

Estudo da cinética e do equilíbrio de adsorção da cefamicina C presente na fase de topo (PEG) do SDFA em resina de troca iônica

L. M. BRITES¹ e M. B. PASOTTO²

¹ Centro Universitário da FEI, Departamento de Engenharia Química

² Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Departamento de Engenharia Química

E-mail para contato: lmbrites@fei.edu.br

RESUMO – A cefamicina C (cef C) é um antibiótico β -lactâmico que se destaca por possuir atividade contra as bactérias gram-negativas e ser resistente à ação das enzimas beta-lactamases. O principal objetivo deste trabalho foi aplicar a adsorção de troca iônica para recuperar a cef C, da fase de topo de um processo de extração líquido-líquido, baseada nos sistemas de duas fases aquosa (SDFA). As condições experimentais utilizadas no processo de extração por SDFA composto por uma mistura de PEG e fosfato, foram: PEG 400, pH 8,0, tamanho de *tie-line* (TLL) 43 e razão de volume entre as fases (rTLL) de 1,00. As recuperações da fase PEG, foram realizadas por adsorção e dessorção da cef C, com a resina aniônica Amberlite IRA-400 Cl. As adsorções foram realizadas nas temperaturas de 10, 20 e 25°C e em pH 8,0. Para os experimentos realizados, obteve-se as cinéticas de adsorção e dessorção da cef C na fase de topo (SDFA) e as isotermas de adsorção para as condições de recuperação da cef C.

1. INTRODUÇÃO

A cefamicina C é utilizada como matéria-prima para a produção de antibióticos semi-sintéticos, por exemplo, a cefoxitina e cefotetanm que são altamente ativos contra bactérias gram-negativas e gram-positivas. O mercado farmacêutico apresenta uma elevada demanda destes derivados da cef C, uma vez que são amplamente utilizados em terapia humana, devido ao seu amplo espectro de atividade bacteriana (Sridhar, 2002).

Devido à importância deste antibiótico, no aspecto clínico e comercial, é de fundamental importância a realização de estudos sobre o seu processo de produção e purificação. Diante disto, o presente trabalho propõe um estudo do processo de adsorção por troca iônica da cef C, presente na fase de topo de um processo de extração líquido-líquido, por sistema de duas fases aquosas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Tratamento do caldo fermentado

Para a realização dos experimentos foram utilizados caldos oriundos de cultivos de *Streptomyces clavuligerus* DSM 41826 em biorreator, em meio contendo derivados de soja e lisina como fonte de nitrogênio e glicerol como fonte de carbono e energia (Bellão *et al.* 2013). O caldo inicialmente foi centrifugado e em seguida microfiltrado em membrana de 0,22 μm de tamanho de poro e ultrafiltrado em membrana com 3 kDa, utilizando módulos de filtração tangencial da GE-Healtech com 3.600 cm^2 e 110 cm^2 de área de membrana, respectivamente, (Silva *et al.* 2009).

2.2. Resina de troca iônica

Utilizou-se a resina Amberlite IRA-400 Cl (Rohm & Haas) para os ensaios de recuperação e purificação.

2.3. Determinação da concentração de cefamicina C

A concentração de cef C foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme método proposto por Baptista-Neto *et al.*, (2012).

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Cinéticas de adsorção e dessorção

Os estudos cinéticos de adsorção e dessorção com a solução de fase de topo do processo de extração pelos SDFA foram realizados com a resina Amberlite IRA-400. Os experimentos foram realizados em um reator encamisado de 150 mL, provido de agitação mecânica e o equilíbrio térmico por meio de banho termostatzado. O volume de trabalho de 80 mL de solução de cef C e em pH 8,0 (pH da fase de topo). A quantidade de resina (20 g) em base úmida. As temperaturas investigadas foram 20, 25 e 30 °C. Foram retiradas alíquotas em intervalos de tempo definidos durante a adsorção e a eluição. Após a adsorção, a resina foi lavada com 100 mL de água deionizada, antes da eluição da cef C com solução NaCl de 1%.

3.2. Isotermas de adsorção

As isotermas foram obtidas através de ensaios em batelada em mesa incubadora rotativa, a partir da solução da fase de topo do SDFA. Foram preparadas soluções com diferentes concentrações, e em cada solução foram adicionadas 0,7 g de resina adsorvente (base úmida). Os frascos contendo resina e solução de cef C foram agitados a 250 rpm. Após atingir o equilíbrio (1h), as concentrações finais de cef C foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência.

3.3. Tratamento da resina

A resina Amberlite IRA 400-Cl foi previamente tratada e regenerada com solução de NaCl (ciclo cloreto). Quando esta resina é regenerada com tal solução, é possível remover ânions mais seletivos, capazes de deslocar os íons cloreto da resina, tais como: SO_4^{-2} , NO_3^- e PO_4^{-3} . A resina foi regenerada com 10% (m/v) de solução de NaCl por cerca de 1 hora, e em seguida lavada com água deionizada para retirada do excesso de sal.

3.4. Extração por sistema de duas fases aquosas

A extração da cef C presente no caldo fermentado foi realizada por SDFA (PEG/fosfato) sendo preparados de 100 gramas de PEG com massa molecular 400 em pH 8, TLL 43 e rTLL de 1,00. Os sistemas foram agitados por aproximadamente 50 segundos e em seguida colocados em repouso, por 20 minutos, em um funil de separação, para separar as fases de topo e fundo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cinéticas de adsorção e dessorção foram realizadas, sob diferentes temperaturas (10, 20 e 25 °C). Nas Figuras 1 e 2 são apresentados as curvas cinéticas das concentrações adimensionais da adsorção e dessorção da cef C, respectivamente, em função do tempo.

A partir da Figura 1, observa-se uma menor adsorção da cef C na temperatura de 10 °C, devido ao aumento da viscosidade da solução, conseqüentemente, uma maior resistência a transferência de massa da cef C na resina. Enquanto que na temperatura de 25 °C, o aumento da temperatura diminuiu a viscosidade da solução e aumentou adsorção da cef C na resina. A Figura 2 mostra que a dessorção da cef C sofreu pouco influência da temperatura na faixa estudada.

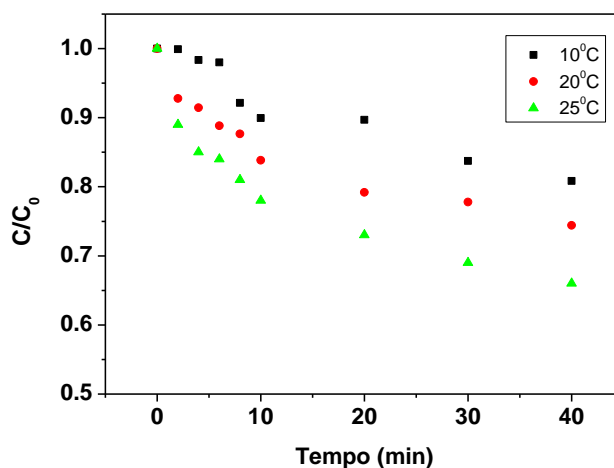


Figura 1 – Curvas cinéticas de adsorção da cefamicina C na solução de fase de topo (pH 8), nas temperaturas de 10, 20 e 25 °C.

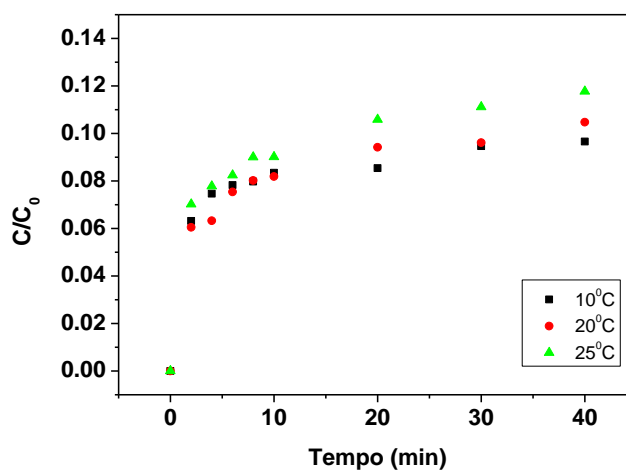


Figura 2 - Curvas cinéticas de dessorção da cefamicina C na solução de fase de topo (pH 8) nas temperaturas de 10, 20 e 25 °C).

A quantidade de massa de cef C adsorvida por massa de resina (q_{eq}) em (mg/g) é definida pela Equação (1), onde C_0 e C_{eq} são as concentrações iniciais e no equilíbrio, respectivamente, V_{sol} é o volume de solução e m_{res} é a massa de resina.

$$q_{eq} = \frac{(C_0 - C_{eq})}{m_{res}} \cdot V_{sol} \quad (1)$$

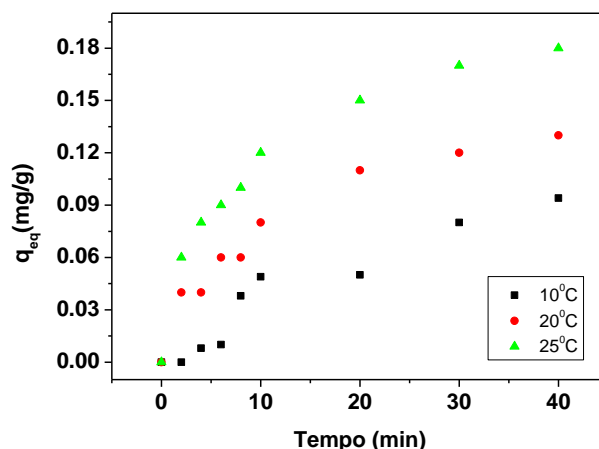


Figura 3 – Quantidade de cefamicina C adsorvida por massa de resina em função do tempo, na solução de fase de topo (pH 8) nas temperaturas de 10, 20 e 25 °C.

Matematicamente, no equilíbrio, é possível relacionar a quantidade de cef C adsorvida por massa de resina (q_{eq}), em função da concentração de cef C (C_{eq}) na solução. A expressão que relaciona estes parâmetros é denominada isoterma de adsorção. Neste trabalho utilizaram-se os modelos de Langmuir e de Freundlich, representados pelas Equações 2 e 3, respectivamente.

A isoterma de Langmuir assume a formação de uma camada homogênea na superfície sólida, sem que haja interações entre as moléculas adsorvidas.

$$q_{eq} = q_m \frac{C_{eq}}{K_L + C_{eq}} \quad (2)$$

onde q_m é a capacidade máxima de adsorção e K_L é a constante de equilíbrio da isoterma de Langmuir (afinidade do composto de interesse pela fase sólida). Essa isoterma assume calor de adsorção constante, um número finito de sítios e a existência de ponte de interação entre soluto-soluto, resultando em um recobrimento em monocamada.

A isoterma de Freundlich corresponde à adsorção em sítios não uniformes. Nesse caso o calor de adsorção frequentemente diminui com o aumento da cobertura na superfície. A falta de uniformidade pode existir previamente nos diferentes sítios de adsorção ou ser causada pelas forças repulsivas entre átomos ou moléculas adsorvidas.

$$q_{eq} = K_F \cdot C_{eq}^{\frac{1}{n}} \quad (3)$$

onde K_F é a constante de adsorção da isoterma de Freundlich e n é um índice desta isoterma. A magnitude do expoente n dá uma indicação sobre a favorabilidade de adsorção. Os valores de “ n ” na faixa de 2-10 representam boa adsorção, 1-2 moderada adsorção e menores que 1 uma baixa adsorção (Hamdaoui; Naffrechoux, 2007).

Na Figura 4 é apresentada a isoterma de equilíbrio de adsorção da cef C sobre a resina Amberlite IRA-400. A partir dos dados experimentais e baseado nos modelos de Langmuir e Freundlich foi realizada uma regressão não-linear. Os parâmetros de cada modelo estão apresentados na Tabela 1

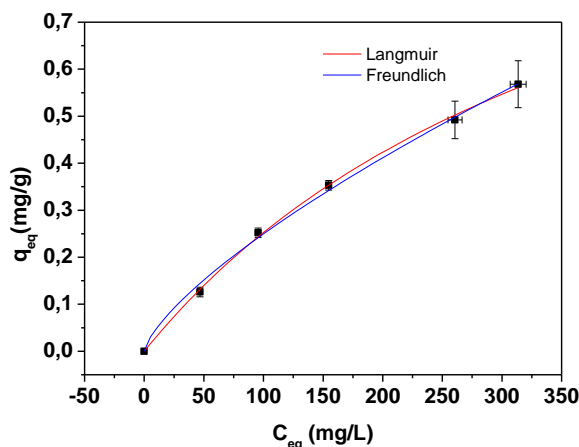


Figura 4 - Isotherma de equilíbrio de adsorção da cef C a 25° C, solução de fase de topo (pH 8), na resina Amberlite IRA-400 Cl.

Tabela 1 - Parâmetros da isoterma de Langmuir e de Freundlich determinados por regressão linear na fase de topo (PH 8,0) a 25 °C, em resina IRA 400 Cl.

Modelo de Langmuir		
q_m (mg _{cefC} ·g _{res} ⁻¹)	K_L (mg·L ⁻¹)	R ²
1,30 ± 0,09	418,06 ± 45,80	0,99
Isoterma de Freundlich		
n (-)	K_F (mg ^{1-(1/n)} L ^{1/n} g ⁻¹)	R ²
1,38 ± 0,03	0,009 ± 0,001	0,99

Ambos os modelos descrevem adequadamente o comportamento de equilíbrio de adsorção da cef C sobre a superfície da resina Amberlite IRA-400 Cl. Sob o ponto de vista termodinâmico, a adsorção por troca iônica pode ser adequadamente descrita como sendo em uma série de camadas, tendo em vista a força eletrostática exercida pelos sítios carregados, nas moléculas adjacentes. A adsorção em monocamada, descrita pelo modelo de Langmuir pode não representar fisicamente o fenômeno, no entanto, matematicamente ela representa satisfatoriamente a adsorção e permite a simplificação de modelos que descrevem os processos de adsorção.

Barboza *et al.* (2002b) estudou a adsorção da cefalosporina C na resina aniônica Amberlite XAD-2. Os resultados obtidos de K_L e n , na temperatura de 25 °C, foram de 450 mg·L⁻¹ e 1,43, respectivamente. Os resultados obtidos para a cefamicina C (Tabela 1) foram muito próximos aos obtidos pelo autor para a cefalosporina C.

Entretanto, quando se compara os resultados de q_m e K_L para a cefamicina C, com os resultados obtidos na literatura para o ácido clavulânico, por Barboza *et al.* (2002a) na ordem de grandeza de (10⁻¹), verifica-se que o resultado de q_m foi muito inferior e de K_L muito alto. Tal comportamento pode ser devido à presença dos sais de fosfato e PEG presentes na fase de topo. Os ânions dos sais de fosfato competem com os ânions da cef C pelos sítios ativos livres da resina, diminuindo a sua capacidade de adsorção. O alto valor de K_L obtido pode ser devido à maior afinidade da resina pelos íons do sal de fosfato, entre outros compostos e à interação entre o PEG e a cef C.

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados para o estudo de recuperação da cef C da fase de topo por adsorção em resina de troca iônica Amberlite IRA-400, constatou-se que o melhor resultado de

quantidade de cef C adsorvida por massa de resina (q_{eq}) em função do tempo foi para a temperatura de 25°C, onde obteve um valor de q_{eq} de 0,18mg/g. Os dois modelos propostos de isotermas (Langmuir e Freundlich) satisfazem o comportamento de adsorção da cef C na resina de troca iônica Ambelite IRA-400 no equilíbrio.

6. REFERÊNCIAS

- BAGGALEY, K. H.; BROWN, A. G.; SCHOFIELD, C. J. Chemistry and biosynthesis of clavulanic acid and other clavams. *Natural Product Reports*, Surrey, V.14, p 309-333, 1997.
- BAPTISTA NETO, A.; OLIVEIRA, J. H. H. L.; BELLÃO, C.; BADINO, A. C.; BARBOZA, M.; BELLÃO, C.; BARBOZA, M.; HOKKA, C. O. An alternative methodology for determination of cephamycin C from fermentation broth, *Journal of Chromatography and Separation Techniques*. 3, pp. 1-5, 2012.
- BARBOZA, M.; ALMEIDA, R. M. R. G.; HOKKA, C. O. Kinetic studies on clavulanic acid recovery by ion exchange chromatography. *Bioseparation* (Dordrecht), HOLANDA, v. 10, p. 221-227, 2002a.
- BARBOZA, M.; HOKKA, C. O.; MAUGERI FILHO, F. Continuous cephalosporin C purification: dynamic modeling and parameter validation. *Bioprocess and Biosystems Engineering* (Print), v. 25, p. 193-203, 2002b.
- BELLÃO, C., ANTONIO, T., ARAUJO, M. L. G. C., BADINO, A. C. Production of clavulanic acid and cephamycin C by *Streptomyces clavuligerus* under different fed-batch conditions. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 30, 257–266, 2013.
- HAMDAOUI, O., NAFFRECHOUX, E. Modeling of adsorption isotherms of phenol and chlorophenols onto granular activated carbom Part I. Two-parameter models and equations allowing determination of thermodynamic parameters. *Journal of Hazardous Materials*, v. 147, p. 381-394, 2007.
- SHIDHAR, P. Cephamycins, a important milestone in β -lactam. *Express Pharma Pulse*. 2002. Disponível em: www.expresspharmapulse.com – Acesso em: 04 de março de 2012.
- SILVA, C. S.; RODRIGUES, Y. R.; HOKKA, C. O.; BARBOZA, M. Study of Fouling Index in Tangential Filtration Applied for Separation of Clavulanic Acid from Fermentation Broths. In: Antonio Mendez-Vilas. (Org.). *Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Sevilha, pp. 765-777, 2009.