foi testado de forma semelhante que o modelo Langmuir competitivo (sítio simples), o modelo foi ajustado aos dados referentes aos componentes puros e à mistura racêmica separadamente. O procedimento de estimação dos parâmetros desse modelo foi submetido à restrição imposta pela **Eq. 8.16**, a qual garante a concordância entre os perfis à diluição infinita.

$$q_i(C_i, C_{i+1} \dots) = \frac{Q_{max,s}.b_i.C_i}{1+\sum_i^n b_i.C_i} + \frac{Q_{max,ns}.b_{ns}.C_i}{1+b_{ns}.\sum_i^n C_i} \quad \textbf{(8.15)}$$

$$b_i = \frac{H_i - Q_{max,ns}.b_{ns}}{Q_{max}} \quad \textbf{(8.16)}$$

Na **Tabela 8.15** são apresentados os valores dos parâmetros estimados. Nota-se que para o caso dos componentes puros, os parâmetros estimados são semelhantes àqueles obtidos pelo modelo Langmuir (sítio simples).

Tabela 8.15: Médias e desvios padrão paramétricos obtidos para o modelo duplo-Langmuir.

	Puros		*Mistura Racêmica*	
Parâmetros	*Média*	*desvio-padrão*	*Média*	*desvio-padrão*
$Q_{max,s}$	93,7	3,59E-03	244,3	6,80E-06
$Q_{max,ns}$	300,0	8,11E-03	300,0	6,95E-06
b_{ns}	0,008	2,76E-07	1,00E-11	5,44E-19
b_1	0,065	1,62E-03	0,035	6,20E-04
b_2	0,143	2,52E-03	0,065	9,65E-04

As matrizes de covariância e correlação são apresentadas no **Anexo C.1**, **Tabelas C.1 e C.2**. Observou-se que os parâmetros apresentaram-se satisfatoriamente descorrelacionados uns dos outros ($\rho_{ab} \leq 0,5$).

O erro quadrático médio final obtido entre os dados experimentais e calculados foi de 0,01 para os dados de puros e de 0,05 (**Tabela 8.16**). Os erros se apresentaram menores que aqueles obtidos para o modelo Langmuir, o que demonstra que o modelo duplo-Langmuir descreve melhor os dados experimentais.

Tabela 8.16: Dados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo duplo-Langmuir.

	Puros	*Mistura racêmica*
Nº Experimentos	11	7
Nº Respostas	863	1726
Nº Parâmetros	3	3
Graus de Liberdade	9490	12079
Erro Quadrático médio	0,01	0,05

No entanto, os coeficientes de correlação global foram superiores àqueles obtidos para o modelo langmuir, sendo de 0,93 para o Pico 1 puro, 0,96 para o Pico 2 puro e 0,85 para a mistura racêmica.

Os tempos de retenção da frente de massa, obtidos pelo modelo, são apresentados na **Figura 8.25**. As variâncias experimentais e preditas não são homogêneas segundo o teste de *Hartley*. O teste de médias revelou que os pares de médias (experimental e calculado), referentes às concentrações de 14,10 e 16,80 g/L para o

Pico 1 puro, 0,66, 3,67 e 8,20 g/L para o Pico 2 e 0,5 g/L para a mistura racêmica não apresentam diferenças significativas (α = 0,05).

Com base nestes resultados, pode-se afirmar que obteve-se uma pequena melhora na descrição dos perfis experimentais, com o modelo duplo-Langmuir. Os perfis experimentais podem ser comparados com os perfis simulados por meio das **Figuras 8.26, 8.27 e 8.28**.

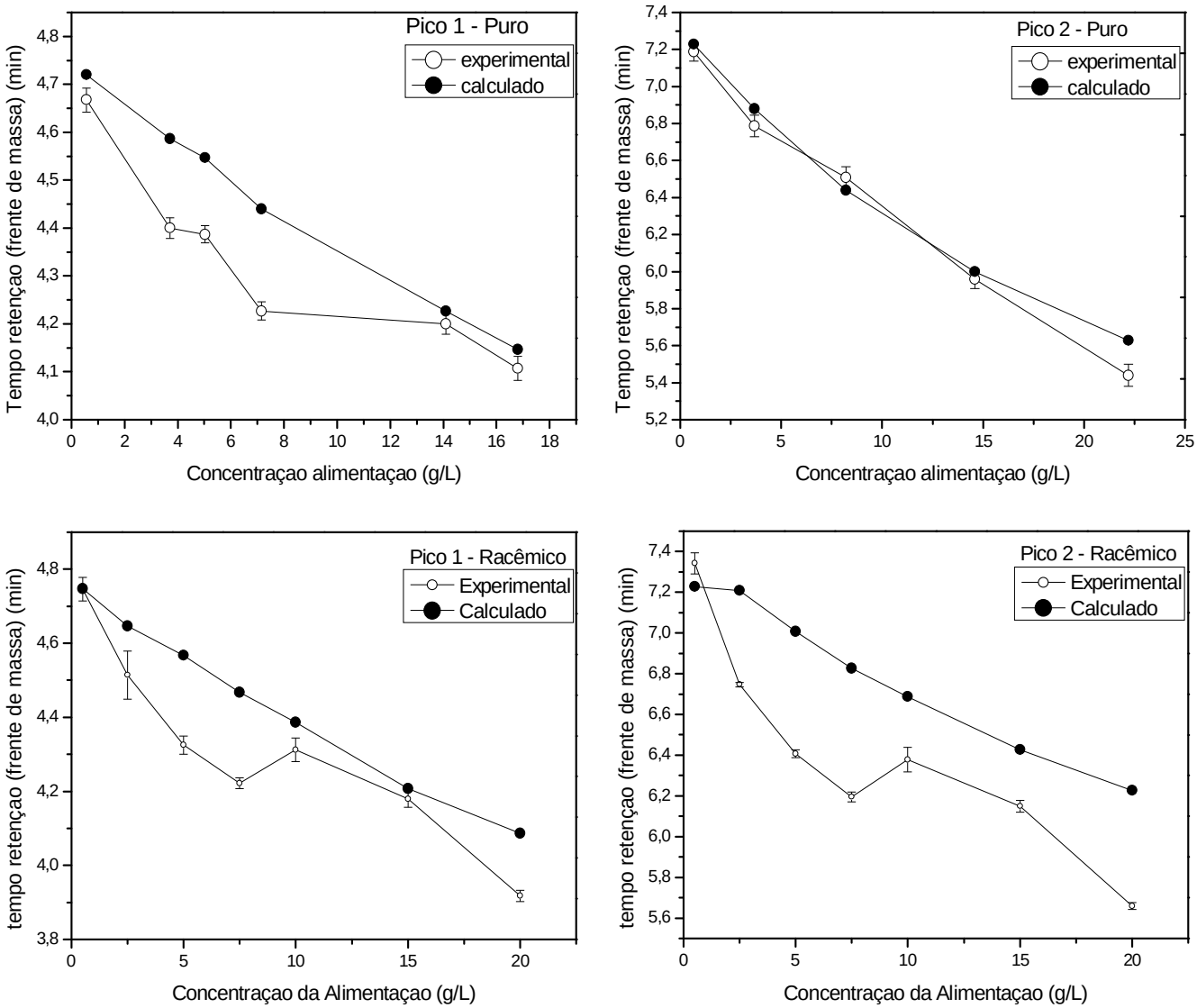


Figura 8.25: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo duplo-Langmuir.

Novamente, observou-se que os parâmetros das isotermas para puros diferem daqueles obtidos para mistura racêmica. O modelo duplo-Langmuir contabiliza a adsorção dos componentes ocorrendo em dois tipos de sítios majoritariamente, um seletivo e outro não-seletivo.

Os resultados obtidos confirmam que a adição de mais um sítio melhorou a descrição dos perfis experimentais. No entanto, as não-linearidades relacionadas aos "ombros", formados em altas concentrações, bem como o aumento dos tempos de retenção, não são totalmente descritos pelo modelo duplo-Langmuir.

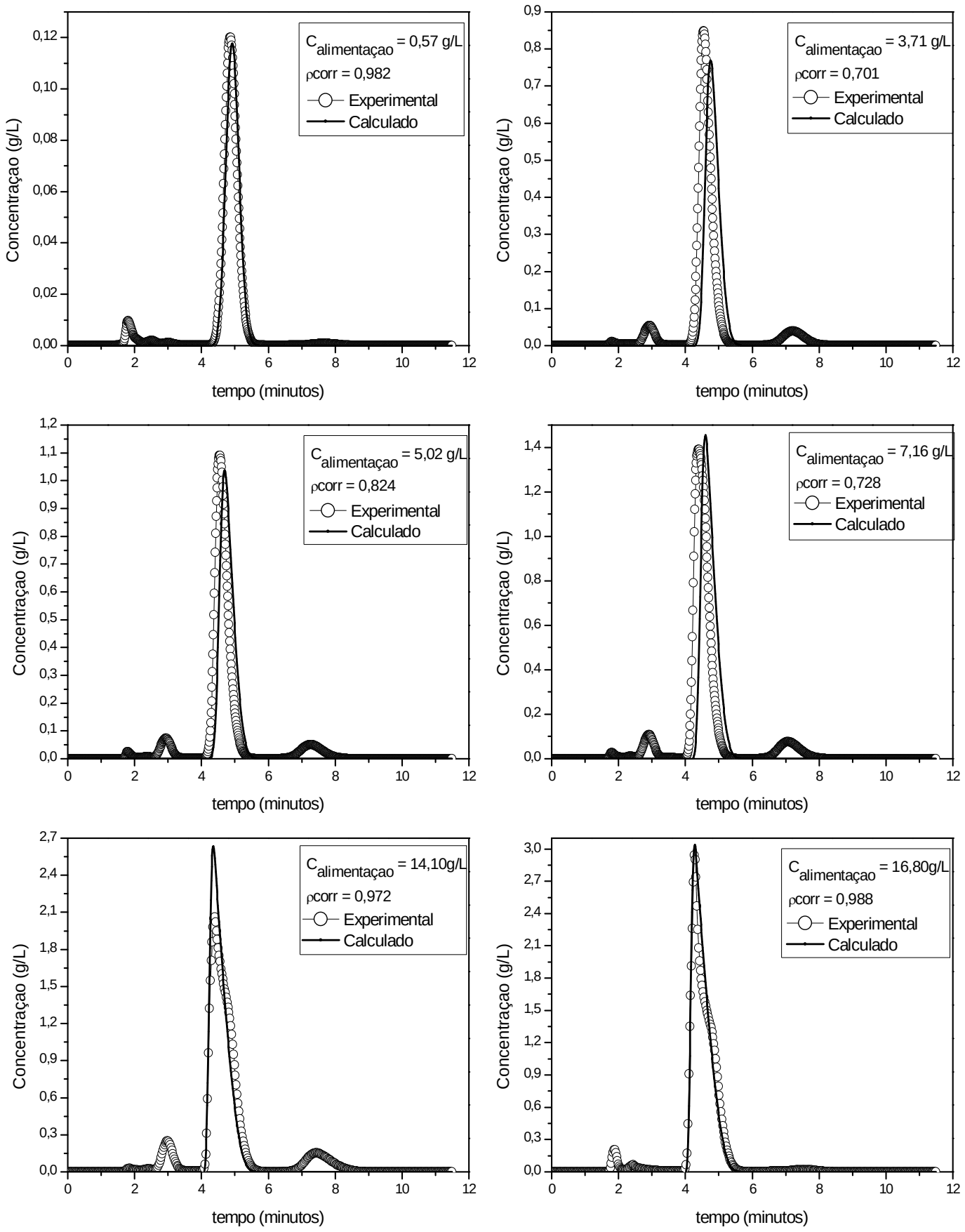


Figura 8.26: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma duplo-Langmuir.

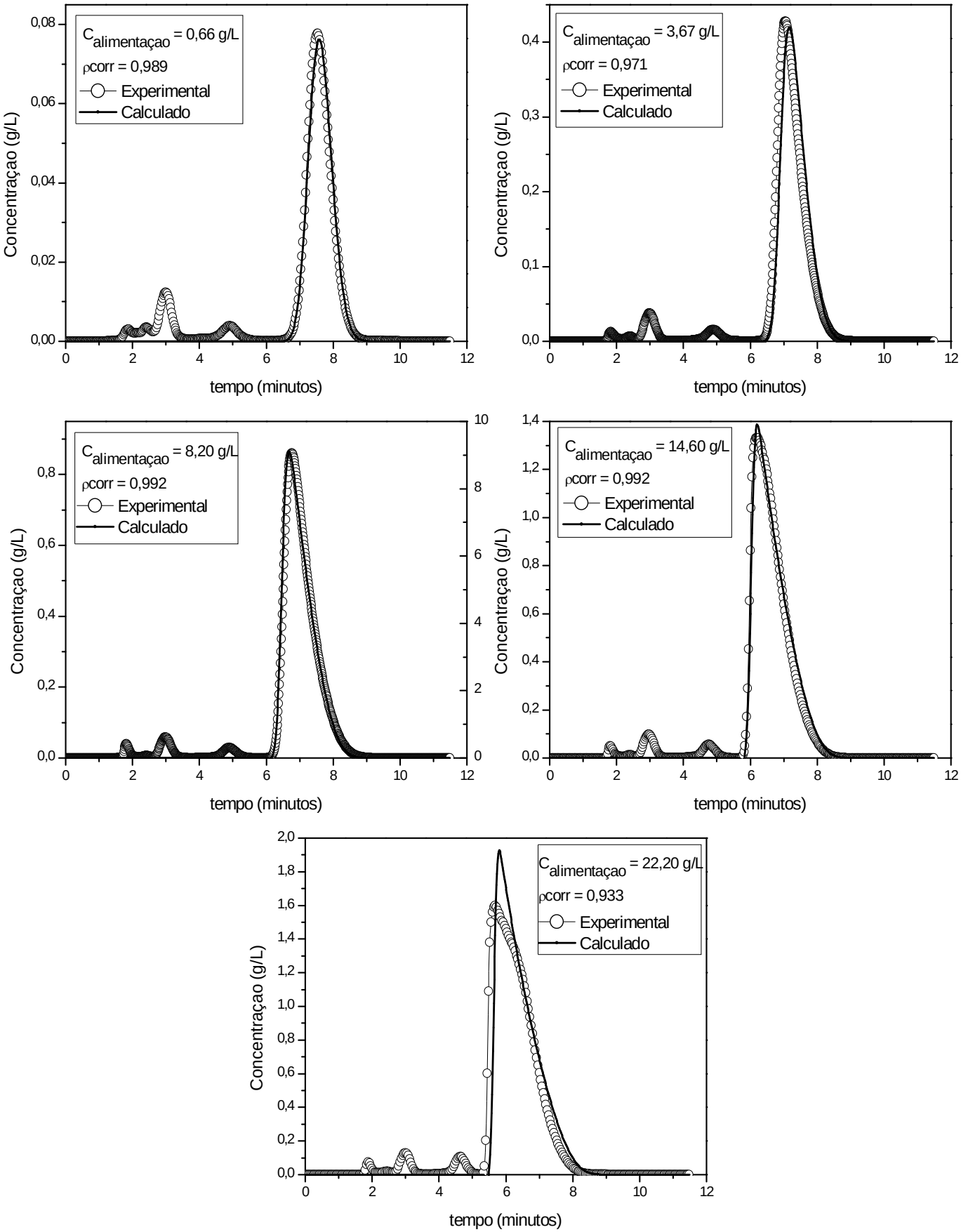
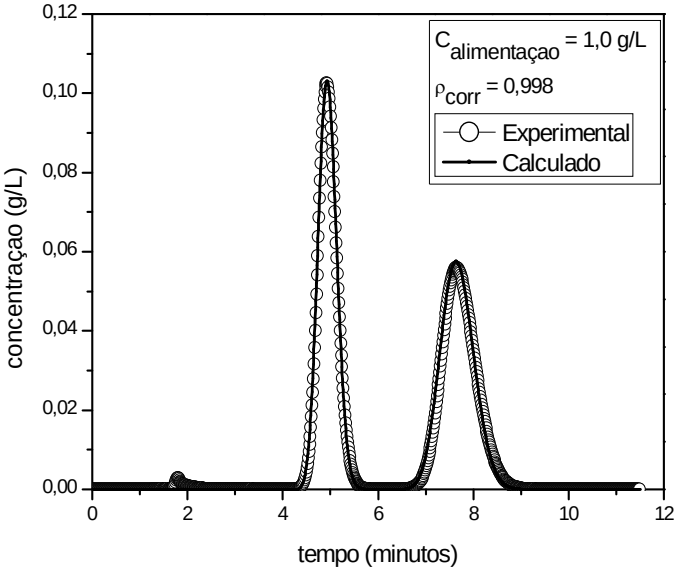
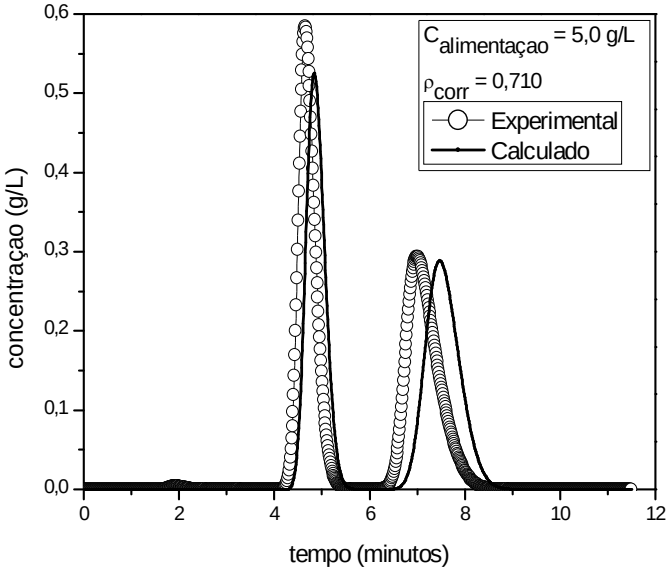
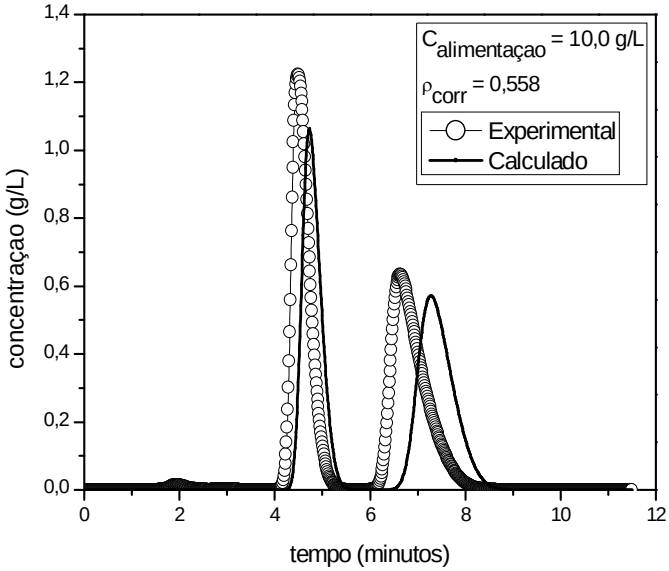
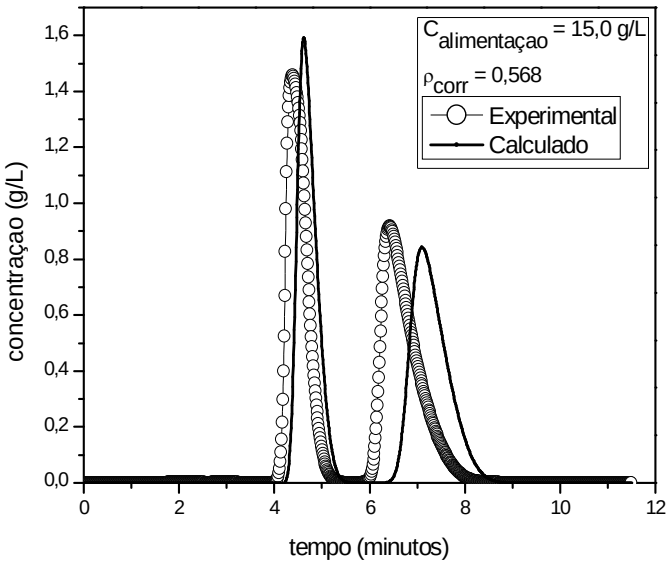


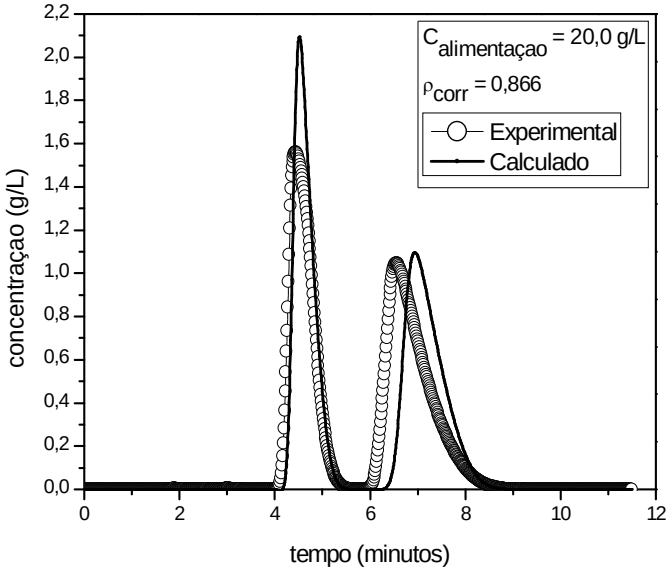
Figura 8.27: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma duplo-Langmuir.

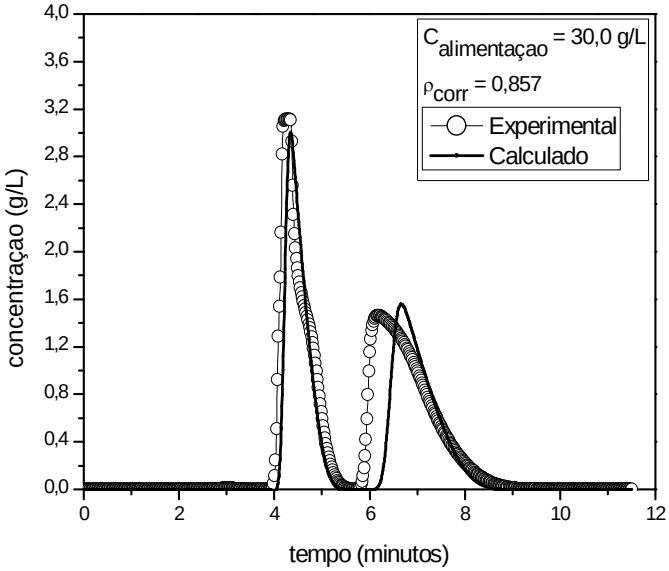

C alimentaçao = 1,0 g/L
ρcorr = 0,998
Experimental
Calculado
concentraçao (g/L)
tempo (minutos)


C alimentaçao = 5,0 g/L
ρcorr = 0,710
Experimental
Calculado
concentraçao (g/L)
tempo (minutos)


C alimentaçao = 10,0 g/L
ρcorr = 0,558
Experimental
Calculado
concentraçao (g/L)
tempo (minutos)


C alimentaçao = 15,0 g/L
ρcorr = 0,568
Experimental
Calculado
concentraçao (g/L)
tempo (minutos)


C alimentaçao = 20,0 g/L
ρcorr = 0,866
Experimental
Calculado
concentraçao (g/L)
tempo (minutos)


C alimentaçao = 30,0 g/L
ρcorr = 0,857
Experimental
Calculado
concentraçao (g/L)
tempo (minutos)

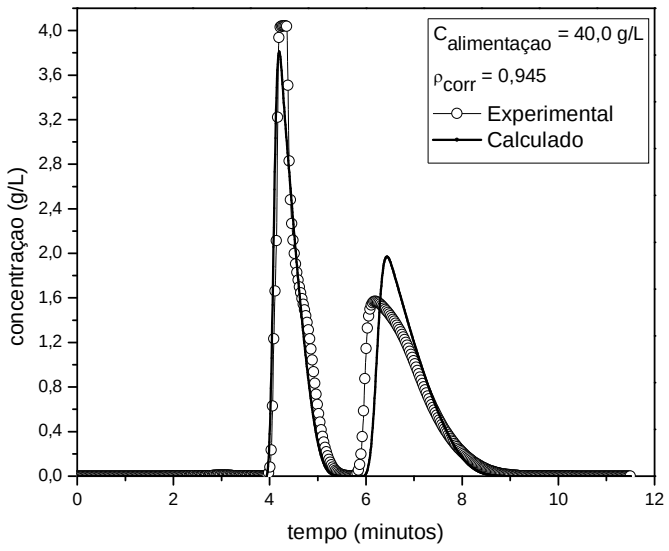


Figura 8.28: Comparação entre os perfis de concentração experimental (○) e calculado (-) para amostras de 200,0 µL de praziquantel racêmico, nas concentrações de 1, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 g/L. Cromatogramas simulados com modelo tipo duplo-Langmuir.

Na **Figura 8.29** são apresentadas as isotermas de adsorção geradas a partir do modelo duplo-Langmuir e dos parâmetros estimados.

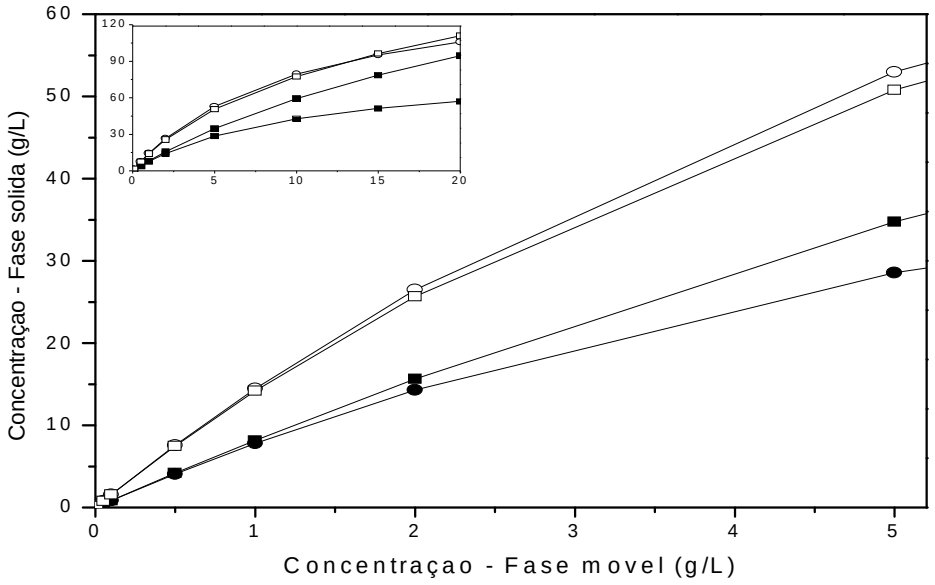


Figura 8.29: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo duplo-Langmuir. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro.

8.6.2.3 Isoterma estatística - modelo completo

O modelo estatístico proposto no **Capítulo VI** foi utilizado para o ajuste dos dados experimentais. A forma completa do modelo, ou seja, sem simplificações, foi implementada alterando-se a estratégia de estimação.

Como o modelo completo, possui ao todo 12 parâmetros, optou-se por realizar a estimação, primeiramente, utilizando-se os dados de puros. Nesta primeira etapa somente os parâmetros Q_{max}, f_q, K_{BR} e os parâmetros de interação entre pares de moléculas iguais (E_{qRR}, E_{aqRR}, E_{qSS} *e* E_{aqSS}) foram estimados. Os parâmetros K_{AR} *e* K_{AS} foram correlacionados com alguns dos parâmetros apresentados anteriormente, por meio das **Eq. 8.17 e 8.18**. Estas equações garantem a concordância entre os perfis simulados e experimentais à diluição infinita.

$$K_{AR} = \frac{H_1}{Q_{max} \cdot f_q} - \frac{K_{BR} \cdot (1 - f_q)}{f_q} \quad \textbf{(8.17)}$$

$$K_{AS} = \frac{H_2}{Q_{max} \cdot f_q} - \frac{K_{BR} \cdot (1 - f_q)}{f_q} \quad \textbf{(8.18)}$$

A etapa seguinte consistiu na estimação dos parâmetros que contabilizam a interação entre pares de moléculas diferentes (E_{qRS}, E_{qSR} *e* E_{aqRS}). Nesta etapa somente os dados referentes à mistura racêmica foram utilizados. Os valores dos parâmetros estimados na primeira etapa foram utilizados durante a execução deste procedimento.

Durante a primeira etapa do procedimento descrito, verificou-se a tendência dos parâmetros de interação E_{qSR}, E_{qRR}, E_{aqRR}, E_{qSS} *e* E_{aqSS} *ao valor* 1,0*.* Desta forma, fixou-se este valor para estes parâmetros e prosseguiu-se com a estimação dos demais.

Na **Tabela 8.17** são apresentados os valores estimados para os parâmetros do modelo estatístico completo.

Tabela 8.17: Valores estimados para os parâmetros do modelo estatístico completo. [1.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para os componentes puros. [2.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para mistura racêmica.

	Puros/Racêmico	
Parâmetros	*Média*	*desvio-padrão*
Q_{max}^{1}	314,45	5,34E-03
f_q^{1}	0,436	4,81E-06
K_{AR}^{1}	0,062	1,10E-03
K_{AS}^{1}	0,116	1,72E-03
K_{BR}^{1}	0,0002	7,63E-09
E_{qrs}^{2}	0,009	7,40E-10
E_{aqrs}^{2}	19,64	1,57E-06

Os parâmetros apresentaram-se, de forma geral, satisfatoriamente descorrelacionados, conforme demonstrado na **Tabela C.4** (**Anexo C.1**). Somente o par de parâmetros Q_{max} e f_q apresentaram uma correlação significativa, de 0,58. De certo modo, uma maior correlação entre tais parâmetros é esperada, uma vez que os mesmos estão presentes em uma operação multiplicativa na equação da isoterma.

Na **Tabela 8.18** são apresentados os resultados para avaliação da qualidade de ajuste do modelo utilizado.

O erro médio final, referente ao ajuste aos perfis dos componentes puros, foi semelhante aos valores finais obtidos para o ajuste dos modelos langmuir competitivo e duplo-Langmuir.

No caso do ajuste do modelo aos perfis de mistura racêmica, o valor do erro quadrático médio obtido foi maior que aqueles gerados pelos outros modelos. Isso se deve ao fato de que os dados correspondentes ao refino experimental entre 20 e 40 g/L foram utilizados no procedimento de estimação, contribuindo para o aumento do valor do erro.

Tabela 8.18: Resultados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo estatístico completo.

	Puros	*Mistura racêmica*
Nº Experimentos	11	12
Nº Respostas	863	863
Nº Parâmetros	7	3
Graus de Liberdade	9490	10354
Erro médio	0,01	0,12

Como facilmente se nota, o aumento do número de pontos experimentais amplia grandemente o valor da função objetivo.

Os perfis simulados com o modelo estatístico completo foram bem correlacionados com os perfis experimentais. Os coeficientes de correlação com os dados do Pico 1 puro, Pico 2 puro e mistura racêmica foram de 0,90, 0,96 e 0,74 respectivamente. O menor valor obtido para este último coeficiente se deve, possivelmente, ao fato de que mais dados experimentais e simulados, e assim mais erros de ajuste, foram contabilizados no cômputo deste indicador.

Os tempos de retenção da frente de massa calculados pelo modelo ficaram mais próximos dos valores experimentais para ambos componentes da mistura racêmica (**Figura 8.30**). Entretanto somente os pares de médias correspondentes às concentrações de 0,5 g/L para o Pico 1 e 16,50 g/L para o Pico 2 não possuem diferenças significativas.

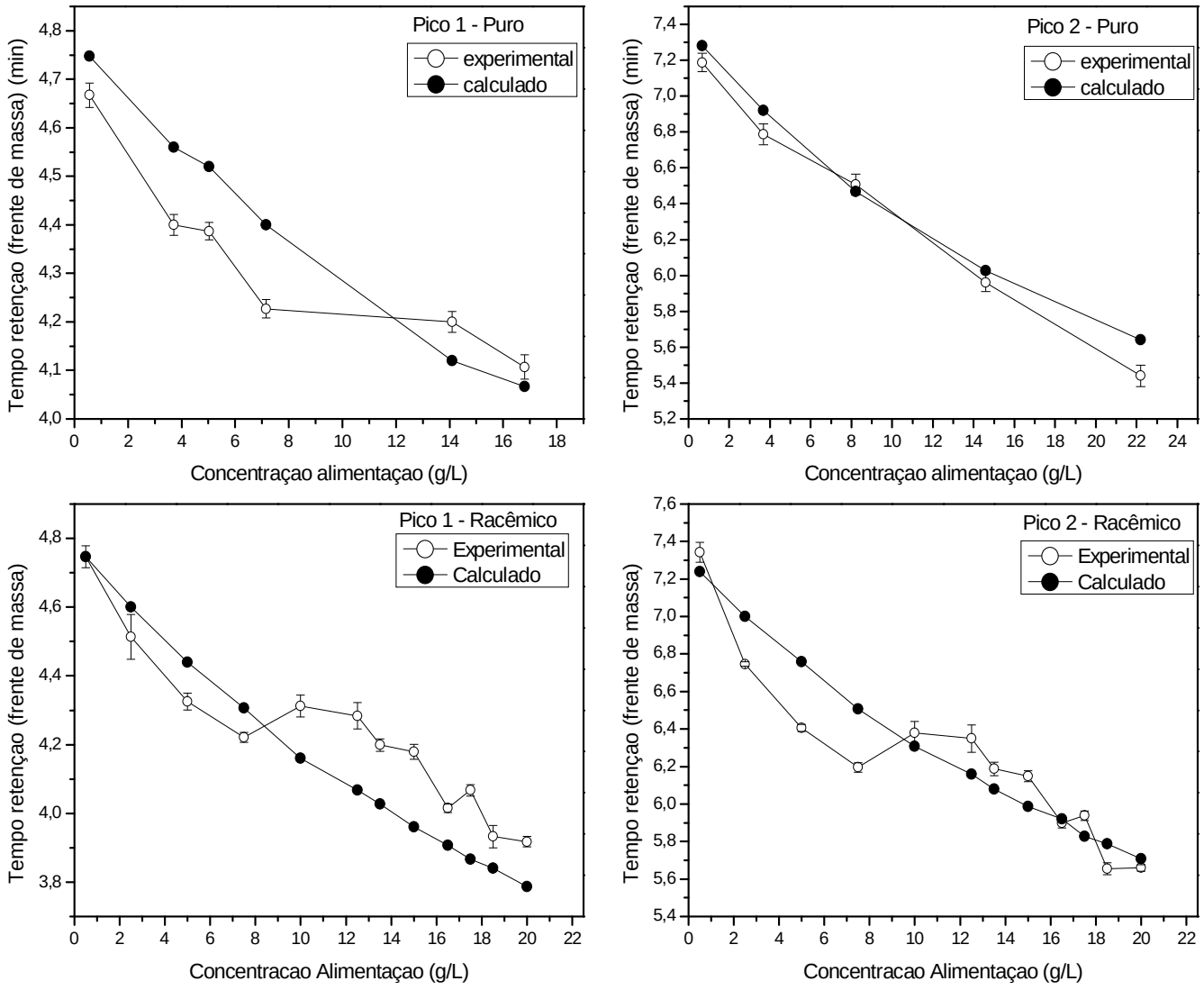


Figura 8.30: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo estatístico completo.

No caso dos componentes puros, verificou-se que os tempos de retenção calculados destoam ligeiramente dos valores experimentais. Os pares de médias (experimental/calculado) referentes às concentrações de 16,8 g/L (Pico 1 puro) e 8,20 g/L (Pico 2 puro) foram os únicos a não apresentarem diferenças significativas.

As **Figuras 8.31, 8.32 e 8.33** apresentam os perfis simulados pelo modelo comparados aos perfis experimentais para os enantiômeros puros e mistura racêmica.

Observa-se que a resposta gerada pelo modelo estatístico é bem próxima da resposta experimental para a maioria dos cromatogramas apresentados.

O fato de possuir mais parâmetros ajustáveis não levou à uma melhor descrição dos "ombros" observados nos perfis experimentais porém, a presença de parâmetros de interação entre pares de moléculas adsorvidas pode ter levado à uma melhor representação do efeito de ampliação dos tempos de retenção em altas concentrações de alimentação.

O parâmetro de energia, E_{aqRS}, referente à interação entre moléculas dos dois enantiômeros (uma de R e outra de S) adsorvidas no sítio "aquiral", apresentou um valor estimado maior que os outros parâmetros de energia. Assim este parâmetro exerce grande influência sobre a resposta do modelo.

O fato de um parâmetro de energia entre as duas espécies químicas ser significativo reforça a suposição de que, o efeito de ampliação do tempo de retenção em altas concentrações, resulte da interação dos dois componentes no processo de adsorção.

Observa-se também que o modelo prevê que os enantiômeros apresentam maior adsorção quando estão puros. Há uma diminuição na concentração adsorvida de cada enantiômero quando se trata da mistura racêmica. Tal fato concorda com o esperado, já que o efeito de competição entre as espécies, presente somente na mistura binária e em altas concentrações, desloca os componentes para a fase móvel.

A **Figura 8.34** apresenta as isotermas estatísticas para os componentes puros e na mistura racêmica.

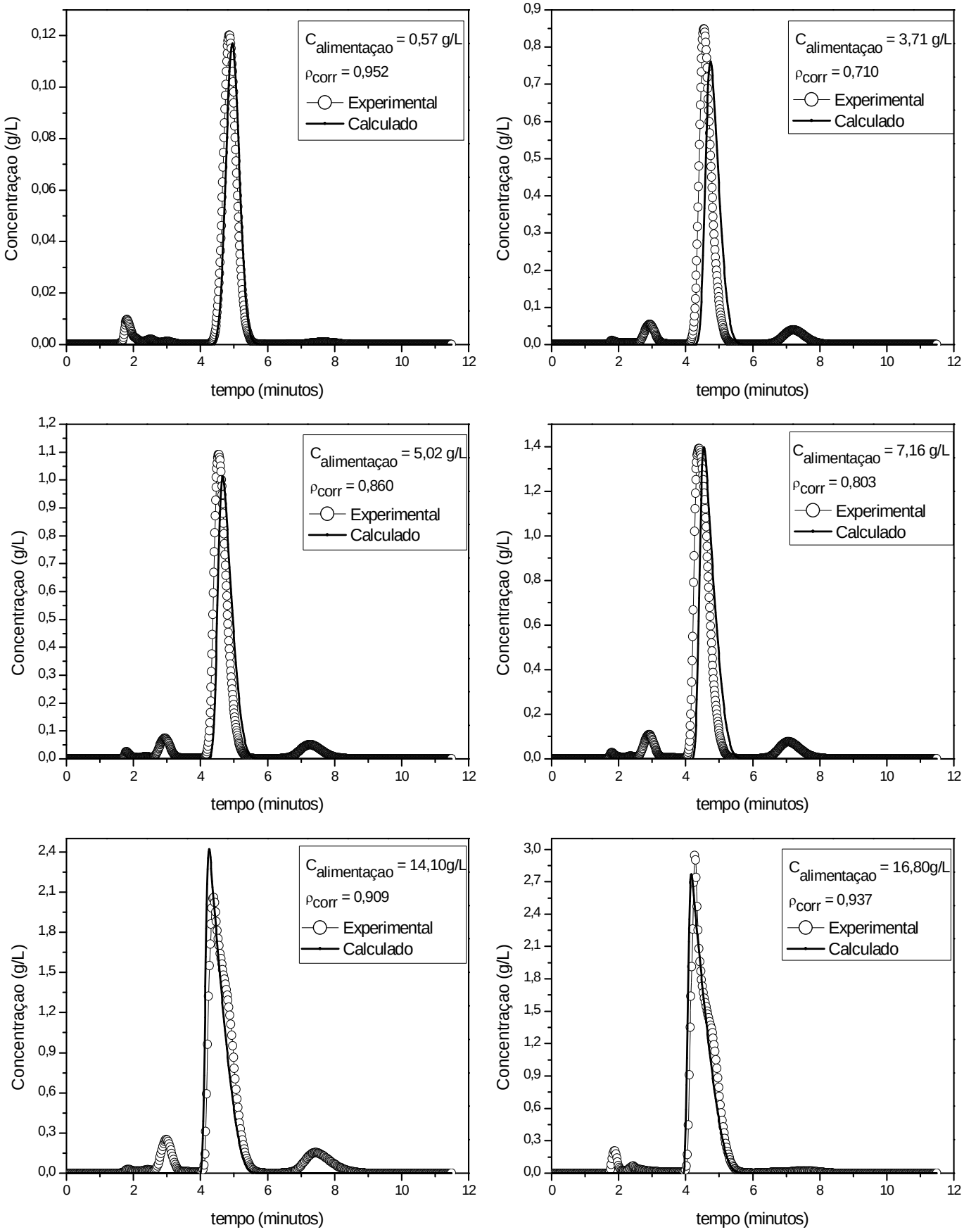


Figura 8.31: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística completa.

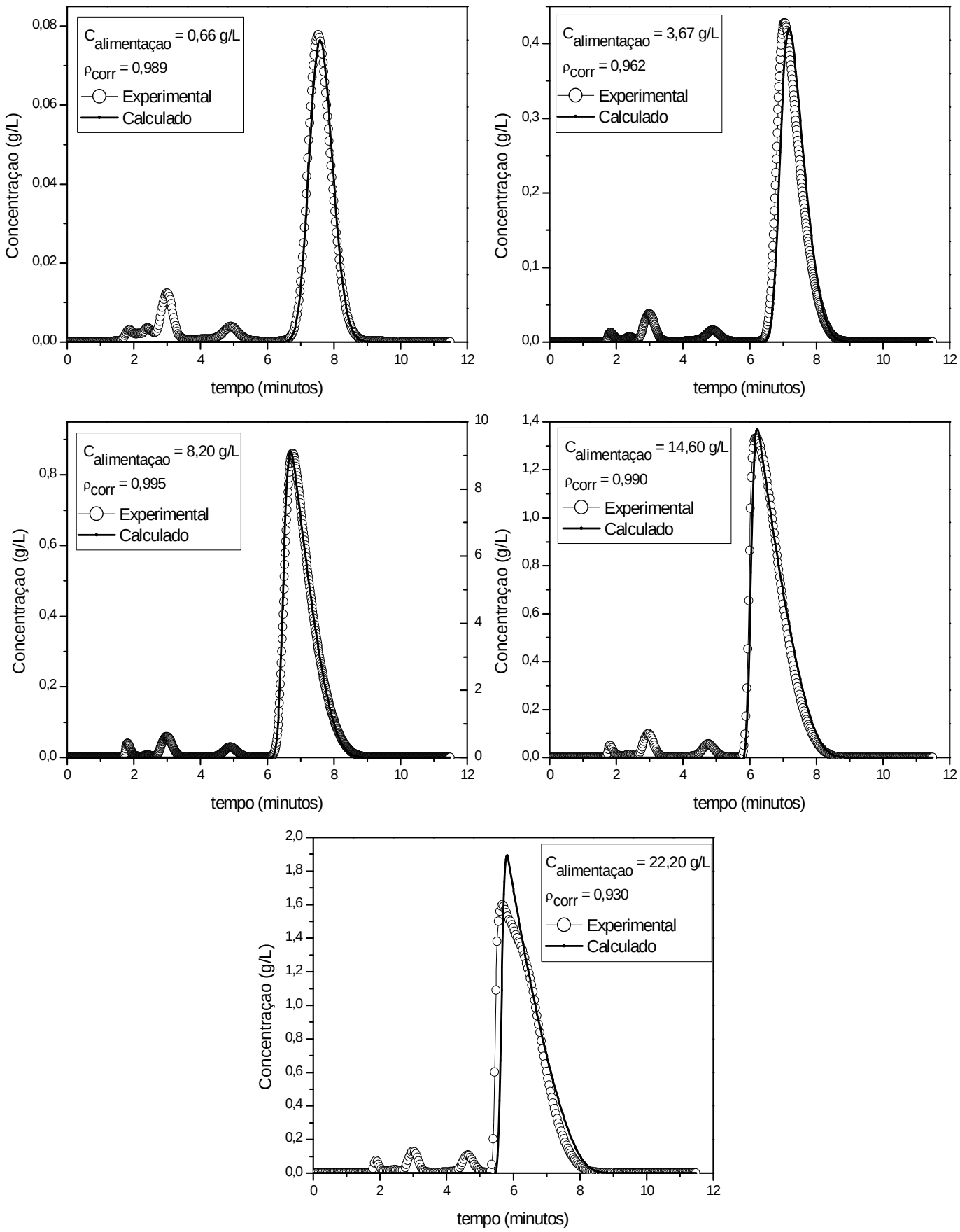
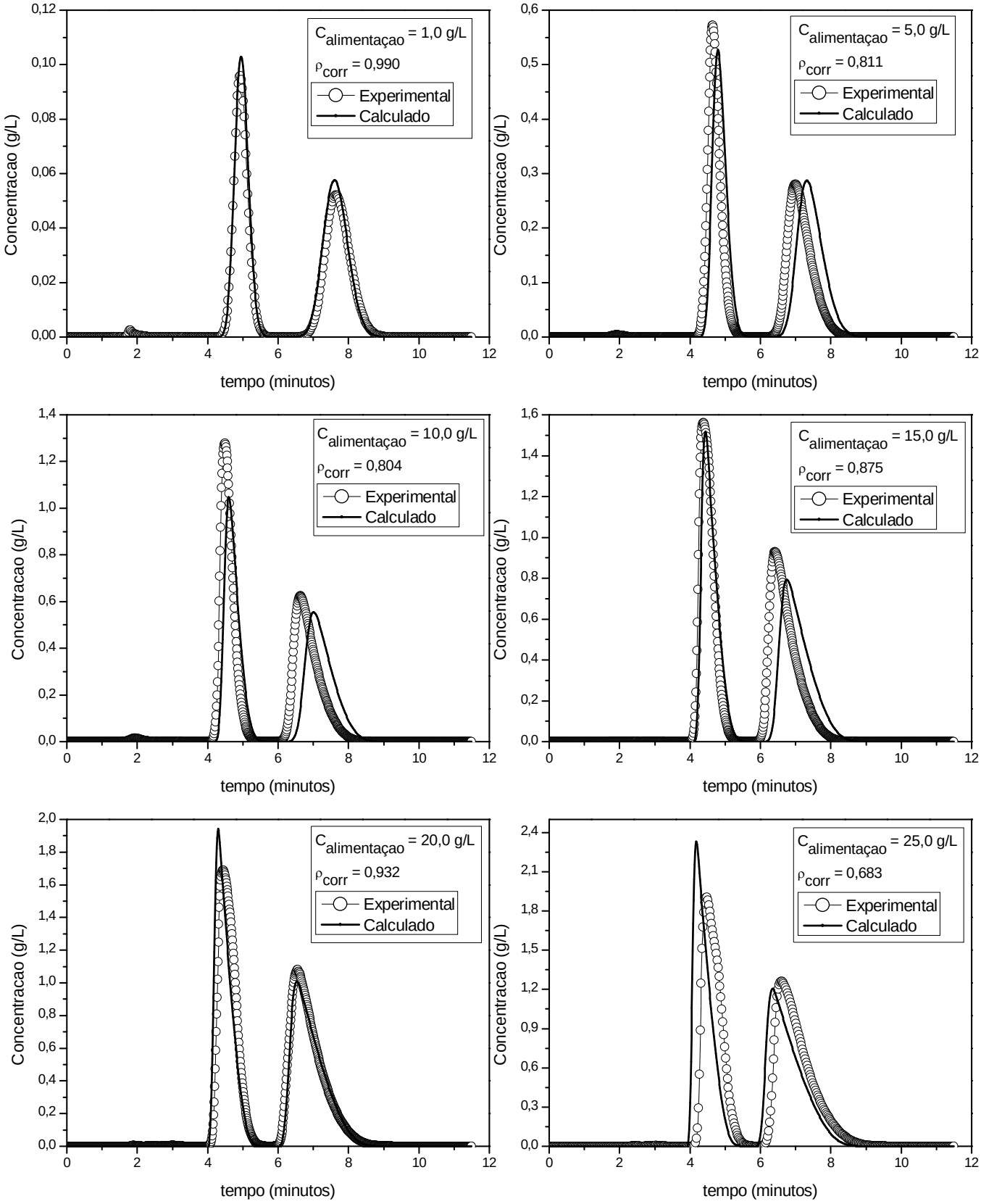


Figura 8.32: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística completa.


C alimentaçao = 1,0 g/L
ρcorr = 0,990
Experimental
Calculado
Concentracao (g/L)
tempo (minutos)
C alimentaçao = 5,0 g/L
ρcorr = 0,811
Experimental
Calculado
Concentracao (g/L)
tempo (minutos)
C alimentaçao = 10,0 g/L
ρcorr = 0,804
Experimental
Calculado
Concentracao (g/L)
tempo (minutos)
C alimentaçao = 15,0 g/L
ρcorr = 0,875
Experimental
Calculado
Concentracao (g/L)
tempo (minutos)
C alimentaçao = 20,0 g/L
ρcorr = 0,932
Experimental
Calculado
Concentracao (g/L)
tempo (minutos)
C alimentaçao = 25,0 g/L
ρcorr = 0,683
Experimental
Calculado
Concentracao (g/L)
tempo (minutos)

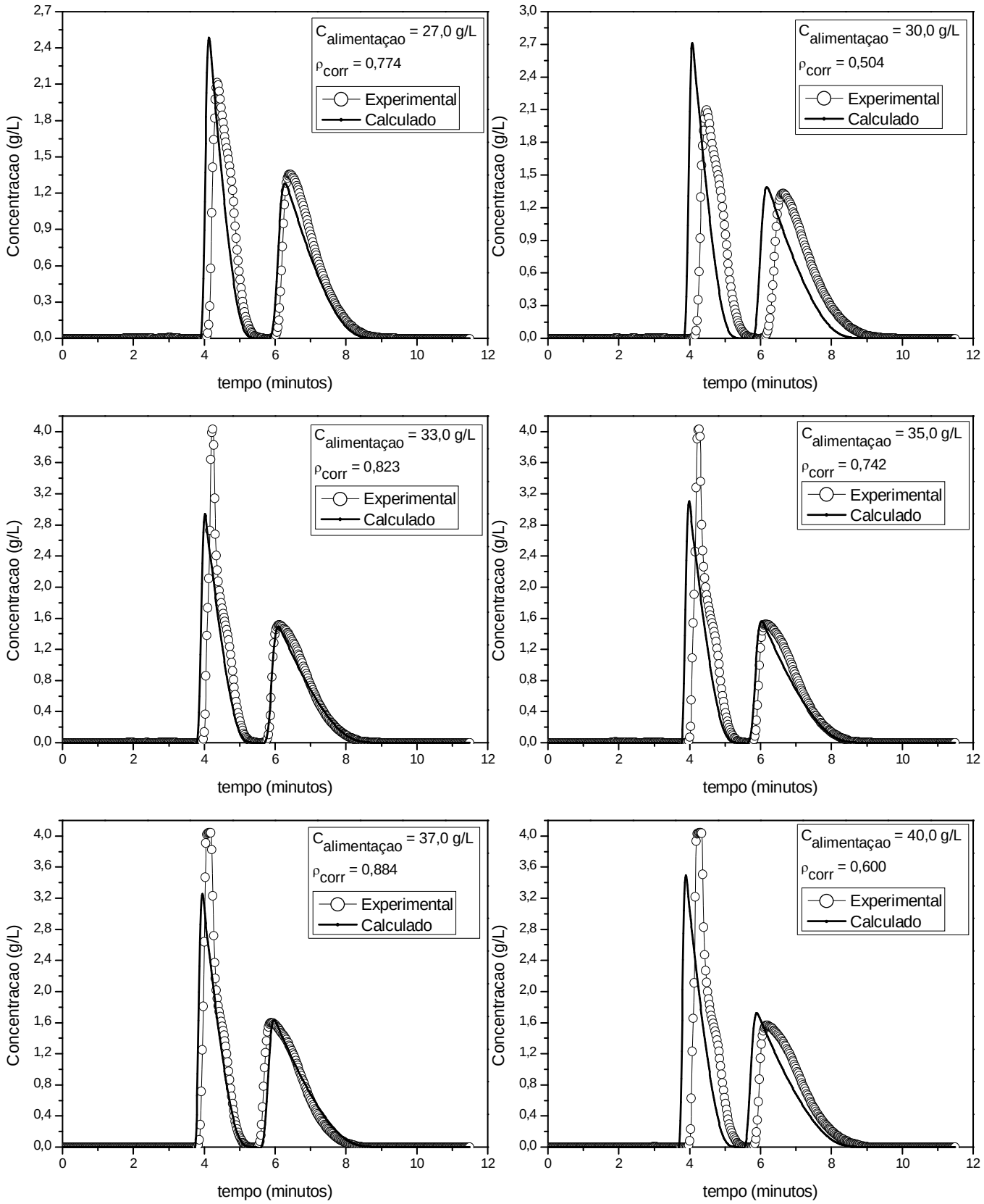


Figura 8.33: Comparação entre os perfis de concentração experimental (○) e calculado (-) para amostras de 200,0 µL de praziquantel racêmico, nas concentrações de 1 a 40 g/L. Cromatogramas simulados com modelo de isoterma estatística completo.

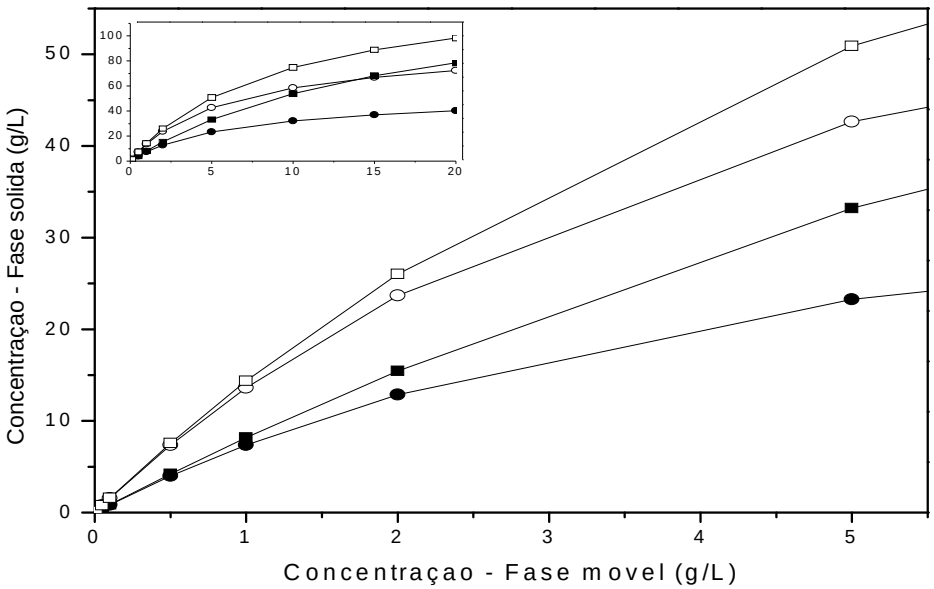


Figura 8.34: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo estatístico completo. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro.

8.6.2.4 Isoterma estatística - modelo simplificado

Nesta seção apresenta-se o último resultado referente à estimação de parâmetros da isoterma estatística. Utilizou-se a isoterma estatística em sua forma simplificada, aplicando-se as considerações apresentadas no **Capítulo VI, Seção 6.3**.

Os parâmetros estimados foram Q_{max}, f_q, E_q e E_{aq}. Os parâmetros K_{aq} e K_q foram correlacionados com a capacidade máxima, fração de sítios "quirais" e constantes de Henry, por meio das **Eq. 8.19 e 8.20**.

$$K_{aq} = \frac{H_1}{2.Q_{max}} \quad \textbf{(8.19)}$$

$$K_q = \left(H_2 - \frac{(2-f_q).H_1}{2}\right).\left(\frac{1}{Q_{max}.f_q}\right) \quad \textbf{(8.20)}$$

A estimação foi realizada de forma semelhante àquela utilizada para os modelos Langmuir e duplo-Langmuir, ou seja, foram gerados dois conjuntos de parâmetros ajustados, um para os perfis de puros e outro para os perfis de mistura racêmica.

Os resultados obtidos para os conjuntos de parâmetros são apresentados na **Tabela 8.19**.

Tabela 8.19: Valores estimados para os parâmetros do modelo estatístico simplificado. [1.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para os componentes puros. [2.] Parâmetros estimados somente com os perfis experimentais para mistura racêmica.

Puros			*Racêmico*		
Parâmetros	*Média*	*desvio-padrão*	*Parâmetros*	*Média*	*desvio-padrão*
Q_{max}	203,47	6,98E-03	Q_{max}	419,46	1,47E-05
f_q	0,30	1,14E-05	f_q	0,75	3,67E-08
K_{aq}	0,02	3,72E-04	K_{aq}	0,01	1,80E-04
K_q	0,14	4,42E-03	K_q	0,03	8,03E-04
			E_q	40,00	2,22E-06

Aparentemente, as simplificações introduzidas, provocaram maiores correlações entre os parâmetros do modelo (**Tabela C.6, Anexo C.1**). Observou-se que o par de parâmetros Q_{max} e f_q apresentou um alto grau de correlacionamento, para o caso da estimaçâo com dados de mistura racêmica.

Como se pode observar os valores dos parâmetros, para os perfis de puros e mistura racêmica, diferem demasiadamente. Os parâmetros de energia E_q (puros) e E_{aq} (puros e racêmico) foram fixados no valor 1,0, uma vez que foi observada a tendência de convergência para este valor.

Os resultados para avaliação da qualidade do modelo são apresentados na **Tabela 8.20**. Como se pode observar, a aplicação das considerações não gerou mudanças significativas na qualidade do ajuste do modelo, se comparado com os resultados obtidos para os modelos Langmuir, duplo-Langmuir e estatístico completo. Para o caso dos dados de mistura racêmica, o modelo apresentou um erro médio maior em relação aos outros modelos.

Tabela 8.20: Resultados para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo estatístico simplificado.

	Puros	*Mistura racêmica*
Nº Experimentos	11	12
Nº Respostas	863	863
Nº Parâmetros	6	6
Graus de Liberdade	9491	10353
Erro médio	0,01	0,12

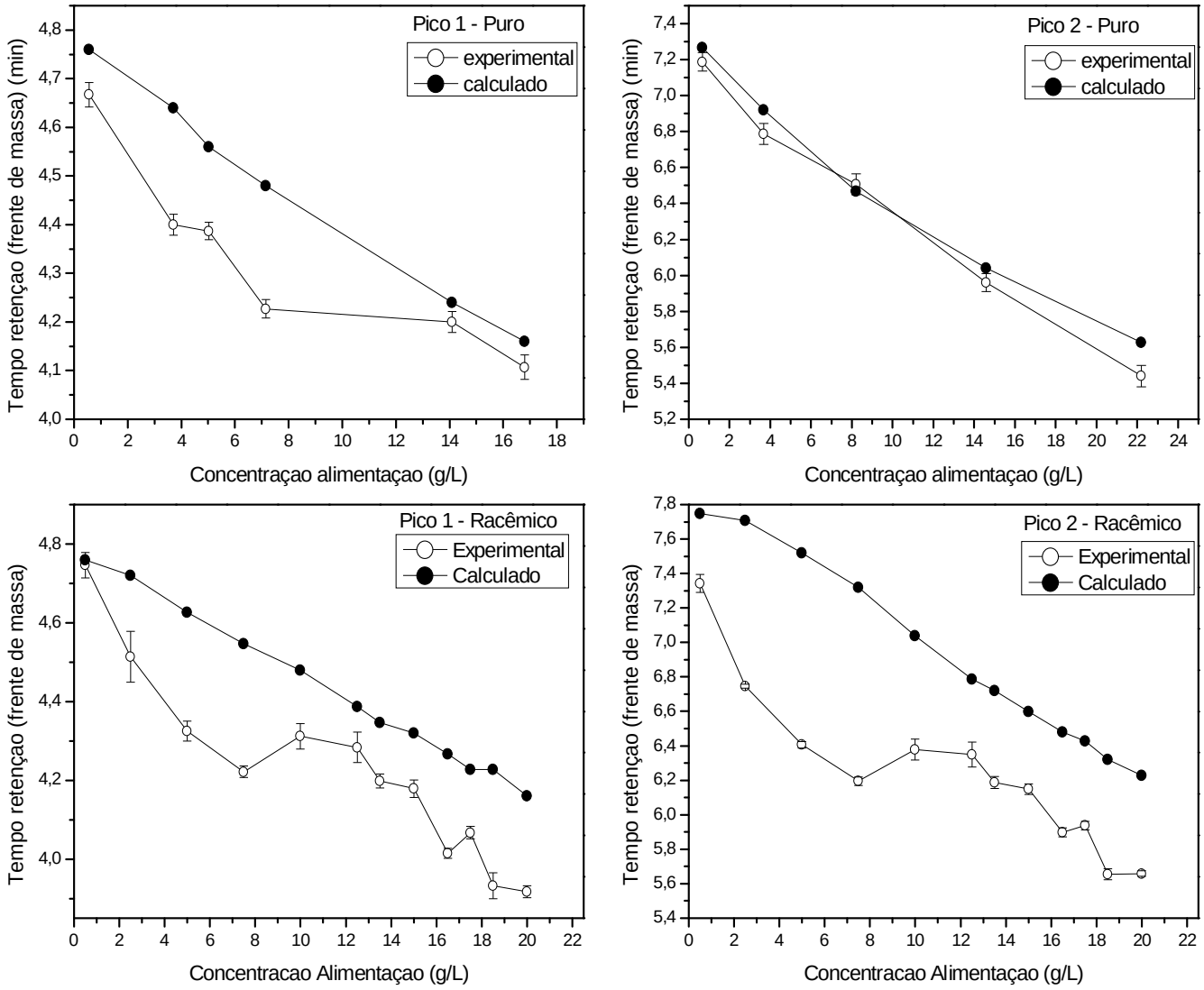


Figura 8.35: Comparação entre os tempos de retenção da frente de massa calculado (●) e experimental (○) para o Pico 1 (à esquerda) e Pico 2 (à direita). Tempos de retenção da frente de massa foram computados com o modelo estatístico simplificado.

Na **Figura 8.35**, são apresentadas as comparações entre os tempos de retenção da frente de massa calculados e experimentais.

Observa-se que, para o caso de puros, os valores calculados destoam ligeiramente dos dados experimentais, quando comparado aos outros modelos testados. Os pares de médias referentes às concentrações 14,10 g/L (Pico 1) e 8,20 g/L (Pico 2) não diferem de forma significativa.

Para o caso da mistura racêmica, houve maior diferença entre os tempos calculados e experimentais. Todas os pares de médias relacionados ao segundo componente apresentaram-se estatisticamente diferentes. Em relação ao primeiro componente, apenas o par de médias para a concentração de 0,5 g/l não apresentou diferença relevante.

As isotermas geradas por meio do modelo estatístico simplificado são apresentadas na **Figura 8.36**. Nas **Figuras 8.37, 8.38 e 8.39**, são demonstrados os perfis de concentração experimentais e simulados para cada concentração de alimentação testada.

Esses resultados mostram que as considerações introduzidas não afetam a adequação do modelo aos dados para componentes puros. Possivelmente, pelo fato de que as simplificações realizadas sobre os parâmetros do modelo não afetam a natureza langmuiriana do mesmo. Dessa forma, o ajuste dos perfis de componentes puros não sofre grande alteração, uma vez que os dados experimentais exibem um comportamento tipicamente Langmuir.

O modelo, entretanto, não se ajustou, satisfatoriamente, aos perfis de concentração da mistura racêmica. Grandes desvios entre as respostas simuladas e experimental forma observados, principalmente para o segundo componente.

Esta falta de ajuste é confirmada ao se observar que a isoterma, referente ao segundo pico, possui uma inclinação muito diferente daquela associada à este mesmo componente, puro. Espera-se que em baixas concentrações essas inclinações sejam iguais, devido à correlação dos parâmetros com a constante de Henry. Esse desvio está associado ao valor do parâmetro E_q, o qual está presente no numerador do primeiro termo que compõe a isoterma. Um valor muito alto deste parâmetro altera a inclinação da curva levando à inconsistência observada.

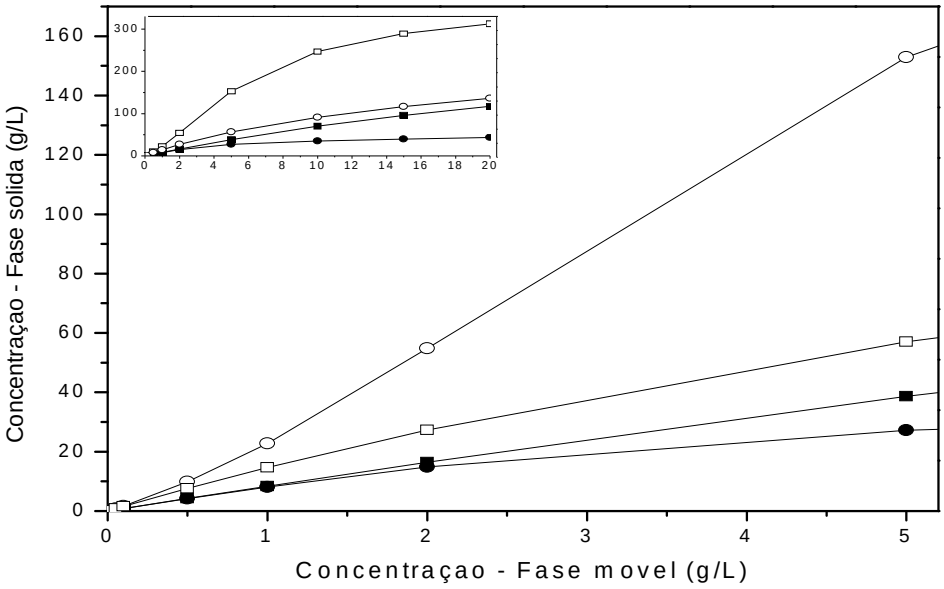


Figura 8.36: Isotermas de adsorção para os enantiômeros puros e mistura racêmica calculadas a partir do modelo estatístico simplificado. (●) Pico1 - mistura racêmica, (○) Pico2 - mistura racêmica, (■) Pico1 - puro, (□) Pico2 - puro.

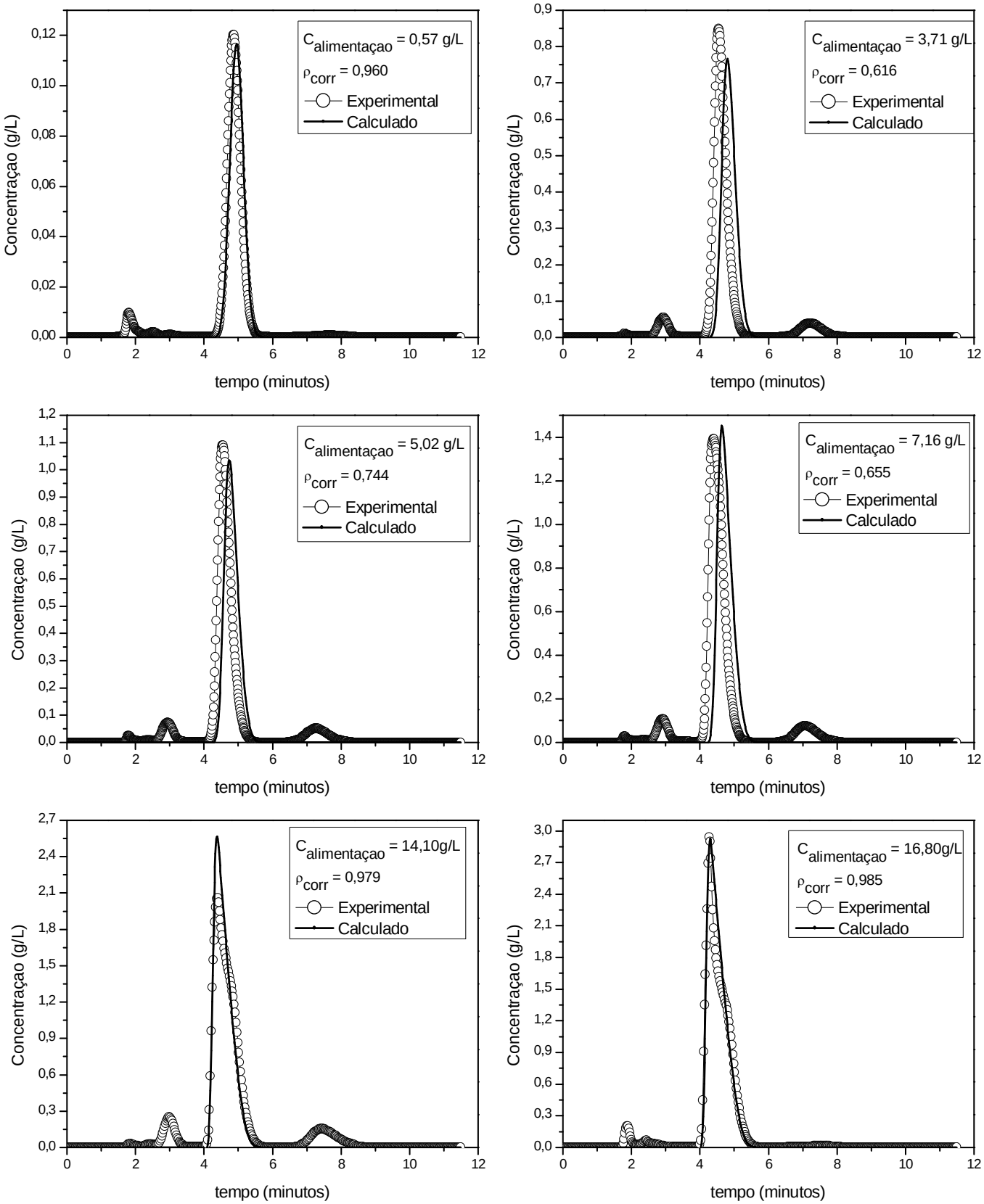


Figura 8.37: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 1 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística simplificada.

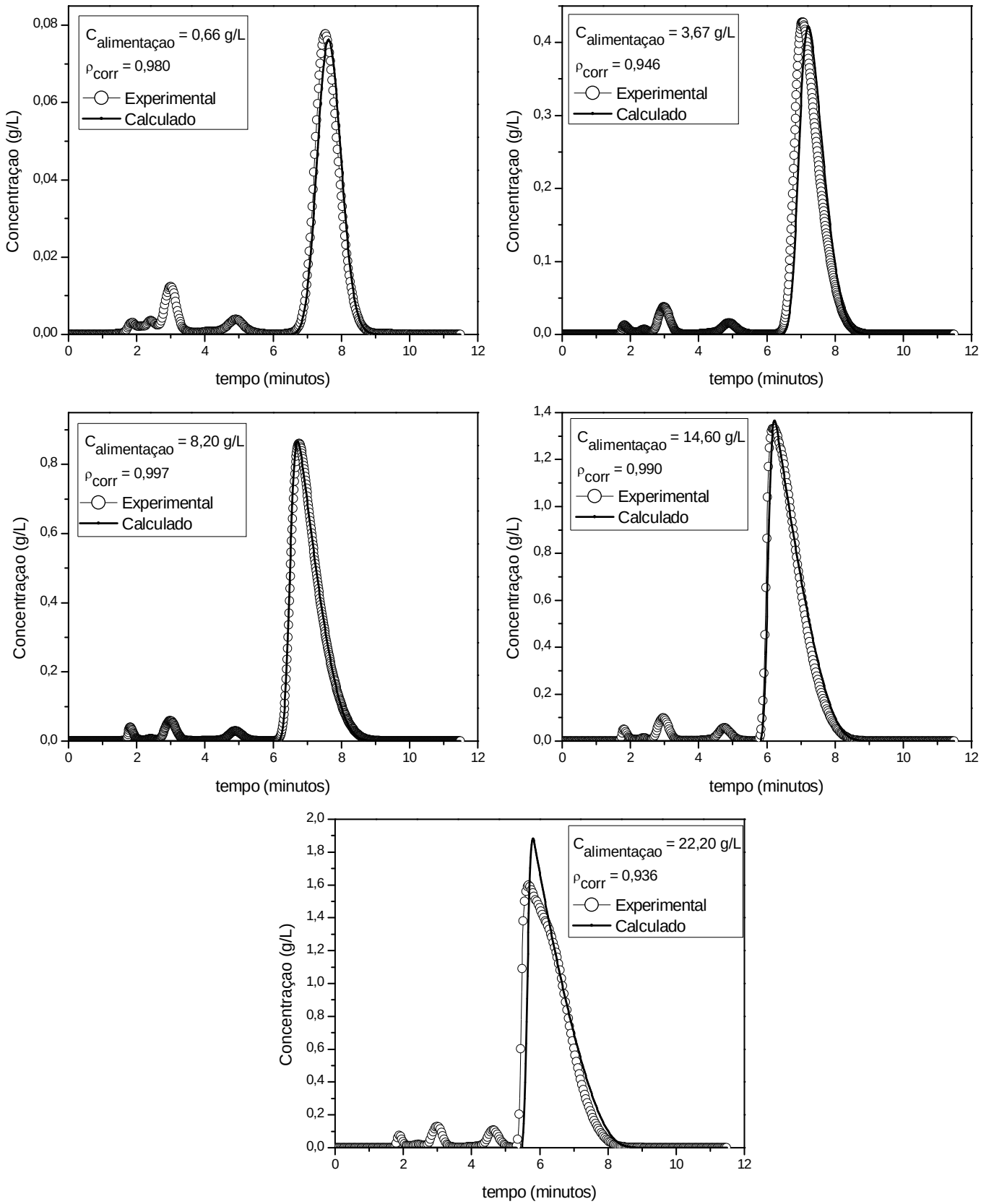
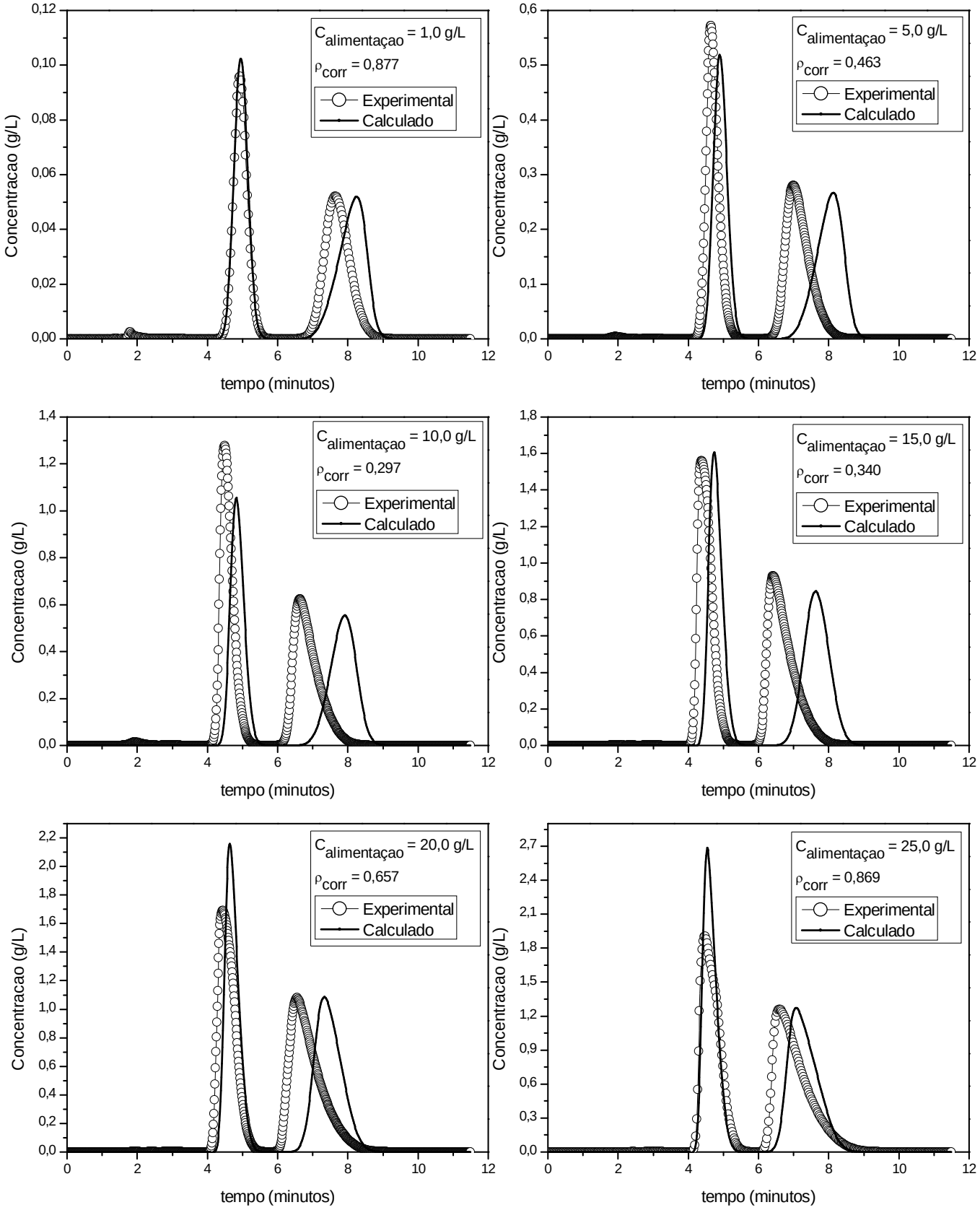


Figura 8.38: Comparação entre perfis de concentração experimentais (○) e calculados (-) para o Pico 2 puro. Cromatogramas calculados foram gerados a partir da isoterma estatística simplificada.


C alimentaçao = 1,0 g/L
ρcorr = 0,877
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 5,0 g/L
ρcorr = 0,463
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 10,0 g/L
ρcorr = 0,297
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 15,0 g/L
ρcorr = 0,340
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 20,0 g/L
ρcorr = 0,657
Experimental
Calculado
C alimentaçao = 25,0 g/L
ρcorr = 0,869
Experimental
Calculado
Concentracao (g/L)
tempo (minutos)

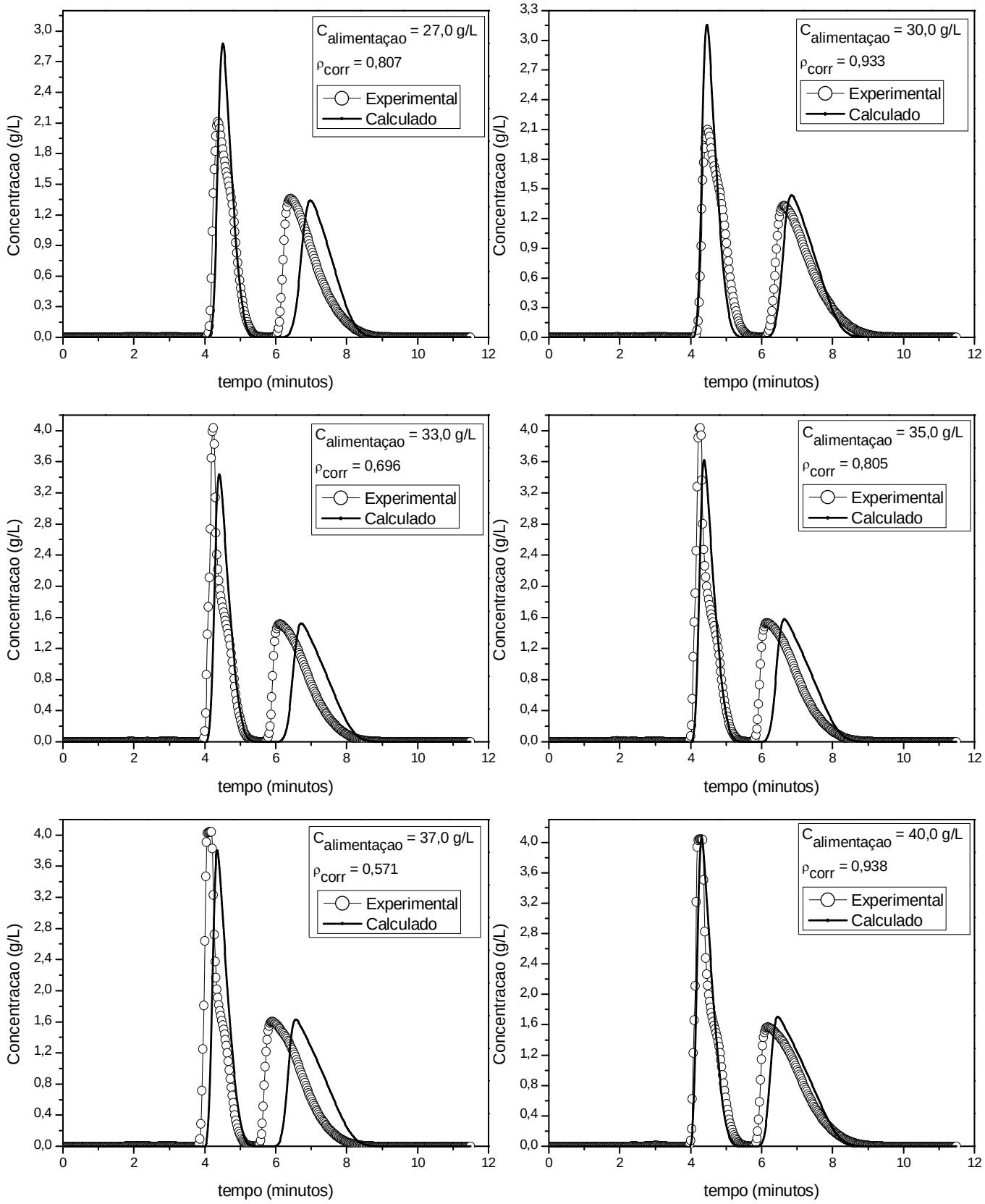


Figura 8.39: Comparação entre os perfis de concentração experimental (○) e calculado (-) para amostras de 200,0 μL de praziquantel racêmico, nas concentrações de 1 a 40 g/L. Cromatogramas simulados com modelo de isoterma estatística simplificada.

O modelo simplificado possui uma capacidade descritiva comparável aos modelos anteriormente testados, em se tratando da representação dos perfis de componentes puros. Por outro lado, o mesmo é inadequado para a descrição dos perfis de mistura racêmica.

8.6.3 Análise dos parâmetros estimados e da adequação dos modelos de isotermas

Os resultados obtidos com o procedimento de estimação de parâmetros demonstram que, de forma geral, os modelos Langmuir competitivo, duplo-Langmuir e estatístico completo descrevem o comportamento dos perfis experimentais satisfatoriamente, com maior destaque para os dois últimos modelos apontados.

Todos os modelos testados representam bem os perfis para componentes puros porém, em relação aos dados para mistura racêmica, somente o modelo estatístico completo apresentou um melhor ajuste. Isto reforça a hipótese da existência de algum tipo de interação entre os dois componentes, quando estão presentes na mistura ao mesmo tempo.

Segundo FORSSÉN & FORNSTEDT (2015), formas peculiares identificadas nos perfis de eluição estão relacionadas a pontos de inflexão presentes na curva da isoterma.

Como exemplo, pode-se referenciar o trabalho de SEIDEL-MORGENSTERN & GUIOCHON (1993), os quais observaram que o aumento dos tempos de retenção, em uma dada faixa de concentração, estava relacionado à presença de uma inflexão na isoterma que descrevia o comportamento do componente em questão ((+)-Base de Tröger). Uma isoterma com termo quadrático foi utilizada pelos autores.

ZHANG, SHANG & SEIDEL-MORGENSTERN (2006) demonstraram a ocorrência de diferentes deformações nos perfis de eluição, como a formação de "ombros" na frente de massa e na cauda de dessorção, relacionados à presença de dois pontos de inflexão na isoterma. Entretanto, os autores não apontaram correlação entre alterações nos tempos de retenção e a presença de inflexões na isoterma. A isotema utilizada foi uma combinação de Langmuir com termo quadrático e Langmuir não competitivo.

DIACK & GUIOCHON (1991) identificaram pontos de inflexão na isoterma de adsorção de fenildodecano em carbono poroso, utilizando acetonitrila como fase móvel. Uma longa cauda de dessorção, ocorrendo em regiões de baixas concentrações, foi verificada, assim como deformações na frente de massa. Os autores utilizaram um modelo de isoterma semelhante ao descrito no parágrafo anterior.

Verificou-se que os modelos e parâmetros utilizados no presente trabalho não geraram pontos de inflexão na isoterma, como se pode observar na **Figura 8.40**, a qual apresenta a derivada da curva de adsorção para o modelo estatístico completo (mistura racêmica). O mesmo comportamento foi observado para os outros modelos utilizados, tanto para puros quanto para os dados de mistura racêmica.

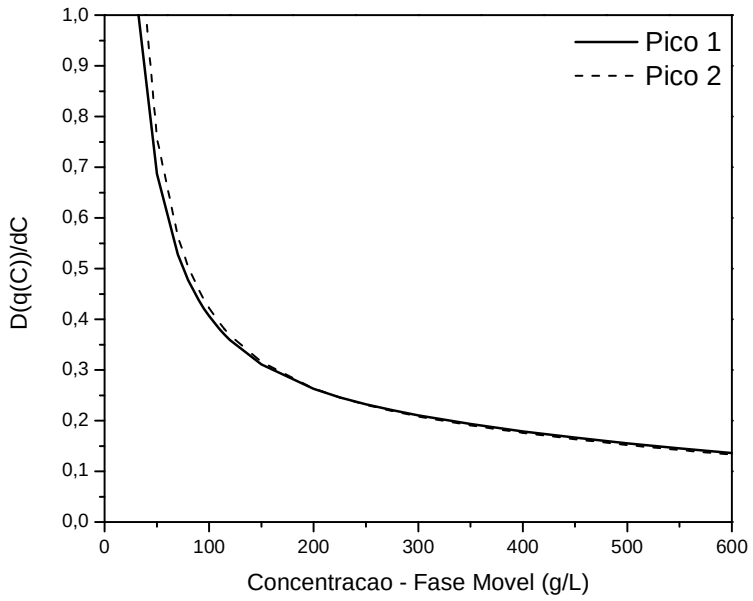


Figura 8.40: Derivada da isoterma estatística completa em função da concentração dos analitos na fase móvel, obtida para a mistura racêmica.

Isso pode estar relacionado ao método de estimação de parâmetros. Neste trabalho, utilizou-se o método inverso para o ajuste dos modelos testados, o que envolve a resolução de um problema dinâmico para geração de perfis cromatográficos, os quais são comparados com perfis experimentais. A análise frontal e o método ECP (eluição por pontos característicos) são frequentemente utilizados para determinação da isoterma experimental diretamente. Sendo assim, o ajuste do

modelo de isoterma pelo método inverso é feito de forma indireta, sem informações detalhadas da curva de adsorção.

Este ponto de discussão pode ser importante pois algumas características da isoterma de adsorção, como os próprios pontos de inflexão, são demasiado sutis e geralmente bruscas, ocorrendo em pequenas faixas de concentração, porém provocam profundas alterações nos perfis de eluição. Assim, há uma possibilidade do método inverso não perceber tais características adequadamente, uma vez que os dados experimentais (perfis de concentração) são o resultado de diferentes eventos que se desenvolvem ao longo da coluna.

De acordo com os dados experimentais, os tempos de retenção desviam do comportamento idealmente esperado, na faixa de 15 a 25 g/L, sendo que a variação no valor do tempo dentro desta faixa é de 0,06 min para o Pico 1, enquanto que para o Pico 2 é de 0,15 min. Observa-se que essas alterações, embora significativas, são muito pequenas e ocorrem de forma brusca. Dessa forma, em vista ao discutido anteriormente, o método inverso pode não ser sensível o suficiente para identificar não-linearidades associadas à estes efeitos.

Um aspecto importante a ser avaliado relaciona-se ao modelo estatístico de isoterma utilizado. O procedimento de dedução do modelo mostrou que o mesmo é composto de termos que correspondem à aspectos físicos bastante específicos do processo de adsorção. Em outras palavras, é possível inferir significância física precisa à cada parâmetro que compõe o modelo.

No entanto muitos desses parâmetros podem não ser corretamente estimados por meio dos dados de perfis de eluição, como por exemplo os parâmetros de energia de interação, pelo simples fato de que os dados experimentais utilizados são uma resposta macroscópica gerada pelo sistema. Tal resposta é o resultado da concatenação de muitos efeitos microscópicos simultaneamente, o que pode prejudicar a estimação precisa do valor de certos parâmetros.

Uma solução para o problema exposto no parágrafo anterior seria a utilização de mais perfis de eluição experimentais porém, com as bandas de ambos componentes, sobrepostas de tal modo que as interações, e assim, os parâmetros que as descrevem, se tornassem mais significativos. Outra alternativa refere-se a

determinação dos parâmetros de energia de interação por meio de algum método instrumental.

Os parâmetros de todos os modelos de isotermas, utilizados neste trabalho, foram restringidos ao domínio dos números reais positivos. Esta restrição foi imposta pois, segundo HILL (2012), qualquer isoterma de adsorção pode ser representada a partir de uma razão de funções polinomiais, cujos parâmetros, por estarem correlacionados com aspectos físicos bem definidos, devem possuir valores obrigatoriamente positivos. Muitos modelos de isotermas propostos na literatura, são ajustados utilizando-se parâmetros negativos, o que deteriora a significância física dos mesmos.

Finaliza-se esta discussão com a síntese de duas possíveis explicações para os mecanismo de adsorção do praziquantel nas condições estudadas. A primeira relaciona-se ao principal ponto discutido até o presente momento, isto é, interações entre moléculas adsorvidas, e a segunda refere-se à adsorção e competição do próprio solvente.

Todos os modelos testados neste trabalho, com maior ênfase para o modelo estatístico, preveem efeitos de competição entre os dois enantiômeros do praziquantel. Em geral, o aparecimento de "ombros" nas bandas de eluição são relacionados à competição entre as espécies químicas presentes, quando as mesmas encontram-se parcialmente separadas.

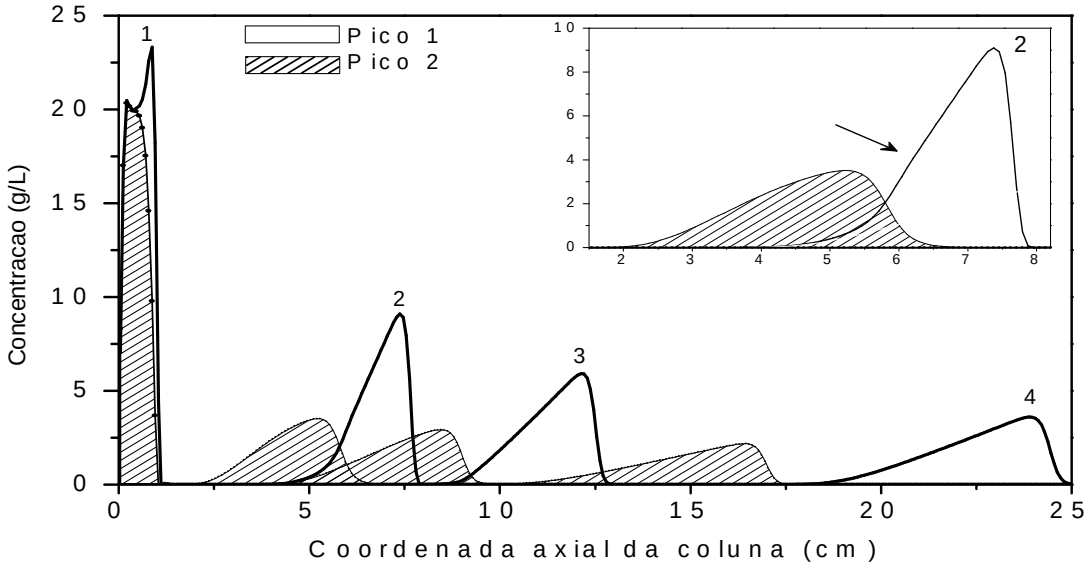


Figura 8.41: Perfis de eluição dos enantiômeros do praziquantel simulados ao longo da coluna cromatográfica. Perfis calculados com a isoterma estatística completa. A seta no gráfico interno indica o ombro formado na banda do Pico 1. Tempos: **1.** 0,1 min; **2.** 0,95 min; **3.** 1,95; **4.** 3,67 min.

Na **Figura 8.41** são demonstrados os perfis de eluição dos dois enantiômeros ao longo da coluna e em diferentes intervalos de tempo. Estes perfis foram calculados utilizando-se o modelo estatísco completo e os parâmetros estimados. Nota-se que, no início da processo (0,1 min após injeção), o Pico 2 apresenta uma frente de massa mais concentrada que o Pico 1, o que indica o efeito de competição. Após 0,95 min, as bandas estão parcialmente sobrepostas e nota-se a formação dos "ombros" (mais evidentes no Pico 1), conforme mencionou-se no parágrafo anterior. Isso demonstra que o modelo prevê corretamente os efeito de competição.

Segundo o modelo, os componentes estão plenamente separados, ainda no interior da coluna, após 3,5 minutos do início do processo. Foi observado que os "ombros" formados são atenuados, conforme as bandas eluem e se separam.

Por meio de outras simulações, com o mesmo modelo, verificou-se que quando os parâmetros de energia de interação entre as moléculas adsorvidas assumem valores altos, os "ombros" apresentam-se muito sutis, conforme se nota na figura anterior. Esse efeito está relacionado ao fato da interação entre as moléculas constituir um mecanismo contrário à competição. Entretanto, determinou-se que, mesmo com a ausência dos parâmetros de energia, as deformações das bandas de eluição não permanecem após a completa separação das substâncias.

Com base nesses resultados, é possível que os "ombros" observados nos perfis experimentais sejam o resultado de algum tipo de interação competitiva, a qual provoca alterações duradouras nas bandas de eluição, ou seja, mesmo após a completa separação dos componentes, as alterações na forma dos picos se mantém até o final da coluna. Estas interações também levariam a uma separação completa dos componentes nas regiões próximas ao final da coluna.

É interessante observar que os "ombros" associados aos perfis experimentais em condições de sobrecarga surgem na mesma faixa de concentração de alimentação, tanto para as amostras racêmicas quanto para as amostras puras. Para o caso da mistura racêmica, a deformação do Pico 1 pode ser notada no perfil gerado a partir da amostra a 25,0 g/L, para o Pico 2, essa não linearidade é notada no perfil a 40,0 g/L. No caso dos perfis de amostras puras, verifica-se o aparecimento dos "ombros" nas concentrações de alimentação de 14,11 g/L para o Pico 1 e 22,18 g/L para o Pico 2.

Isso demonstra que tal deformação em um dos picos pode estar associada, não somente, à presença do outro enantiômero na amostra, mas à alta concentração do componente em questão, e de uma possível competição com o solvente.

O solvente é geralmente desprezado na modelagem do fenômeno adsortivo e, geralmente, considera-se sua sorção na fase estacionária desprezível. No entanto, em condições de sobrecarga, a quantidade dos analitos podem se equiparar à quantidade de solvente e a competição entre ambos, passa a ser significativa.

Dependendo do nível de competição entre o solvente e os componentes de interesse, as bandas de eluição apresentam deformações. Em altas concentrações, os componentes deslocam as moléculas do solvente que estão adsorvidas nos sítios da fase sólida, e assim a forma dos picos torna-se dependente não apenas das interações entre os analitos que compõem a amostra, como também da eluição do solvente deslocado.

POPLEWSKA, PIATKOWSKI & ANTOS (2006) verificaram que o solvente, que constitui a fase móvel, afeta o equilíbrio termodinâmico, como também a competição entre os analitos. Experimentos com a utilização de gradientes de solventes ou modificadores adicionados à fase móvel evidenciam que a mesma pode adsorver

sobre a fase estacionária e que os perfis de concentração são influenciados por interações com os componentes da fase fluida (FORNSTEDT & GUIOCHON, 1994; ANTOS, PIATKOWSKI & KACZMARSKI, 2000; POPLEWSKA & ANTOS, 2005).

Os trabalhos de IKAI & OKAMOTO (2010) versam a respeito da estrutura e dos mecanismos de reconhecimento quiral em fases estacionárias polissacarídicas, semelhantes àquela utilizada neste trabalho. Os autores demonstraram por meio de dados de espectroscopia e modelagem molecular que o sítio de adsorção, possui o hidrogênio do grupamento NH do carbamato como o elemento principal no mecanismo de reconhecimento quiral. É esperado que a separação entre os componentes deva-se à ligação de hidrogênio entre o grupo NH do carbamato e um dos enantiômeros. Solventes polares capazes de realizar ligações de hidrogênio podem adsorver fortemente sobre a fase estacionária, afetando o acesso dos solutos aos sítios de adsorção. KASAT *et al.* (2006), WANG & WENSLOW (2003) e HELMY & WANG (2005) determinaram que solventes como metanol, etanol, 2-propanol, entre outros, alteram a força das ligações de hidrogênio do grupo NH e da carbonila, presentes nos seletores quirais baseados em fenilcarbamato, além de alterar a conformação das cadeias polissacarídicas e assim, afetar a área disponível e a adsorção dos componentes de interesse (IKAI & OKAMOTO, 2010).

A hipótese de competição com o solvente apresenta-se como uma boa explicação para os resultados observados, uma vez que os "ombros" surgem apenas em regiões de altas concentrações, o que é compatível com a condição para que haja um deslocamento significativo da banda de solvente.

É notável, entretanto, que os mecanismos elucidados neste trabalho necessitam de uma avaliação mais profunda, por meio de outros dados experimentais.

8.7 Análise e discussão das potenciais aplicações do modelo estatístico proposto.

Nesta seção, são apresentados alguns resultados, referentes às aplicações do modelo de isoterma estatística proposto, buscando-se demonstrar o potencial deste modelo na descrição de diferentes fenômenos ligados à adsorção.

Os parâmetros do modelo estatístico foram modificados de maneira a gerar diferentes formas para a isoterma de adsorção. Na **Tabela 8.21** são apresentados os parâmetros utilizados para a obtenção das quatro curvas apresentadas na **Figura 8.42**.

Tabela 8.21: Parâmetros para geração de diferentes curvas de adsorção a partir do modelo de isoterma estatístico. **A.** Langmuir com inversão de seletividade. **B.** Langmuir\Henry. **C.** Anti-langmuir\Langmuir. **D.** Langmuir\Anti-langmuir\Langmuir.

	Isotermas de Adsorção			
Parâmetros	*A*	*B*	*C*	*D*
Q_{max}	80,0	80,0	50,0	100,0
f_q	0,2	0,1	0,2	0,1
K_{AR}	0,005	1,06225	0,00001	0,848
K_{AS}	0,1	1,9785	0,002	1,581
K_{BR}	0,05	0,001	0,00045	0,001
K_{BS}	0,13	0,001	0,0006	0,001
E_{qrr}	1,0	1,0	1,0	1,0
E_{aqrr}	10,0	1,0	20,0	20,0
E_{qss}	0,009	1,0	1,0	10,0
E_{aqss}	1,0	1,0	20,0	20,0
E_{qrs}	1,0	1,0	1,0	1,0
E_{qsr}	1,0	1,0	20,0	1,0
E_{aqrs}	1,0	1,0	24,0	1,0

Observa-se que a isoterma estatística é capaz de descrever curvas de adsorção do tipo I (**Figura 8.42.A e 8.42.B**) e tipo II (**Figura 8.42.C e 8.42.D**), segundo a classificação IUPAC.

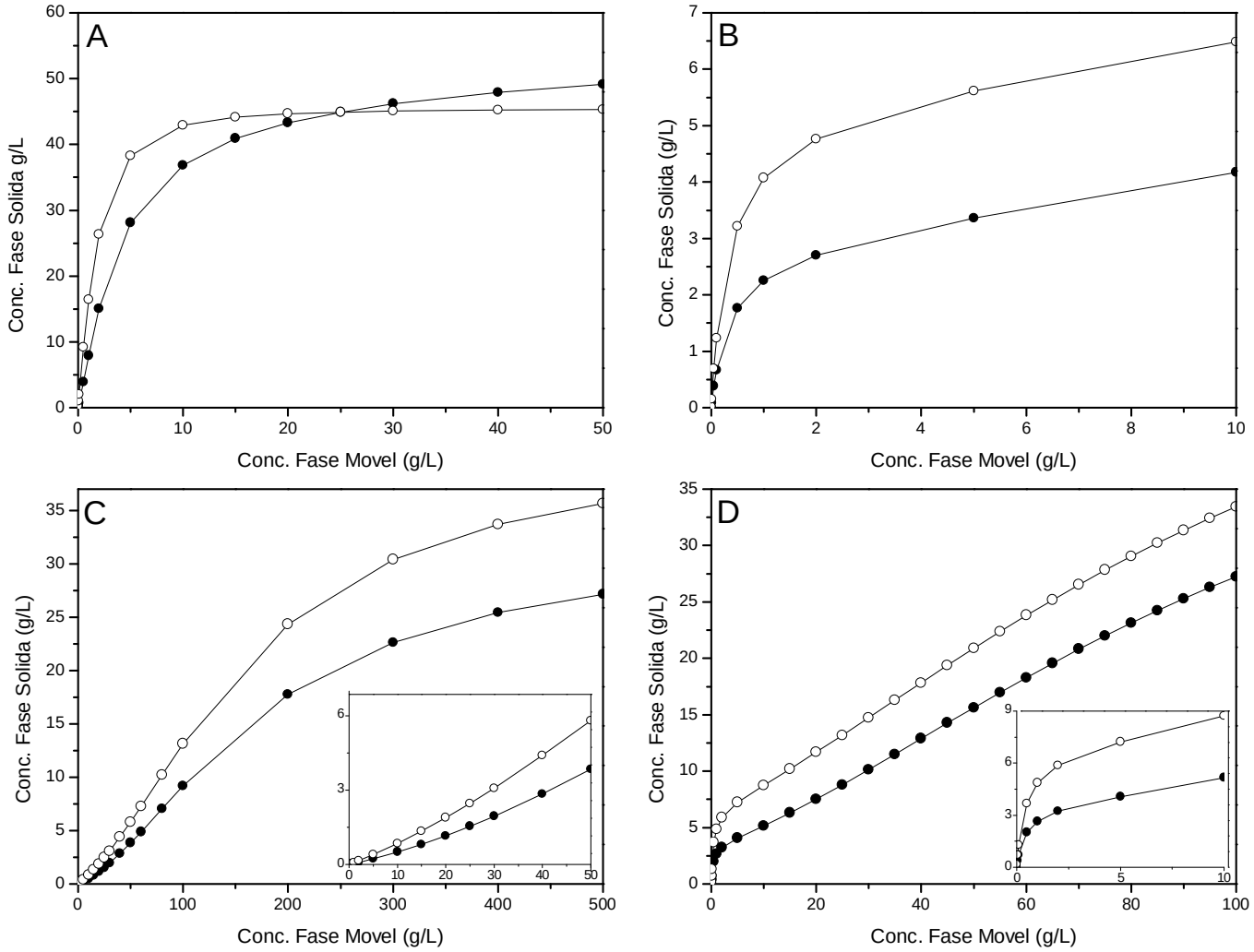


Figura 8.42: Curvas para a isoterma de adsorção estatística, geradas com diferentes parâmetros, representando diferentes fenômenos. (●) Componente 1. (○) Componente 2. **A.** Langmuir com inversão de seletividade. **B.** Langmuir\Henry. **C.** Anti-langmuir\Langmuir. **D.** Langmuir\Anti-langmuir\Langmuir.

O modelo estatístico possui uma formulação semelhante ao modelo Langmuir, e, dessa forma, é naturalmente esperado que o mesmo seja capaz de descrever dados de adsorção que apresentem tal comportamento.

Observou-se que isoterma estatística possui um comportamento equivalente à outros modelos encontrados na literatura como Langmuir-Freundlich (HINZ, 2001), Sips (CASSOL *et al.*, 2014), duplo-Langmuir e Tóth (ZHANG *et al.*, 2008; TÓTH,

2002), os quais podem representar as curvas demonstradas nas **Figuras 8.42.A e 8.42.B**.

Uma característica valiosa do modelo estatístico proposto, e de grande interesse na área de cromatografia não linear, é a capacidade de descrever curvas com pontos de inflexão, como os observados nas isotermas C e D. As **Figuras 8.43.A e 8.43.B** apresentam a derivada primeira das isotermas C e D.

A presença de inflexões ao longo da isoterma está relacionado aos mais diversos efeitos físicos (interações laterais, formação de multicamadas, condensação capilar, etc.), os quais podem provocar deformações nas bandas de eluição dos componentes de interesse.

Poucos são os modelos reportados na literatura capazes de descrever tais inflexões (FORSSÉN & FORNSTEDT, 2015). Entre alguns deles, pode-se citar o modelo de Aranovich-Donohue (HINZ, 2001), o modelo BET e o modelo de Harkins & Jura (TÓTH, 2002). Estes modelos, a depender do valor dos parâmetros, são capazes de descrever curvas semelhantes às apresentadas nas **Figuras 8.42.C e 8.42.D**, e, dessa forma, são equivalentes ao modelo estatístico utilizado neste trabalho.

Um detalhe a ser assinalado refere-se ao fato do modelo estatístico ser capaz de descrever curvas de adsorção tipo anti-langmuir (**Figura 8.42.C**), sem a necessidade de parâmetros com valores negativos. Conforme já mencionado, valores negativos são fisicamente inconsistentes, e seu uso degenera a representação do fenômeno por meio do modelo, tornando-o uma mera Equação de ajuste.

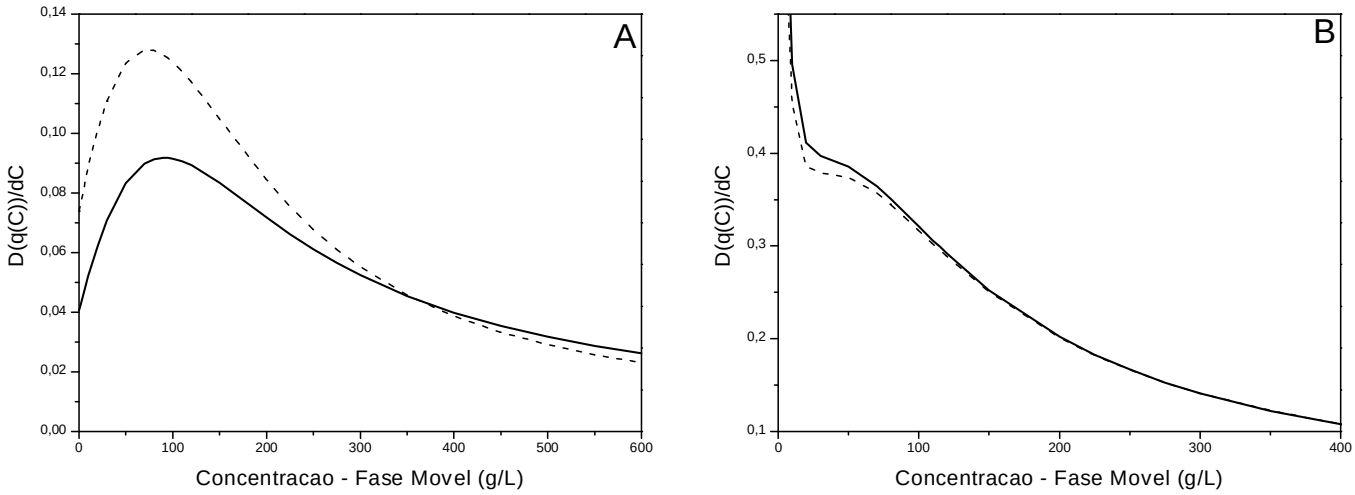


Figura 8.43: Derivadas das isotermas estatísticas, apresentando pontos de inflexão, em função da concentração de analito na fase móvel. (—) Componente 1. (····) Componente 2. **A.** Derivada referente a isoterma C. **B.** Derivada referente a isoterma D.

Os resultados mostram que o modelo estatístico é suficientemente flexível e capaz de reproduzir o comportamento de algumas isotermas, comumente encontradas na literatura. Além disso, o fato de possuir termos intimamente ligados aos fenômenos microscópicos tornam este e outros modelos, oriundos da termodinâmica estatística, bastante efetivos na descrição e compreensão dos processos de adsorção dos mais diversos compostos químicos.

CAPÍTULO IX

CONSIDERAÇÕES FINAIS

9.1 Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho, assim como sua análise, permitiram concluir que, os enantiômeros do praziquantel podem ser adequadamente separados, utilizando-se etanol como fase móvel e celulose tris 3-cloro-4-metil fenilcarbamato como fase estacionária. Foi obtida separação por linha de base para concentrações de amostra (injeção) de até 40 g/L de praziquantel racêmico. As condições utilizadas geraram melhores parâmetros de separação, comparados com alguns dados reportados na literatura.

Os parâmetros da coluna cromatográfica foram satisfatoriamente determinados. A porosidade total da coluna foi de 0,782 e seu tempo morto, na vazão de 2,0 mL/min, foi de 1,63 minutos. Foi determinado que o transporte de massa na coluna aparenta ser pouco influenciado pela dispersão axial e pela transferência no interior das partículas.

Uma função racional com dois parâmetros foi satisfatoriamente ajustada, de forma a representar a não-linearidade do detector UV utilizado. Um alto coeficiente de correlação foi obtido entre os dados experimentais e calculados.

Os enantiômeros do praziquantel eluem, nas condições testadas, produzindo perfis simétricos até 5 g/L (concentração na alimentação). A partir da concentração de 10 g/L, os perfis apresentam características tipo Langmuir. Em altas concentrações (> 27 g/L) os perfis apresentam distorções em suas caudas de dessorção, além disso

os tempos de retenção dos picos de cada componente aumentam de valor entre 20 e 30 g/L, opondo-se assim, à tendência normalmente esperada.

Os modelos duplo-Langmuir e estatístico (sem simplificações) apresentaram um ajuste satisfatório, em vários aspectos. Do ponto de vista dos modelos, a fase estacionária é heterogênea e composta, majoritariamente, de um sítio seletivo e um sítio não-seletivo. A interação entre uma molécula de cada enantiômero, no sítio de adsorção, foi o principal fator apontado para justificar os fenômenos observados. Tal hipótese é suportada pelo fato de haver diferenças entre os tempos de retenção, ao se comparar os perfis de concentração dos componentes puros com os perfis da mistura racêmica.

A competição com o solvente foi um fenômeno indicado, porém não testado, para justificar os "ombros" detectados. Tais deformações surgem apenas em regiões de altas concentrações no perfil de eluição e aparentam ser compatíveis com o efeito de deslocamento do solvente.

O modelo estatístico possui uma grande quantidade de parâmetros, que estão correlacionados às interações e configurações das moléculas de interesse no interior dos sítios de adsorção, e assim, possuem uma grande significância física. Dessa forma, o modelo permite, não apenas o ajuste aos dados experimentais, como também uma boa interpretação do fenômeno físico que se desenvolve ao longo do processo. O modelo estatístico também foi capaz de representar efeitos peculiares, como a inversão de seletividade, além de gerar isotermas com pontos de inflexão. Isto demonstrou que o modelo estatístico é capaz de reproduzir a resposta de outros modelos mais comuns na literatura, como Langmuir-Henry, Anti-Langmuir e Tóth, entre outros.

CAPÍTULO X

PERSPECTIVAS FUTURAS

10.1 Perspectivas para Futuros Trabalhos

O estudo desenvolvido e apresentado nesta dissertação permitiu o reconhecimento de alguns aspectos do processo de adsorção dos enantiômeros do praziquantel. Algumas indagações surgiram durante a execução deste trabalho, e levaram a elaboração de algumas sugestões para futuras investigações, como:

- Avaliação teórica e/ou experimental do efeito de solventes sobre a forma das bandas de eluição dos enantiômeros em condições de sobrecarga;
- Reconhecimento das interações principais, enantiômeros/fase estacionária e solvente/fase estacionária, por meio de técnicas de RMN H^1 e C^{13}.
- Avaliação dos mecanismos de adsorção por meio de dinâmica molecular;
- Aplicação de modelos para avaliação da energia média de interação entre o soluto e o seletor quiral e entre os solutos adsorvidos.
- Avaliação de outros modelos de isotermas e de sua capacidade de ajuste à informação experimental disponível.
- Ajuste do modelo de isoterma estatístico a dados experimentais oriundos de bandas de eluição, apresentando diferentes níveis de sobreposição, de modo a proporcionar uma melhor avaliação dos parâmetros de energia de interação, entre pares de moléculas adsorvidas.
- Comparação com outras técnicas para obtenção de dados de equilíbrio de adsorção, como Eluição por Pontos Característicos (ECP) e Análise Frontal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANANDAMANOHARAN, P. **Isolation of Enantiomers via Diastereomer Crystallisation**. [s.l.] University of London, 2010.

ANTOS, D.; PIĄTKOWSKI, W.; KACZMARSKI, K. **Determination of Mobile Phase Effect on Single-Component Adsorption Isotherm by Use of Numerical Estimation**. *Journal of Chromatography A*, v. 874, n. 1, p. 1–12, mar. 2000.

ARNELL, R.; FORSSÉN, P.; FORNSTEDT, T. **Tuneable Peak Deformations in Chiral Liquid Chromatography. Analytical Chemistry**, v. 79, n. 15, p. 5838–47, 2007.

ASNIN, L. **Adsorption Models in Chiral Chromatography**. *Journal of Chromatography A*, v. 1269, p. 3–25, dez. 2012.

ASTER, R. C.; THURBER, C. H.; BORCHERS, B. **Parameter Estimation and Inverse Problems**. [s.l.] *Elsevier Academic Press*, 2005.

BACIOCCHI, R., ZENONI, G., MAZZOTTI, M., MORBIDELLI, M. **Separation of Binaphthol Enantiomers Through Achiral Chromatography. Journal of Chromatography A**, v. 944, n. 1-2, p. 225–240, jan. 2002.

BALBUENA, P. B.; GUBBINS, K. E. **Theoretical Interpretation of Adsorption Behavior of Simple Fluids in Slit Pores.** *Langmuir*, v. 9, n. 7, p. 1801–1814, jul. 1993.

BARD, Y. **Nonlinear Parameter Estimation**. [s.l.] *Academic Press*, 1974.

BARREIRO, E. J.; FERREIRA, V. F.; COSTA, P. R. R. **Substâncias Enantiomericamente Puras (SEP): A Questão dos Fármacos Quirais**. *Química Nova*, v. 20, n. 6, p. 647–656, dez. 1997.

BARRETO JR, A., SILVA JR, J., SANTOS, M., VEREDAS, V., SANTANA, C. **Modeling, Simulation, and Experimental Evaluation of Continuous Chromatographic Separation of Ketamine Enantiomers on MCTA**. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2008.

BEE-GIM, L.; CHI-BUN, C. **Characterization of Chiral Adsorbents on the Chromatographic Separation of Praziquantel Enantiomers**. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 35, n. 1, p. 169–175, jan. 1996.

VAN DEN BOS, A. **Parameter Estimation for Scientists and Engineers**. [s.l.] *Wiley*, 2007.

BRENAN, K. E.; CAMPBELL, S. L.; PETZOLD, L. R. **Numerical Solution of Initial-Value Problems in Differential-Algebraic Equations**. [s.l.] *Society for Industrial and Applied Mathematics*, 1995.

BRUICE, P. Y. **Organic Chemistry**. [s.l.] *Prentice Hall*, 2013.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos Usando o Statistica**. [s.l.] *E-papers*, 2003.

CARDIM, L. L. **Caracterização das Áreas de Risco para a Esquistossomose Mansônica no Município Lauro de Freitas, Bahia**. [s.l.] Universidade Federal da Bahia, 2010.

CASSOL, G., GALLON, R., SCHWAAB, M., BARBOSA-COUTINHO, E., JÚNIOR, J., PINTO, J. **Statistical Evaluation of Non-Linear Parameter Estimation Procedures for Adsorption Equilibrium Models**. *Adsorption Science & Technology*, v. 32, n. 4, p. 257–274, abr. 2014.

CAZES, J.; SCOTT, R. P. W. **Chromatography Theory**. [s.l.] *CRC Press*, 2002.

CHANKVETADZE, B., YASHIMA, E., OKAMOTO, Y. **Chloromethylphenylcarbamate Derivatives of Cellulose as Chiral Stationary Phases for High-Performance Liquid Chromatography**. *Journal of Chromatography* A, v. 670, n. 1-2, p. 39–49, jun. 1994.

CHARTON, F.; JACOBSON, S. C.; GUIOCHON, G. **Modeling of the Adsorption Behavior and the Chromatographic Band Profiles of Enantiomers**. *Journal of Chromatography A*, v. 630, n. 1-2, p. 21–35, fev. 1993.

COOK, GC; ZUMLA, A. **Manson's Tropical Diseases**. *Elsevier Academic Press*, 2008.

COX, G. B. **Preparative Enantioselective Chromatography**. [s.l.] *Jonh Wiley & Sons*, 2008.

CUSSLER, E. L. **Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems**. [s.l.] *Cambridge University Press*, 2009.

DEEMTER, J. J. VAN. **Longitudinal Diffusion and Resistance to Mass Transfer as Causes of Nonideality in Chromatography**. *Chemical Engineering Science*, v. 50, n. 24, p. 3867, dez. 1995.

DIACK, M.; GUIOCHON, G. **Adsorption Isotherms and Overloaded Elution Profiles of Phenyl-n-alkanes on Porous Carbon in Liquid Chromatography**. *Langmuir*, v. 8, n. 6, p. 1587–1593, jun. 1992.

DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied Regression Analysis**. [s.l.] *Wiley*, 2014.

ELOVICH, S. Y.; LARIONOV, O. G. **Theory of Adsorption from Nonelectrolyte Solutions on Solid Sdsorbents**. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR Division of Chemical Science*, v. 11, n. 2, p. 191–197, fev. 1962.

ENGLEZOS, P.; KALOGERAKIS, N. **Applied Parameter Estimation for Chemical Engineers**. [s.l.] *CRC Press*, 2000.

ENMARK, M., SAMUELSSON, J., UNDIN, T., FORNSTEDT, T. **Characterization of an Unusual Adsorption Behavior of Racemic Methyl-Mandelate on a Tris-(3,5-Dimethylphenyl) Carbamoyl Cellulose Chiral Stationary Phase**. Journal *of Chromatography A*, v. 1218, n. 38, p. 6688–6696, set. 2011.

FANALI, S., HADDAD, P. R., POOLE, C., SCHOENMAKERS, P., LLOYD, D. K. **Liquid Chromatography: Applications**. [s.l.] *Elsevier Science*, 2013.

FEHLBERG, E. **Low-order Classical Runge-Kutta Formulas with Stepsize Control and Their Spplication to Some Heat Transfer Problems**. [Washington]: *National Aeronautics and Space Administration* : For sale by the Clearinghouse for Federal Scientific and Technical Information, Springfield, Va., 1969.

FELINGER, A.; ZHOU, D.; GUIOCHON, G. **Determination of the Single Component and Competitive Adsorption Isotherms of the 1-Indanol Enantiomers by the Inverse Method**. *Journal of Chromatography A*, v. 1005, n. 1-2, p. 35–49, jul. 2003.

FONTE, P. D. P. C. R. DA. **Aplicação do Método de Monte Carlo em Simulações Higrotérmicas de Edifícios**. [s.l.], Dissertação, Universidade do Porto, 2010.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. **Insights into the Modeling of Adsorption Isotherm Systems**. *Chemical Engineering Journal*, v. 156, n. 1, p. 2–10, 1 jan. 2010.

FORNSTEDT, T.; GUIOCHON, G. A. **Comparison Between Experimental and Theoretical Profiles of High Concentration Elution Bands and Large System Peaks in Nonlinear Chromatography**. *Analytical Chemistry*, v. 66, n. 17, p. 2686–2693, set. 1994.

FORSSÉN, P.; FORNSTEDT, T. **A Model Free Method for Estimation of Complicated Adsorption Isotherms in Liquid Chromatography**. *Journal of Chromatography A*, v. 1409, p. 108–115, ago. 2015.

FOWLER, R.; GUGGENHEIM, E. A. **Statistical Thermodynamics. A Version of Statistical Mechanics for Students of Physics and Chemistry**. 2.Impr.,with Corr. Repr. [s.l.] *Cambridge University Press*, 1965.

FRANCOTTE, E. R. **Enantioselective Chromatography as a Powerful Alternative for the Preparation of Drug Enantiomers**. *Journal of Chromatography A*, v. 906, n. 1-2, p. 379–397, jan. 2001.

FU, S., BJÖRKMAN, A., WÅHLIN, B., OFORI-ADJEI, D., ERICSSON, O., SJÖQVIST, F. **In Vitro Activity of Chloroquine, the Two Enantiomers of**

Chloroquine, Desethylchloroquine and Pyronaridine Against Plasmodium falciparum. *British journal of clinical pharmacology*, v. 22, n. 1, p. 93–6, 1986.

GIDDINGS, J. C. **Dynamics of Chromatography: Principles and Theory**. [s.l.] *Taylor & Francis*, 2002.

GILES, C. H., MACEWAN, T. H., NAKHWA, S. N., SMITH, D. **Studies In Adsorption. Part XI. A System Of Classification Of Solution Adsorption Isotherms, And Its Use In Diagnosis Of Adsorption Mechanisms And In Measurement Of Specific Surface Areas Of Solids**. *Journal of the Chemical Society* (Resumed), p. 3973, 1960.

GILES, C. H.; SMITH, D.; HUITSON, A. **A General Treatment and Classification of the Solute Adsorption Isotherm. I. Theoretical**. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 47, n. 3, p. 755–765, jun. 1974.

GOLSHAN-SHIRAZI, S.; GUIOCHON, G. **Solutions of the Equilibrium and Semi-Equilibrium Models of Chromatography**. *Journal of Chromatography A*, v. 506, p. 495–545, maio 1990.

GOOGLE. **Praziquantel - Comprimidos 600 mg - Bayer**., *Google Imagens*. Disponível em: http://images.medscape.com/pi/features/drugdirectory/octupdate/SHC17470.jpg.

GREEN, D.; PERRY, R. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**, Eighth Edition. [s.l.] *McGraw-Hill Education*, 2007.

GRILL, C. M.; MILLER, L.; YAN, T. Q. **Resolution of a Racemic Pharmaceutical Intermediate.** *Journal of Chromatography A*, v. 1026, n. 1-2, p. 101–108, 2004.

GRITTI, F.; GUIOCHON, G. **Critical Contribution of Nonlinear Chromatography to the Understanding of Retention Mechanism in Reversed-Phase Liquid Chromatography**. *Journal of Chromatography A*, v. 1099, n. 1-2, p. 1–42, dez. 2005.

GUIOCHON, G., FELINGER, A., SHIRAZI, D. G., KATTI, A. M. **Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography**. [s.l.] *Elsevier Academic Press*, 2006.

GUIOCHON, G.; LIN, B. **Modeling for Preparative Chromatography**. [s.l.] *Elsevier Academic Press*, 2003.

HAIRER, E.; WANNER, G. **Stiff Differential Equations Solved by Radau Methods**. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, v. 111, n. 1-2, p. 93–111, nov. 1999.

HAMDAOUI, O.; NAFFRECHOUX, E. **Modeling of Adsorption Isotherms of Phenol and Chlorophenols onto Granular Activated Carbon Part I. Two-Parameter Models and Equations Allowing Determination of Thermodynamic Parameters**. *Journal of Hazardous Materials*, v. 147, n. 1-2, p. 381–394, 17 ago. 2007.

HELMY, R.; WANG, T. **Selectivity of Amylose Tris(3,5-Dimethylphenyl-Carbamate) Chiral Stationary Phase as a Function of its Structure Altered by Changing Concentration of Ethanol or 2-Propanol Mobile-Phase Modifier**. *Journal of separation science*, v. 28, n. 2, p. 189–92, 2005.

HILL, T. L. **An Introduction to Statistical Thermodynamics**. [s.l.] *Dover Publications*, 2012.

HINZ, C. **Description of Sorption Data with Isotherm Equations**. *Geoderma*, v. 99, n. 3-4, p. 225–243, fev. 2001.

HOLLAND, J. H. **Adaptation in Natural and Artificial Systems: An Introductory Analysis with Applications to Biology, Control, and Artificial Intelligence**. [s.l.] *MIT Press*, 1992.

IKAI, T.; OKAMOTO, Y. **Preparation and Chiral Recognition of Polysaccharide-Based Selectors**. In: *Chiral Recognition in Separation Methods*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 33–52.

ISRAELACHVILI, J. N. **Intermolecular and Surface Forces**. [s.l.] *Elsevier Science*, 2010.

KASAT, R. B., ZVINEVICH, Y., HILLHOUSE, H. W., THOMSON, K. T., LINDA WANG, N. F., ELIAS, I. **Direct Probing of Sorbent−Solvent Interactions for**

Amylose Tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) Using Infrared Spectroscopy, X-ray Diffraction, Solid-state NMR, and DFT Modeling. *The Journal of Physical Chemistry* B, v. 110, n. 29, p. 14114–14122, jul. 2006.

KENNEDY, J.; EBERHART, R. **Particle Swarm Optimization**. *Proceedings of ICNN'95 - International Conference on Neural Networks*. Anais...IEEE, [s.d.] Disponível em: http://ieeexplore.ieee.org/lpdocs/epic03/wrapper.htm?arnumber=934374.

KIM, J. H., LEE, Y. S., PARK, H., KIM, C. S. **Formation of Pyrazinoisoquinoline ring System by the Tandem Amidoalkylation and N-Acyliminium Ion Cyclization: An Efficient Synthesis of Praziquantel**. *Tetrahedron*, v. 54, n. 26, p. 7395–7400, jun. 1998.

KRAICHNAN, R. H. **Dynamics of Nonlinear Stochastic Systems**. *Journal of Mathematical Physics*, v. 2, n. 1, p. 124, 1961.

LAX, P.; WENDROFF, B. **Systems of Conservation Laws**. *Communications on Pure and Applied Mathematics*, v. 13, n. 2, p. 217–237, 1960.

LESIEUR, M. **Turbulence in Fluids: Stochastic and Numerical Modelling**. [s.l.] *Springer Netherlands*, 2012.

LIM, B.-G.; CHING, C.-B.; TAN, R. B. H. **Determination of Competitive Adsorption Isotherms of Enantiomers on a Dual-Site Adsorbent**. *Separations Technology*, v. 5, n. 4, p. 213–228, nov. 1995.

LIM, S.-A. **Ethambutol-associated Optic Neuropathy**. *Annals of the Academy of Medicine*, Singapore, v. 35, n. 4, p. 274–8, 2006.

LIMA, V. L. E. **Os Fármacos e a Quiralidade: Uma Breve Abordagem**. *Química Nova*, v. 20, n. 6, p. 657–663, dez. 1997.

LIMOUSIN, G., GAUDET, J.P., CHARLET, L., SZENKNECT, S., BARTHÈS, V., KRIMISSA, M. **Sorption Isotherms: A Review on Physical Bases, Modeling and Measurement**. *Applied Geochemistry*, v. 22, n. 2, p. 249–275, fev. 2007.

LIN, B., MA, Z., GOLSHAN-SHIRAZI, S., GUIOCHON, G. **Study of the Representation of Competitive isotherms and of the Intersection Between Adsorption Isotherms**. *Journal of Chromatography A*, v. 475, n. 1, p. 1–11, jan. 1989.

LORENÇO, M. **Solução de Sistemas Equações Algébrico-Diferencias Ordinárias de Índice Superior**. [s.l.] UFRGS, 2002.

LUENBERGER, D. G.; YE, Y. **Linear and Nonlinear Programming**. [s.l.] *Springer International Publishing*, 2015.

MEYER, T., SEKLJIC, H., FUCHS, S., BOTHE, H., SCHOLLMEYER, D., MICULKA, C. **Taste, A New Incentive to Switch to (R)-Praziquantel in Schistosomiasis Treatment.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 3, n. 1, p. e357, 13 jan. 2009.

MILLER, C. A.; NEOGI, P. **Interfacial Phenomena: Equilibrium and Dynamic Effects**, Second Edition. [s.l.] *CRC Press*, 2007.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. **Applied Statistics and Probability for Engineers**. [s.l.] *John Wiley & Sons Incorporated*, 2005.

MORGADO, A. C. **Analise Combinatória e Probabilidade: com as Soluções dos Exercícios**. [s.l.] *SBM*, 2006.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Organic Chemistry**. [s.l.] *Pearson*, 2010.

MUNSON, B. R., YOUNG, D. F., OKIISHI, T. H., HUEBSCH, W. W. **Fundamentals of Fluid Mechanics**. [s.l.] *Wiley*, 2009.

NICOUD, R.-M., FUCHS, G., ADAM, P., BAILLY, M., KASTERS, E., ANTIA, F. D., REUILLE, R., SCHMID, E. **Preparative Scale Enantioseparation of a Chiral Epoxide: Comparison of Liquid Chromatography and Simulated Moving Bed Adsorption Technology**. *Chirality*, v. 5, n. 4, p. 267–271, 1993.

PEPER, S., LÜBBERT, M., JOHANNSEN, M., BRUNNER, G.. **Separation of Ibuprofen Enantiomers by Supercritical Fluid Simulated Moving Bed**

Chromatography. *Separation Science and Technology*, v. 37, n. 11, p. 2545–2566, 24 jul. 2002.

PHENOMENEX. **Lux HPLC Information**. Disponível em: http://www.phenomenex.com/Products/HPLCDetail/lux. Acesso em: 27 de agosto de 2015a.

PHENOMENEX. HPLC - **Column Protection Guide**. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/23a96682-ddc9-44f2-baeb-1d7b502ddae9.pdf. Acesso em: 2 de março de 2015b.

PHENOMENEX. **Application Note - Praziquantel**. Disponível em: http://www.phenomenex.com/Application/Search?FreeText=lux cellulose-2&cookie=false. Acesso em: 27 de agosto de 2015c.

POPLEWSKA, I.; ANTOS, D. **Effect of Adsorption of Organic Solvents on the Band Profiles in Reversed-Phase Non-Linear Chromatography**. *Chemical Engineering Science*, v. 60, n. 5, p. 1411–1427, mar. 2005.

POPLEWSKA, I.; PIĄTKOWSKI, W.; ANTOS, D. **Effect of Temperature on Competitive Adsorption of the Solute and the Organic Solvent in Reversed-Phase Liquid Chromatography**. *Journal of Chromatography A*, v. 1103, n. 2, p. 284–295, jan. 2006.

RAO, S. **Engineering Optimization Theory and Practice**. [s.l.] *New Age International (P) Limited Publishers*, 2007.

REKOSKE, J. E. **Chiral Separations**. *AIChE Journal*, v. 47, n. 1, p. 2–5, jan. 2001.

ROSZKOWSKI, P.; MAURIN, J. K.; CZARNOCKI, Z. **Enantioselective Synthesis of (R)-(−)-Praziquantel (PZQ)**. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 17, n. 9, p. 1415–1419, maio 2006.

ROUQUEROL, J., ROUQUEROL, F., LLEWELLYN, P., MAURIN, G., SING, K S W. **Adsorption by Powders and Porous Solids: Principles, Methodology and Applications**. [s.l.] *Elsevier Science*, 2013.

RUTHVEN, D. M. **Principles of Adsorption and Adsorption Processes**. [s.l.] *Wiley*, 1984.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças Negligenciadas: Estratégias do Ministério da Saúde**. *Rev. Saúde Pública*, 2010.

SCHMIDT-TRAUB, H; SCHULTE, M; SEIDEL-MORGENSTERN, A. **Preparative Chromatography**. [s.l.] *Wiley-VCH*, 2013.

SCHWAAB, M.; PINTO, J. C. **Análise de Dados Experimentais: I. Fundamentos de Estatística e Estimação de Parâmetros**. [s.l.] *E-Papers*, [s.d.].

SECCHI, A. R. **DASSLC**. Disponível em: http://www.enq.ufrgs.br/enqlib/numeric/. 1992

SEIDEL-MORGENSTERN, A.; GUIOCHON, G. **Modelling of the Competitive Isotherms and the Chromatographic Separation of Two Enantiomers**. *Chemical Engineering Science*, v. 48, n. 15, p. 2787–2797, ago. 1993.

SILVA JR., I. J. DA; BARRETO JR., A. G.; SANTANA, C. C. **Separação Cromatográfica Quiral de Anestésicos a Partir de Soluções Diluídas e Concentradas em Escala Preparativa**. *Química Nova*, v. 32, n. 2, p. 359–364, 2009.

SILVA JUNIOR, A. C. **Separação Cromatográfica do o,p'–Diclorodifenildicloroetano (Mitotano) em Fase Estacionária Quiral Tris-3-Cloro-4- Metilfenilcarbamato de Celulose e Tris-3,5 Dimetilfenilcarbamato de Amilose**. [s.l.]. Tese de doutorado, UNICAMP, 2010.

SILVA, K. E. R., SILVA, R. M., COSTA, S. P. M., ROLIM, L. A., LIMA, M. D. C. A., ROLIM-NETO, P. J. **Alternativas Terapêuticas no Combate à Esquistossomose Mansônica**. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 33, n. 1, 2012.

SINGH, R. P.; HELDMAN, D. R. **Introduction to Food Engineering**. [s.l.] *Elsevier Science*, 2013.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic Chemistry**. 10. ed. [s.l.] *John Wiley & Sons*, 2005.

SOUZA, M.; DINIZ-EHRHARDTZ, M. A. **Quadrados Mínimos não Lineares e Aplicações em Deformação de Objetos 2D**. 2010.

SOUZA, W. **Doenças Negligenciadas**. *Ac. Br. Ciências*,2010.

SPALL, J. C. **Introduction to Stochastic Search and Optimization: Estimation, Simulation, and Control**. [s.l.] *Wiley*, 2003.

SUBRAMANIAN, G. **Chiral Separation Techniques**. [s.l.] *Wiley-VCH*, 2001.

SUZUKI, M. **Adsorption Engineering**. [s.l.] *Kodansha*, 1990.

TOTH, J. **Adsorption**. [s.l.] *Taylor & Francis*, 2002.

TÓTH, J. **On thermodynamical Inconsistency of Isotherm Equations: Gibbs's Thermodynamics**. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 262, n. 1, p. 25–31, jun. 2003.

VASCONCELOS, B. F. **Avaliação do Equilíbrio de Adsorção e Projeto de Condições de Separação de Praziquantel por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**., 74 p., Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará - UFC, 2013.

VILLADSEN, J.; MICHELSEN, M. L. **Solution of Differential Equation Models by Polynomial Approximation**. [s.l.] *Prentice-Hall*, 1978.

VITORINO, R. R., SOUZA, F. P. C., COSTA, A. P., JÚNIOR, F. C. F., SANTANA, L. A.; GOMES, A. P. **Esquistossomose Mansônica: Diagnóstico, Tratamento, Epidemiologia, Profilaxia e Controle**. *Rev. Bras. Clin. Med*., v. 10, n. 1, 2012.

WANG, T.; WENSLOW, R. M. **Effects of Alcohol Mobile-Phase Modifiers on the Structure and Chiral Selectivity of Amylose Tris(3,5-Dimethylphenylcarbamate) Chiral Stationary Phase**. *Journal of Chromatography A*, v. 1015, n. 1-2, p. 99–110, 2003.

WERNECK, G. L.; HASSELMANN, M. H.; GOUVÊA, T. G. **Panorama dos Estudos sobre Nutrição e Doenças Negligenciadas no Brasil**. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 16, n. 1, p. 39–62, jan. 2011.

WESTON, A.; BROWN, P. R. **HPLC and CE: Principles and Practices**. [s.l.] *Academic Press*, 1997.

WHO/TDR. **Drug Development and Evaluation for Helminths and Other Neglected Tropical Diseases**. TDR Official Report, 2010.

WHO., **Working to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases** Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44440/1/9789241564090_eng.pdf. Acesso em 2 de março 2015.

WOELFLE, M., SEERDEN, J.-P., GOOIJER, J., POUWER, K., OLLIARO, P., TODD, M. H. **Resolution of Praziquantel**. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 5, n. 9, p. e1260, 20 set. 2011.

YANG, X. S. **Engineering Optimization: An Introduction with Metaheuristic Applications**. [s.l.] *Wiley*, 2010.

ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. **Chirality and the Nature of Food Authenticity of Aroma**. *ACTA Sci Pol. Technologia Alimentaria*, n. 5, 2006.

ZHANG, W.; SHAN, Y.; SEIDEL-MORGENSTERN, A. **Breakthrough Curves and Elution Profiles of Single Solutes in Case of Adsorption Isotherms with Two Inflection Points**. *Journal of Chromatography A*, v. 1107, n. 1-2, p. 216–225, fev. 2006.

ZHANG, Y.; ROHANI, S.; RAY, A. K. **Numerical Determination of Competitive Adsorption Isotherm of Mandelic Acid Enantiomers on Cellulose-based Chiral Stationary Phase**. *Journal of Chromatography A*, v. 1202, n. 1, p. 34–39, ago. 2008.

ZHOU, D.; KACZMARSKI, K.; GUIOCHON, G. **Comparison of the Binary Equilibrium Isotherms of the 1-Indanol Enantiomers on Three High-Performance Liquid Chromatography Columns of Different Sizes**. *Journal of Chromatography A*, v. 1015, n. 1-2, p. 73–87, out. 2003.

ANEXO A

A.1 Estruturação dos algoritmos computacionais para estimação de parâmetros

Na **Figura A.1**, é ilustrada a forma como as referidas sub-rotinas do programa *ESTIMA* estão relacionadas dentro do processo de resolução do problema.

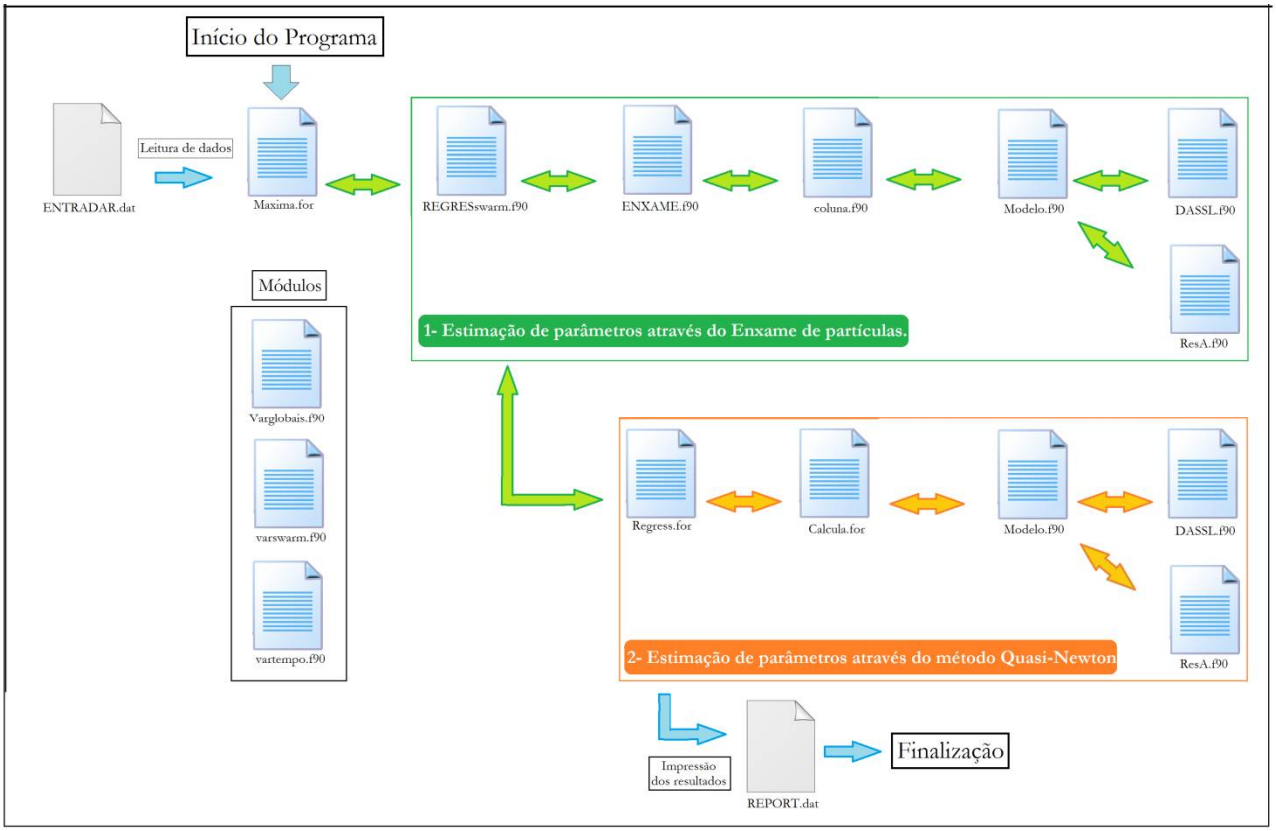


Figura A.1: Organização dos algoritmos computacionais para resolução do problema de estimação de parâmetros.

O programa *ESTIMA* é iniciado pelo arquivo *MAXIMA.for*, o qual realiza, primeiramente, a leitura dos dados fornecidos no arquivo *ENTRADAR.dat*.

Em seguida, o programa inicia a execução das rotinas que compreendem o processo de estimação de parâmetros utilizando-se o método de Enxame de partículas.

O arquivo *REGRESSWARM.f90* contém o código que gera variáveis e informações, como o número de partículas, número de iterações, entre outras, necessárias para a implementação do algoritmo que realiza a busca dos parâmetros por meio do enxame de partículas.

O arquivo *ENXAME.f90* contém a rotina *ENXAME*, a qual é acionada pela rotina *REGRESSwarm* (*REGRESSWARM.f90*). Esse código executa o procedimento de busca dos parâmetros do modelo. No primeiro passo, as partículas são "espalhadas" aleatoriamente sobre o espaço de busca, em seguida o programa executa rotinas relacionadas ao cômputo das posições e velocidades de cada partícula e avaliação dos valores ótimos globais e individuais. A rotina contida no arquivo *COLUNA.f90* é acionada para a chamada do modelo da coluna cromatográfica e para o cálculo do valor da função objetivo (função de máxima verossimilhança).

A rotina *COLUNA* (*COLUNA.f90*), solicitada diversas vezes pelo código, aciona a rotina contida no arquivo *MODELO.f90*, que contém as variáveis e dados relacionados às propriedades da coluna cromatográfica e dos adsorbatos, cujo comportamento se deseja calcular.

Como o modelo implementado constitui um sistema de equações algébrico-diferenciais é necessária uma rotina para a realização da resolução numérica das equações. A rotina utilizada é a contida no arquivo *DASSL.for*. O algoritmo *MODELO* solicita a *DDASSL* (*DASSL.for*) fornecendo como argumento a sub-rotina *RESA.f90*, a qual possui o código que descreve os balanços de massa da coluna, assim como os modelos de isotermas de adsorção.

Uma vez findada as etapas de busca dos parâmetros por meio do enxame de partículas, o programa *MAXIMA* solicita a rotina *REGRESS*, para a execução do método de Gauss-Newton, o qual realiza uma busca precisa pelo valor dos parâmetros, partindo dos valores ótimos encontrados durante a execução da rotina *REGRESSWARM*.

O código contido no arquivo *REGRESS.for* possui os procedimentos numéricos para a implementação do método Gauss-Newton, como rotinas para controle de convergência do método e controle de passo. Esse código utiliza sub-rotinas escritas

no arquivo *CALCULA* necessárias para o cálculo de derivadas numéricas em relação aos parâmetros, inversão de matrizes, entre outros.

A sub-rotina *MODELO* é solicitada nos códigos contidos no arquivo *CALCULA*, para que o cômputo dos perfis cromatográficos seja executado. A partir desse ponto, o código segue de forma semelhante àquela desenvolvida durante a execução da busca por meio do enxame de partículas.

Quando verificada a convergência do método de Gauss-Newton, o programa *MAXIMA* finaliza o procedimento computacional com a avaliação estatística dos parâmetros estimados, computando desvios-padrão relacionados aos parâmetros e aos perfis de resposta preditos (cromatogramas), matrizes de covariância e correlação. Os resultados são impressos no arquivo *REPORT.dat*.

O programa *ESTIMA* também utiliza os módulos *VARGLOBAIS.f90*, *VARSWARM.f90* e *VARTEMPO.f90* durante sua execução. Tais módulos possuem códigos para declaração de diversas variáveis utilizadas durante a implementação do procedimento computacional.

A.2 ORGANIZAÇÃO DOS DADOS PARA O ARQUIVO *ENTRADAR.DAT*

Um exemplo da disposição dos dados a serem alimentados ao programa ESTIMA, por meio do arquivo *ENTRADAR.DAT*, é apresentado a seguir.

Supõe-se, para efeito de exemplificação, que o modelo da isoterma tenha a forma apresentada na **Eq. A.2**. Na qual, *Q* e *b* são os parâmetros do modelo a serem estimados.

$$q_i = \frac{Q.b.C_i}{1+ b.C_i} \qquad \textbf{(A.2)}$$

Os dados são apresentados acompanhados de comentários (informações após o símbolo ! (exclamação)), indicando suas funções dentro do código.

```
3,7,2                !Número de variáveis de entrada (varvent), número de variáveis de saída (varsai), número de
                                                                                                  parâmetros (npar)
5                    !Número de experimentos

100.0                !Chute inicial para o parâmetro Q
0.0897               !Chute inicial para o parâmetro b

 2                    !indicador de erros nas vars de entrada - se há erros nas vars de entrada, indicador = 1; se não há
                                                                                  erros nas vars de entrada, indicador = 2

50.0    , 1000.0     !faixas de busca para o parâmetro Q
1.0D-5 , 1.0D0       !faixa de busca para o parâmetro b

 100                 !número máximo de iterações - Método de Gauss-Newton
 1.5                 !parâmetro 1 de Bailey - Não Alterar!
 0.25                !parâmetro 2 de Bailey - Não Alterar!
 1.d-8               !tolerância para a função objetivo
 1.d-4               !perturbação para o cálculo das derivadas do parâmetro Q
 1.d-4             !perturbação para o cálculo das derivadas do parâmetro b

!Valores das Variáveis de Entrada - Concentração de alimentação, volume de injeção e vazão.

1.00E+00  5.00E+00  10.00E+00  15.00E+00  20.00E+00
2.00E-01  2.00E-01   2.00E-01   2.00E-01   2.00E-01
2.00E+00  2.00E+00   2.00E+00   2.00E+00   2.00E+00

!Valores para as variáveis de saída (experimentais) - Disposição: (Média)  (erro = variância)

0.089  1.000     0.067  1.000     0.124  1.000     0.57  1.000     0.782  1.000
0.058  1.000     0.078  0.001     0.184  1.000     0.98  1.000     0.892  1.000
0.047  1.000     0.065  0.060     0.187  1.000     0.47  0.470     0.992  1.000
0.046  0.040     0.147  0.070     0.254  1.000     0.24  0.002     1.252  1.000
0.035  0.002     0.854  0.008     0.358  1.000     0.47  0.001     1.412  1.000
0.147  0.004     1.987  0.045     0.478  1.000     0.87  0.056     1.488  1.000
0.251  0.003     2.250  0.070     0.425  1.000     0.69  0.070     3.580  1.000
```

No exemplo anterior, o algoritmo busca os valores para os parâmetros *Q* e *b* nas faixas de 50,0 a 1000,0 e 1,0E-05 a 1,0 respectivamente.

Supõe-se que 5 experimentos foram realizados, assim são fornecidos os valores experimentais das variáveis de entrada (Concentração na alimentação, volume de injeção e vazão de eluente), consideradas sem erros experimentais.

Para cada um dos 5 experimentos, foram coletados 7 valores médios, correspondentes às variáveis de saída. Tais valores de saída são utilizados pelo estimador como valor experimental a ser confrontado com os valores calculados no cômputo da função objetivo. Os valores das variáveis de saída, para cada experimento, são fornecidos como um par de colunas correspondentes ao valor médio e seu respectivo erro experimental na forma de uma variância.

O programa executará 100 iterações ao acionar o método de Gauss-Newton. As derivadas numéricas em relação à cada parâmetro (*Q e b*) são calculadas mediante o valor da perturbação fornecido pelo arquivo, no caso 1,0E-4.

No ocasião da existência de erros experimentais nas variáveis de entrada, o flag de sinalização deverá ser alterado para o valor 1 e os dados das referidas variáveis serão fornecidos como um par de colunas, valor médio e variância, de forma semelhante à descrita para as variáveis de saída.

Os chutes iniciais fornecidos neste arquivo só são utilizados pelo procedimento de estimação quando se transpassa o algoritmo de enxame de partículas (rotina *RegresSwarm* do *ESTIMA*). Neste caso, os chutes iniciais são alimentados ao algoritmo de Gauss-Newton diretamente.

Reforça-se que todos os dados devem ser fornecidos na forma exemplificada anteriormente. Caso a ordem de inserção dos dados seja alterada, o algoritmo retornará erros durante sua execução.

ANEXO B

B.1 DADOS DE TEMPOS MORTOS E DETERMINAÇÃO DE POROSIDADE

Os valores dos tempos de retenção do TTBB, obtidos por meio de injeções de 20,0 µL de solução a 1,0 g/L, são apresentados na **Tabela B.1**.

Tabela B.1: Tempos de retenção das amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Tempos de retenção (TTBB)					
Vazão (mL/min)	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
média	6,495[a]	3,243[b]	1,627[c]	1,095[d]	0,827[e]	0,660[f]
desvio-padrão	0,003	0,006	0,001	0,004	0,001	0,001
CV%	0,054	0,200	0,031	0,320	0,060	0,076
±IC(95%)	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004

A **Figura B.1** exibe os resíduos experimentais plotados contra os valores normais esperados. O p-level do teste de Shapiro-Wilk foi de 0,00002 e inferior ao nível de significância (α = 0,05).

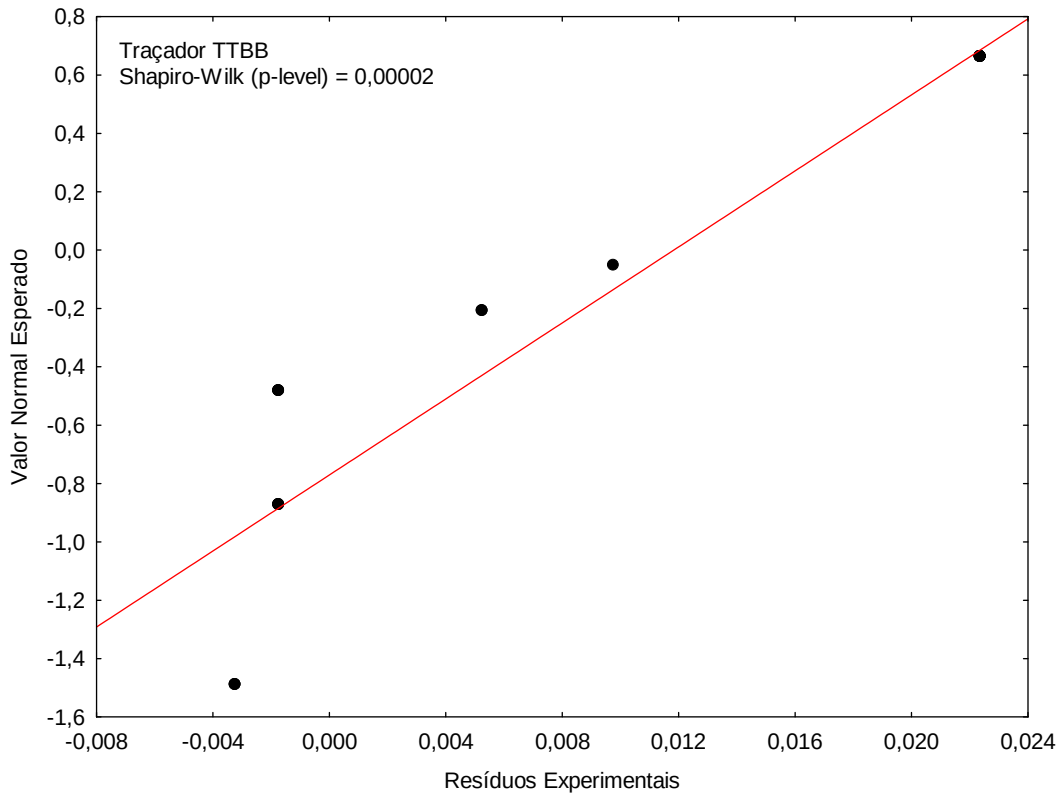


Figura B.1: Resíduos experimentais (tempo de retenção do traçador - TTBB) plotados contra valores normais esperados.

Na **Tabela B.2** são apresentados os resultados para a ANOVA dos dados de tempos mortos.

Tabela B.2: Resultados para a ANOVA dos dados de tempos de retenção do TTBB (α = 0,05).

	Soma Quadrática	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Vazões	100,9878	5	20,19756	1815511	0,0000
erro	0,0002	18	0,00001		
total	100,9880	23			

O teste de Tukey foi aplicado às médias dos tempos de retenção do TTBB. O valor de MDS (mínima diferença significativa) foi de 0,0093. As diferenças entre as médias dos tempos de retenção são apresentadas na **Tabela B.3**.

Tabela B.3: Diferença entre médias de tempos de retenção de amostras de TTBB. Para n= 4 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 0,0093.

Vazões de etanol (mL/min)	*0,5*	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*
0,5		3,25	4,87	5,40	5,67	5,83
1	-3,25		1,62	2,15	2,42	2,58
2	-4,87	-1,62		0,53	0,80	0,97
3	-5,40	-2,15	-0,53		0,27	0,43
4	-5,67	-2,42	-0,80	-0,27		0,17
5	-5,83	-2,58	-0,97	-0,43	-0,17	

Na **Tabela B.4** são apresentados os resultados para os testes estatísticos de avaliação da qualidade do ajuste aos dados experimentais.

Tabela B.4: Resultados para o teste chi^2 e coeficiente de correlação, calculados para avaliação do ajuste do modelo referente aos tempos de retenção do traçador.

Resultados - Qualidade do Ajuste do modelo	
Nº pontos experimentais	25
Nº parâmetros	1
Graus de Liberdade	24
F_{obj}	13,26
Probabilidade	95%
χ^2 *inferior*	12,40
χ^2 *superior*	39,36
ρ_{corr}	0,999

B.2 CROMATOGRAMAS - INJEÇÃO DE TRAÇADOR TTBB EM ALTAS CONCENTRAÇÕES

Na **Figura B.2** são apresentados os cromatogramas referentes à injeção de amostras de TTBB em altas concentrações (200,0 µL a 2,0 g/L). Os valores dos tempos de retenção do traçador são apresentados na **Tabela B.2**, acompanhados de seus descritores estatísticos.

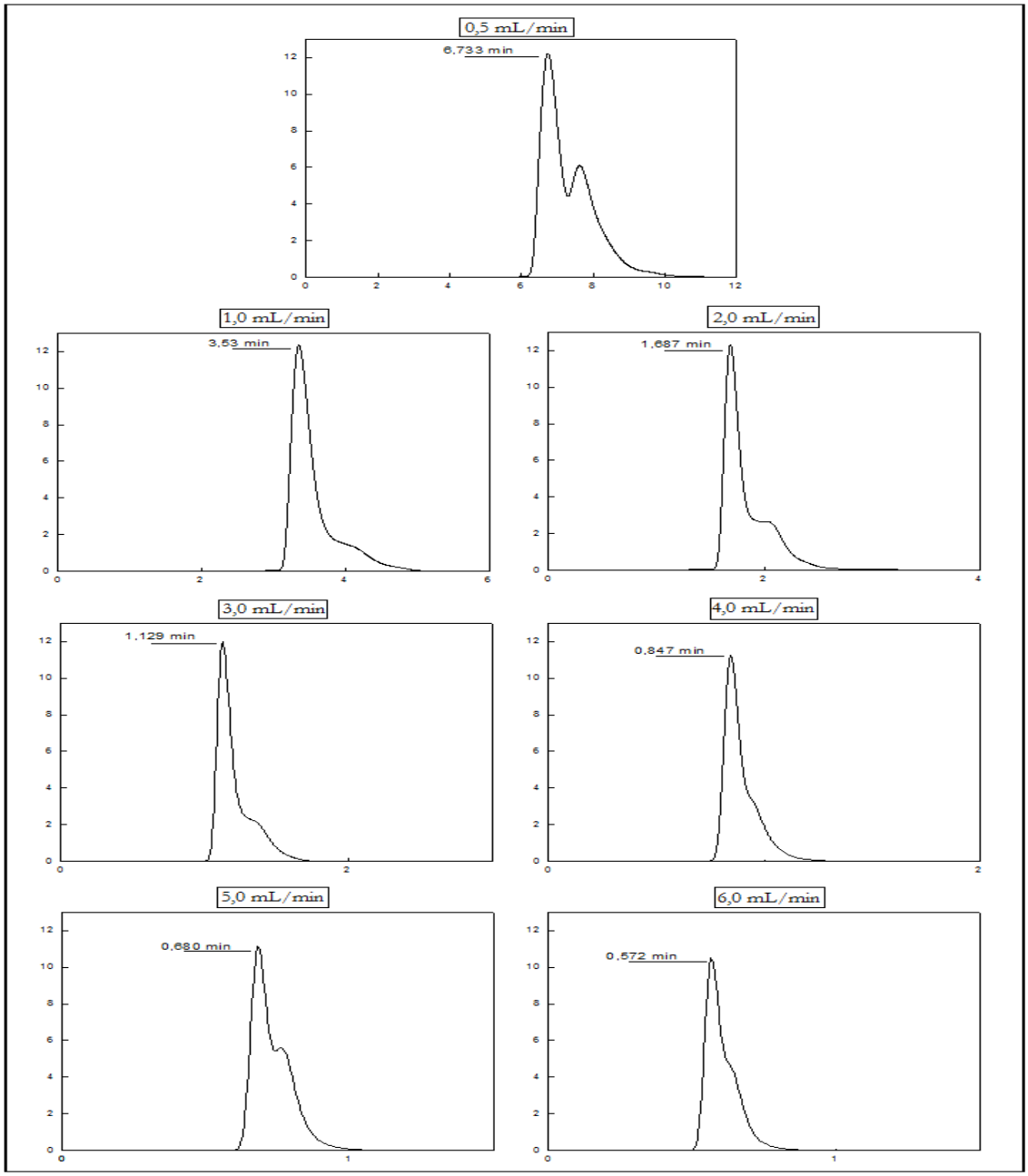


Figura B.2: Perfis de concentração de amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol. O eixo vertical corresponde à resposta do detector (mAU) e o eixo horizontal corresponde ao tempo (min).

Tabela B.5: Tempos de retenção das amostras de TTBB (solução 2,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado) em diferentes vazões de etanol.*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Vazão (mL/min)						
Tempos de retenção (TTBB)	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
média	6,733[a]	3,353[b]	1,687[c]	1,129[d]	0,847[e]	0,680[f]	0,572[g]
desvio-padrão	0,007	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001	0,010
*CV%***	0,097	0,030	0,059	0,307	0,118	0,147	1,748
*±IC(95%)****	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006

O valor estimado da porosidade total, utilizando-se os dados anteriores, foi de 0,81. Sendo bastante próximo do valor encontrado por meio dos dados obtidos em baixas concentrações (0,78).

B.3 DADOS DE NÚMERO DE PRATOS - DETERMINAÇÃO DA CURVA DE HETP

Nas **Tabelas B.6 e B.7** são apresentados os valores médios do número de pratos teóricos, relacionados aos Picos 1 e 2, acompanhados de sua respectiva dispersão estatística.

Tabela B.6: Número de pratos teóricos para o primeiro componente separado (Pico 1) em função de diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). * Valor inferior à 1%. ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Vazão de etanol (mL/min)					
Número de Pratos - Pico 1	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
média	1124^{a}	664^{b}	489^{c}	390^{d}	333^{e}	288^{f}
desvio-padrão	3	1	4	3	4	2
*CV%***	0,3	0,2	0,8	0,8	1,1	0,5
*±IC(95%)****	7	4	6	7	6	4

Tabela B.7: Número de pratos teóricos para o segundo componente separado (Pico 2) em função diferentes vazões de etanol. Solução 1,0 g/L, 200,0 µL - volume injetado).*Letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Vazão de etanol (mL/min)					
Número de Pratos - Pico 1	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
média	910^{a}	506^{b}	360^{c}	285^{d}	242^{e}	209^{f}
desvio-padrão	6	8	3	3	3	2
*CV%***	0,6	1,5	0,7	1,1	1,3	0,7
*±IC(95%)****	14	19	4	7	5	4

Os resíduos experimentais e os valores normais esperados foram plotados para análise da normalidade e são apresentados nas **Figuras B.3 e B.4**. O teste de Shapiro-Wilk resultou nos valores 0,519 e 0,985, o que indica que os resíduos experimentais possuem uma distribuição tendendo à normal.

Nas **Tabelas B.8 e B.9** são demonstrados os resultados para a ANOVA.

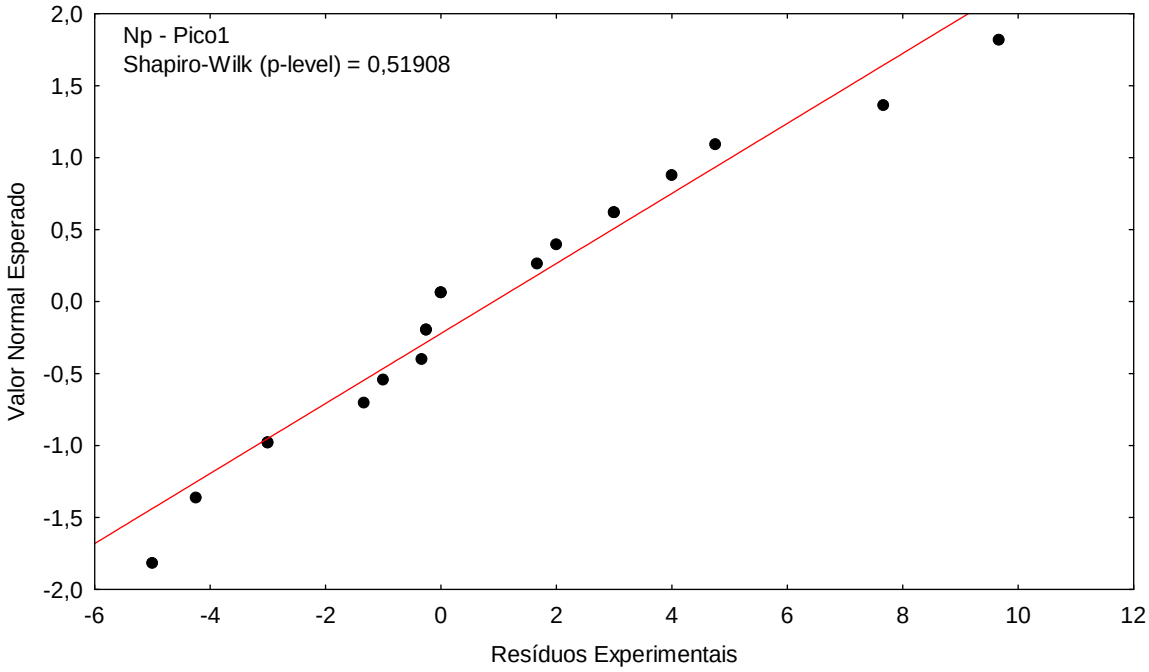


Figura B.3: Resíduos experimentais (Número de pratos teóricos (N_{pt}) - Pico 1) plotados contra valores normais esperados.

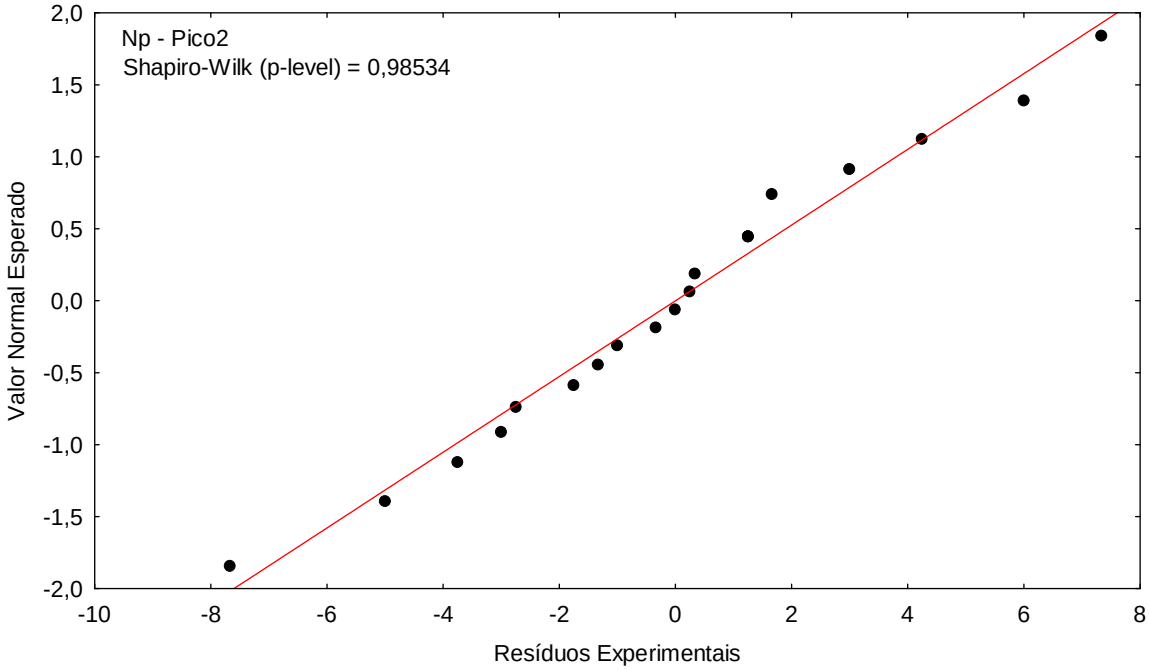


Figura B.4: Resíduos experimentais (Número de pratos teóricos (N_{pt}) - Pico 2) plotados contra valores normais esperados.

A Análise da Variância revelou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os dados experimentais (*p-level* < 0,05). Dessa forma prosseguiu-se com o teste de médias para identificação das diferenças observadas.

Tabela B.8: Resultados para a ANOVA dos dados referentes ao número de pratos teóricos para o Pico1. (α = 0,05).

Pico 1	*Soma Quadrática*	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Vazões	1491619,0	5	298323,8	29966,8	0,0
erro	129,4	13	10,0		
total	1491748,42	18			

Tabela B.9: Resultados para a ANOVA dos dados referentes ao número de pratos teóricos para o Pico2. (α = 0,05).

Pico 2	*Soma Quadrática*	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Vazões	1068601,2	5	213720,2	12220,9	0,0
erro	244,8	14	17,5		
total	1068846,0	19			

O teste de médias de Tukey revelou que todas as médias são estatisticamente distintas entre si ao nível de 5% de confiança.

Tabela B.10: Diferença entre médias de número de pratos teóricos para o primeiro componente separado (Pico 1). Para n= 3 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 17,24.

Vazão de etanol (mL/min) - Pico 1	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
1,0		460	635	734	791	836
2,0	-460		175	274	331	376
3,0	-635	-175		99	156	201
4,0	-734	-274	-99		57	102
5,0	-791	-331	-156	-57		45
6,0	-836	-376	-201	-102	-45	

Tabela B.11: Diferença entre médias de número de pratos teóricos para o segundo componente separado (Pico 2). Para n= 3 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 17,24.

Vazão de etanol (mL/min) - Pico 2	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
1,0		404	550	625	668	701
2,0	-404		146	221	264	298
3,0	-550	-146		75	118	152
4,0	-625	-221	-75		43	76
5,0	-668	-264	-118	-43		34
6,0	-701	-298	-152	-76	-34	

B.4 DETALHAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS PARA CALIBRAÇÃO DO DETECTOR

Os dados utilizados para a calibração do detector são demonstrados na **Tabela B.12**, acompanhados de sua respectiva análise estatística.

Tabela B.12: Valores de Absorvância registrados pelo detector para cada concentração testada. Volume injetado de 200,0 µL.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança.

	Absorvância (mAU)			
Concentração de PZQ (R+S) (g/L)	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC$_{(95\%)}$****
0,01	75^{i}	2	2,24	3
0,11	400^{h}	3	0,81	5
0,30	1106^{g}	9	0,81	22
0,50	1625^{f}	1	0,03	5
0,80	2557^{e}	3	0,12	5
1,26	3248^{d}	1	0,02	1
1,80	3629^{c}	16	0,45	26
2,52	4169^{b}	23	0,55	37
3,70	5000^{a}	0,02	3,28E-04	0,04

O teste de Shapiro-Wilk revelou que os resíduos experimentais possuem um comportamento tendendo à distribuição normal, conforme demonstrado no gráfico da **Figura B.5**.

A análise da variância (**Tabela B.13**) evidenciou a presença de médias estatisticamente diferentes (α = 0,05), as quais foram identificadas por meio do teste de Tukey (**Tabela B.14**). Determinou-se que todas as médias são distintas entre si ao nível de significância selecionado.

Tabela B.13: Resultados para a ANOVA dos dados referentes à absorvância registrada pelo detector frente as várias concentrações testadas. (α = 0,05).

	Soma Quadrática	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Concentração	86104051,2	8	10763006,4	1236459,2	0,00
erro	200,2	23	8,7		
total	86104251,5	31	10763015,1		

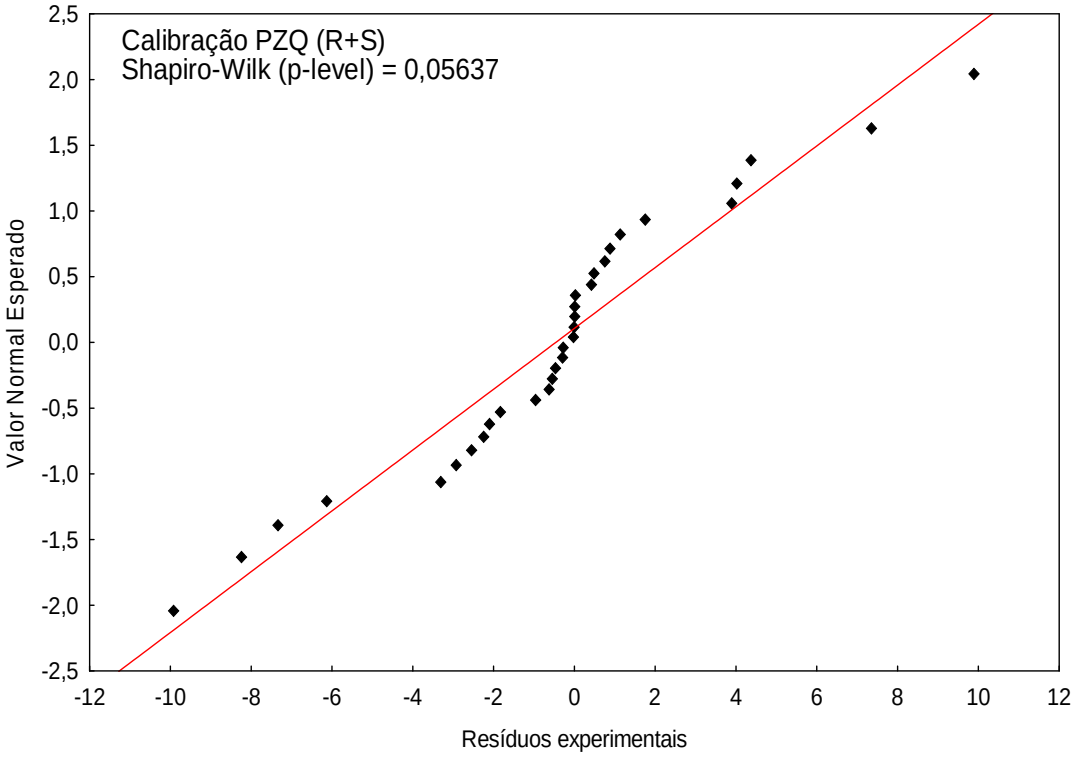


Figura B.5: Resíduos experimentais calculados para os dados de absorvância (mAU) plotados contra valores normais esperados.

Nas **Tabelas B.15 e B.16** são apresentadas as matrizes de covariância e correlação, respectivamente, entre os parâmetros do modelo de ajuste, utilizado no procedimento de calibração.

Tabela B.14: Diferença entre médias de absorvâncias para diferentes valores de concentração de PZQ (R + S). Para n= 3 e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 8,27.

Concentração de PZQ (R+S) (g/L)	*0,01*	*0,11*	*0,30*	*0,50*	*0,80*	*1,26*	*1,80*	*2,52*	*3,70*
0,01		-324	-1030	-1550	-2481	-3173	-3554	-4094	-4925
0,11	324		-706	-1226	-2157	-2849	-3230	-3770	-4600
0,30	1030	706		-520	-1451	-2143	-2524	-3064	-3895
0,50	1550	1226	520		-932	-1623	-2004	-2544	-3375
0,80	2481	2157	1451	932		-691	-1073	-1612	-2443
1,26	3173	2849	2143	1623	691		-381	-921	-1752
1,80	3554	3230	2524	2004	1073	381		-540	-1371
2,52	4094	3770	3064	2544	1612	921	540		-831
3,70	4925	4600	3895	3375	2443	1752	1371	831	

Tabela B.15: Matriz de covariâncias entre os parâmetros do modelo de ajuste utilizado para a elaboração da curva de calibração do detector.

Vα	*A*	*B*
A	2,39	4,79E-04
B	4,79E-04	9,57E-08

Tabela B.16: Matriz de correlação entre os parâmetros do modelo de ajuste utilizado para a elaboração da curva de calibração do detector.

ρ_α	A	B
A	1,000000	0,999956
B	0,999956	1,000000

Os parâmetros A e B apresentaram-se bastante correlacionados, indicando que alterações no valor de um dos parâmetros podem ser compensadas por alterações no valor do outro parâmetro. Embora tal situação seja indesejável, a mesma não invalida a adequação do modelo para o objetivo proposto.

Na **Tabela B.17** são apresentados os valores preditos da absorvância, calculados pelo modelo, assim como sua dispersão estatística estimada.

Tabela B.17: Valores de absorvância preditos pelo modelo de ajuste e sua respectiva dispersão estatística.* Intervalo de Confiança.

Concentração PZQ (R+S) (g/L)	*Absorvância (predito)*	*desvio-padrão*	*IC(95%)**
0,1127	466	3	7
0,503	1695,3	0,4	0,7
1,2555	3123	1	1
2,5219	4353	23	47
3,7721	5000,0939	0,0001	0,0002
0,0172	75	2	3
0,3262	1199	9	18
0,8232	2410	3	6
1,8232	3786	16	33

B.5 TEMPOS DE RETENÇÃO DOS COMPONENTES PARA MISTURA RACÊMICA

Nas **Tabelas B.18 e B.19** são apresentados tempos de retenção da frente de massa, assim como os desvios-padrão, coeficientes de variação e intervalos de confiança estimados.

Tabela B.18: Tempos para retenção da frente de massa para o Pico 1.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

Tempo de retenção da frente de massa (min)				
Concentração (g/L) - Pico 1	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC$_{(95\%)}$****
1	4,75[a]	0,02	0,42	0,03
5	4,51[b]	0,04	0,91	0,07
10	4,33[c]	0,01	0,23	0,02
15	4,22[d]	0,01	0,14	0,01
20	4,31[c]	0,03	0,60	0,02
25	4,28[c]	0,02	0,56	0,04
27	4,20[d]	0,01	0,26	0,02
30	4,18[d]	0,02	0,43	0,02
33	4,05[e]	0,07	1,75	0,17
35	4,07[e]	0,01	0,32	0,02
37	3,93[f]	0,02	0,52	0,03
40	3,92[f]	0,01	0,24	0,02

Tabela B.19: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

Tempo de retenção da frente de massa *(min)*				
Concentração (g/L) - Pico 2	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC$_{(95\%)}$****
1	7,34[a]	0,03	0,45	0,05
5	6,75[b]	0,04	0,59	0,06
10	6,41[c]	0,01	0,12	0,02
15	6,20[d]	0,01	0,16	0,02
20	6,38[c]	0,04	0,60	0,03
25	6,35[c]	0,05	0,72	0,07
27	6,19[d]	0,02	0,36	0,04
30	6,15[d]	0,02	0,39	0,03
33	5,90[e]	0,01	0,18	0,03
35	5,94[e]	0,02	0,33	0,02
37	5,68[f]	0,02	0,35	0,03
40	5,66[f]	0,01	0,18	0,02

Os resultados da análise da variância são apresentados nas **Tabelas B.20 e B.21**. A análise revelou a existência de diferenças significativas entre as médias dos tempos de retenção que foram identificadas por meio do teste de Tukey.

Tabela B.20: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 1. (α = 0,05).

Pico 1	*Soma Quadrática*	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Concentração	2,4520	11	0,2229	541	0,00
erro	0,0148	36	0,0004		
total	2,4668	47	0,2233		

Tabela B.21: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 2. (α = 0,05).

Pico 2	*Soma Quadrática*	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Concentração	9,588	11	0,872	1004	0,00
erro	0,030	35	0,001		
total	9,6187	46	0,8725		

A análise estatística foi validada por meio da verificação da normalidade dos resíduos experimentais. O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado e mostrou que os resíduos tendem à uma distribuição normal, conforme se observa nos gráficos apresentados nas **Figuras B.6 e B.7**.

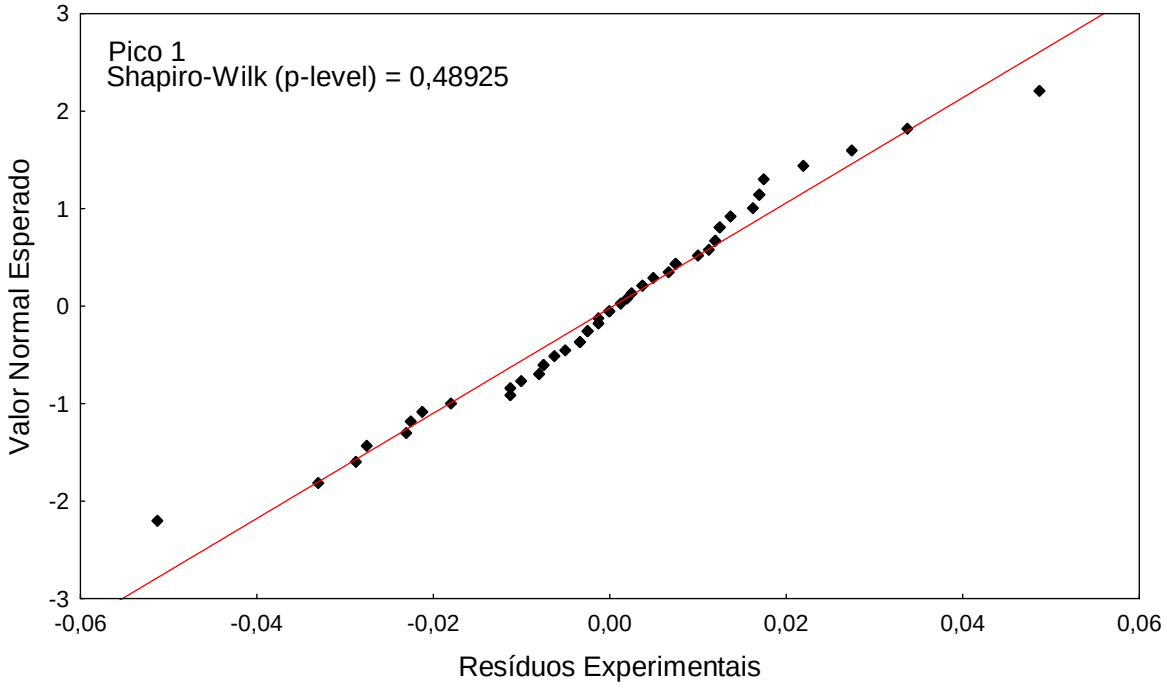


Figura B.6: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa (Pico 1) plotados contra valores normais esperados.

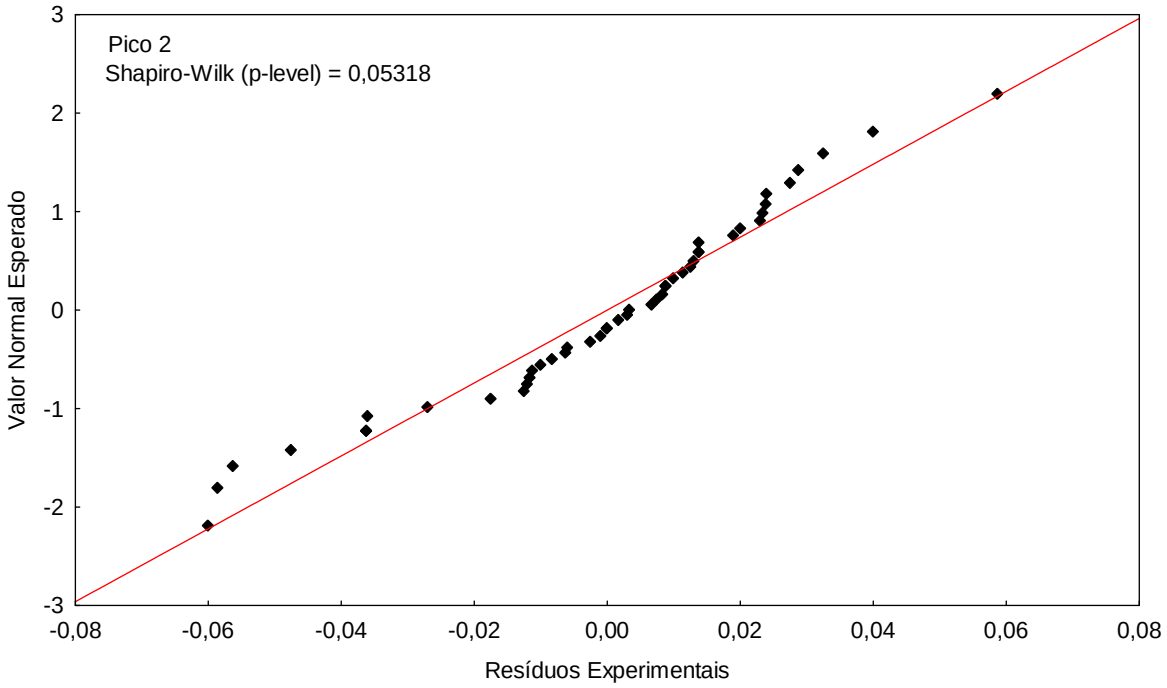


Figura B.7: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa (Pico 2) plotados contra valores normais esperados.

B.6 TEMPOS DE RETENÇÃO DOS COMPONENTES PUROS

Os tempos de retenção da frente para os dados de componentes puros são apresentados nas **Tabelas B.22 e B.23**

Tabela B.22: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 1 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

	Tempo de retenção (frente de massa) (min)			
Concentração do enantiômero (g/L) - Pico 1	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC$_{(95\%)}$****
0,57	4,69	0,02	0,36	0,02
3,71	4,42	0,02	0,36	0,02
5,02	4,41	0,02	0,48	0,02
7,16	4,25	0,02	0,57	0,02
14,11	4,22	0,02	0,55	0,02
16,11	4,11	0,02	0,43	0,02

Tabela B.23: Tempos de retenção da frente de massa para o Pico 2 puro.*Letras diferentes na mesma coluna indicam médias com diferenças estatisticamente significativas (α = 0,05). ** Coeficiente de Variação. *** Intervalo de confiança à uma probabilidade estatística de 95,0% segundo a distribuição *t-student*.

	Tempo de retenção (frente de massa) (min)			
Concentração do enantiômero (g/L) - Pico 2	*média*	*desvio-padrão*	*CV%***	*±IC$_{(95\%)}$****
0,66	7,22	0,03	0,37	0,05
3,67	6,80	0,04	0,56	0,06
8,20	6,53	0,10	1,49	0,06
14,56	5,99	0,02	0,31	0,05
22,18	5,46	0,03	0,46	0,06

A análise da variância (**Tabelas B.23 e B.24**) foi realizada juntamente com o teste de Tukey para identificação das diferenças entre as médias dos tempos de retenção.

As **Figuras B.8 e B.9** apresentam os resíduos experimentais plotados contra os valores normais esperados assim como, o *p-level* calculado para o teste de Shapiro-Wilk.

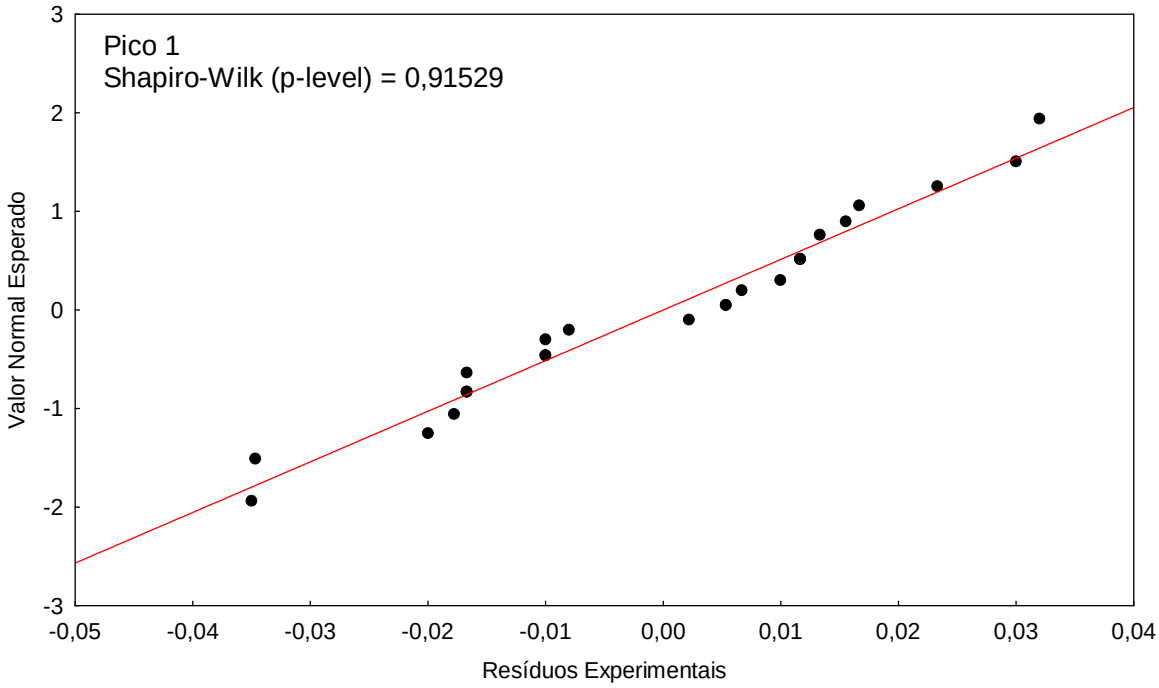


Figura B.8: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa, do Pico 1 puro, plotados contra valores normais esperados.

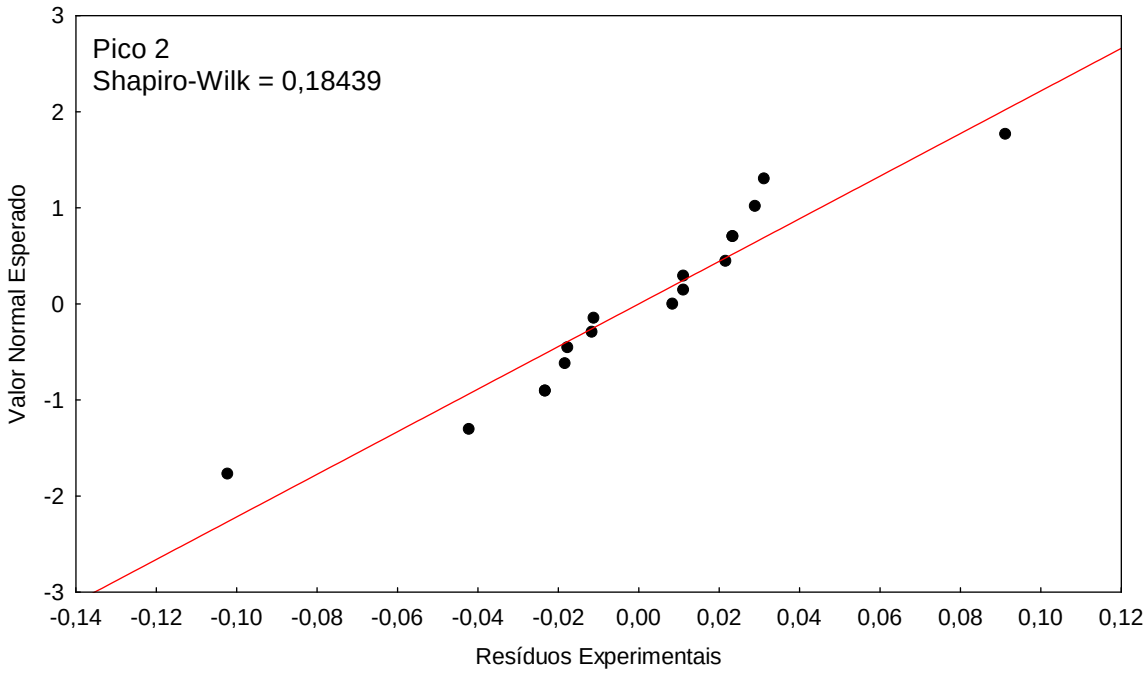


Figura B.9: Resíduos experimentais calculados para os dados de tempo de retenção da frente de massa, do Pico 2 puro, plotados contra valores normais esperados.

Verificou-se a existência de diferenças significativas entre os valores experimentais, os quais foram identificados por meio do teste de médias de Tukey (**Tabelas B.25 e B.26**).

Tabela B.24: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 1 puro. (α = 0,05).

Pico 1	*Soma Quadrática*	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Concentração	0,6809	5	0,1362	319	0,00
erro	0,0081	19	0,0004		
total	0,6890	24	0,1366		

Tabela B.25: Resultados para a ANOVA dos dados referentes aos tempos de retenção da frente de massa obtidos para o Pico 2 puro. (α = 0,05).

Pico 2	*Soma Quadrática*	*Graus de liberdade*	*Média Quadrática*	*F*	*p*
Concentração	6,528	4	1,632	747	0,00
erro	0,026	12	0,002		
total	6,554	16	1,634		

Conforme se observa, os resíduos experimentais apresentaram uma tendência ao comportamento normal. Além disso, algumas das médias dos tempos de retenção não apresentaram diferenças significativas.

Tabela B.26: Diferença entre médias de tempos de retenção (frente de massa) para o primeiro componente puro (Pico 1). Para n_1= 6 e n_2 = 5 (réplicas por tratamento) e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 0,0396.

Concentração do enantiômero (g/L) - Pico 1	0,57	3,71	5,02	7,16	14,11	16,11
0,57		0,27	0,28	0,44	0,48	0,58
3,71	-0,27		0,01	0,17	0,20	0,30
5,02	-0,28	-0,01		0,16	0,19	0,30
7,16	-0,44	-0,17	-0,16		0,03	0,13
14,11	-0,48	-0,20	-0,19	-0,03		0,10
16,11	-0,58	-0,30	-0,30	-0,13	-0,10	

Tabela B.27: Diferença entre médias de tempos de retenção (frente de massa) para o segundo componente puro (Pico 2). Para n= 4 (réplicas por tratamento) e α = 0,05, $MDS_{(tukey)}$ = 0,105.

Concentração do enantiômero (g/L) - Pico 2	0,66	3,67	8,20	14,56	22,18
0,66		0,42	0,69	1,23	1,76
3,67	-0,42		0,27	0,81	1,34
8,20	-0,69	-0,27		0,54	1,06
14,56	-1,23	-0,81	-0,54		0,53
22,18	-1,76	-1,34	-1,06	-0,53	

ANEXO C

C.1 DETALHAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS DA ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS

A seguir, são apresentadas as matrizes de covariâncias e correlação entre os parâmetros dos modelos de isotermas avaliados neste estudo.

Tais dados não são apresentados para o modelo Langmuir competitivo, pois o mesmo foi aplicado por meio do ajuste de apenas um parâmetro, $Q_{máx}$.

Os parâmetros dos modelos, cujos valores foram fixados durante o procedimento de estimação de parâmetros, não possuem variâncias e dessa forma não são apresentados nas tabelas a seguir.

Nas **Tabelas C.1 e C.2** são apresentadas as matrizes estatísticas geradas para o modelo Bi-Langmuir.

Tabela C.1: Matriz de Covariâncias dos parâmetros do modelo Bi-Langmuir, gerada para os dados de puros e mistura racêmica.

Matriz de Covariâncias						
	Puros			*Mistura Racêmica*		
	$Q_{max,s}$	$Q_{max,ns}$	b_{ns}	$Q_{max,s}$	$Q_{max,ns}$	b_{ns}
$Q_{max,s}$	1,29E-05	2,74E-06	-3,41E-12	4,6E-11	-4,7E-12	-4,3E-25
$Q_{max,ns}$	2,74E-06	6,58E-05	3,41E-10	-4,7E-12	4,8E-11	-2,1E-24
b_{ns}	-3,41E-12	3,41E-10	7,61E-14	-4,3E-25	-2,1E-24	3,0E-37

Tabela C.2: Matriz de Correlação dos parâmetros do modelo Bi-Langmuir, gerada para os dados de puros e mistura racêmica.

Matriz de Correlação						
	Puros			*Mistura Racêmica*		
	$Q_{max,s}$	$Q_{max,ns}$	b_{ns}	$Q_{max,s}$	$Q_{max,ns}$	b_{ns}
$Q_{max,s}$	1,000	0,094	-0,003	1,000	-0,099	-0,116
$Q_{max,ns}$	0,094	1,000	0,152	-0,099	1,000	-0,558
b_{ns}	-0,003	0,152	1,000	-0,116	-0,558	1,000

As **Tabelas C.3 e C.4** contemplam as matrizes estatísticas para o modelo estatístico completo.

Tabela C.3: Matriz de Covariâncias dos parâmetros do modelo estatístico completo, gerada para os dados de puros e mistura racêmica.

Matriz de Covariâncias						
	Puros				*Mistura Racêmica*	
	Q_{max}	f_q	K_{BR}		Eq_{rs}	Eaq_{rs}
Q_{max}	2,85E-05	1,47E-08	1,01E-12	Eq_{rs}	5,48E-19	-1,90E-17
f_q	1,47E-08	2,31E-11	1,58E-15	Eaq_{rs}	-1,90E-17	2,45E-12
K_{BR}	1,01E-12	1,58E-15	5,82E-17			

Tabela C.4: Matriz de Correlação dos parâmetros do modelo estatístico completo, gerada para os dados de puros e mistura racêmica.

Matriz de Correlação						
	Puros				*Mistura Racêmica*	
	Q_{max}	f_q	K_{BR}		Eq_{rs}	Eaq_{rs}
Q_{max}	1,000	0,573	0,025	Eq_{rs}	1,000	-0,016
f_q	0,573	1,000	0,043	Eaq_{rs}	-0,016	1,000
K_{BR}	0,025	0,043	1,000			

Nas **Tabelas C.5 e C.6** são apresentadas as matrizes estatísticas geradas para o modelo estatístico simplificado.

Tabela C.5: Matriz de Covariâncias dos parâmetros do modelo estatístico simplificado, gerada para os dados de puros e mistura racêmica.

Matriz de Covariâncias						
	Puros			*Mistura Racêmica*		
	Q_{max}	f_q		Q_{max}	f_q	E_q
Q_{max}	4,88E-05	-5,62E-09	Q_{max}	2,17E-10	3,16E-11	1,97E-13
f_q	-5,62E-09	1,29E-10	f_q	1,97E-13	1,73E-14	1,35E-15
			E_q	3,16E-11	4,92E-12	1,73E-14

Tabela C.6: Matriz de Correlação dos parâmetros do modelo estatístico simplificado, gerada para os dados de puros e mistura racêmica.

Matriz de Correlação						
Puros			*Mistura Racêmica*			
	Q_{max}	f_q		Q_{max}	f_q	E_q
Q_{max}	1,000	-0,071	Q_{max}	1,000	0,969	0,363
f_q	-0,071	1,000	f_q	0,969	1,000	0,213
			E_q	0,363	0,213	1,000