

INTERAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA G HUMANA COM ADSORVENTES DE QUITOSANA/ALGINATO: MODELAGEM DOS DADOS DE EQUILÍBRIO E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS POR REDES NEURAIS ARTIFICIAIS

Ana Carolina Moreno Pássaro¹, Tainá Maia Mozetic¹, Nádila Magalhães Millan¹,
Tiago Dias Martins¹, Ivanildo José da Silva Jr.², Igor Tadeu Lazzarotto Bresolin¹

¹ DEQ/UNIFESP

² DEQ/CTC/UFC

APRESENTAÇÃO

Apresentação

- Engenheiro Químico: Universidade Estadual de Maringá, 2003
- Mestre em Engenharia Química: UNICAMP, 2006
- Doutor em Engenharia Química: UNICAMP, 2010
- P&D: Rheabiotech Ltda, 2010-2011
- UNIFESP, campus Diadema, a partir de 08/2011
 - *Professor Adjunto IV*
 - *Área: Equipamentos e Processos de Separação*
 - *Disciplinas: Operações Unitárias (EQ, FB, QI), Biotecnologia (eletiva FB/Bio), Introdução à Eng. Química (EQ), Eng. Bioquímica (EQ), Processos Industriais III (QI), TCC (EQ), etc*
 - *Pesquisa: Recuperação e Purificação de Proteínas e Ensino de EQ, com destaque para o uso de metodologias ativas e de novas ferramentas como Facebook, YouTube e Kahoot.*

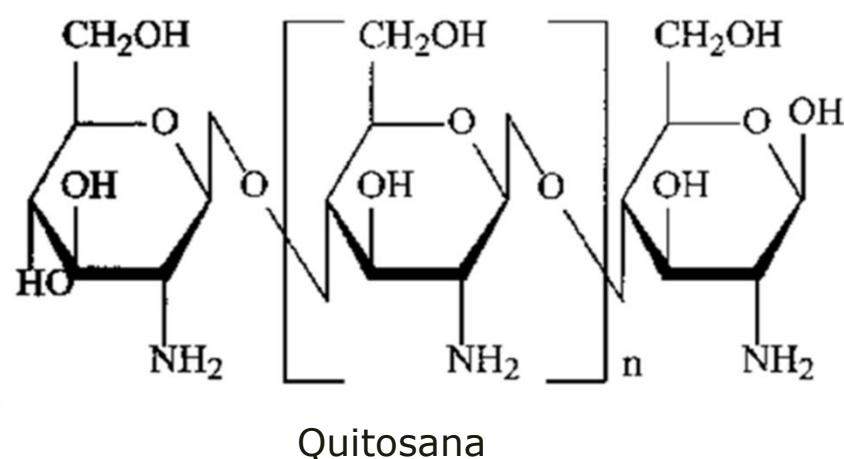
INTRODUÇÃO



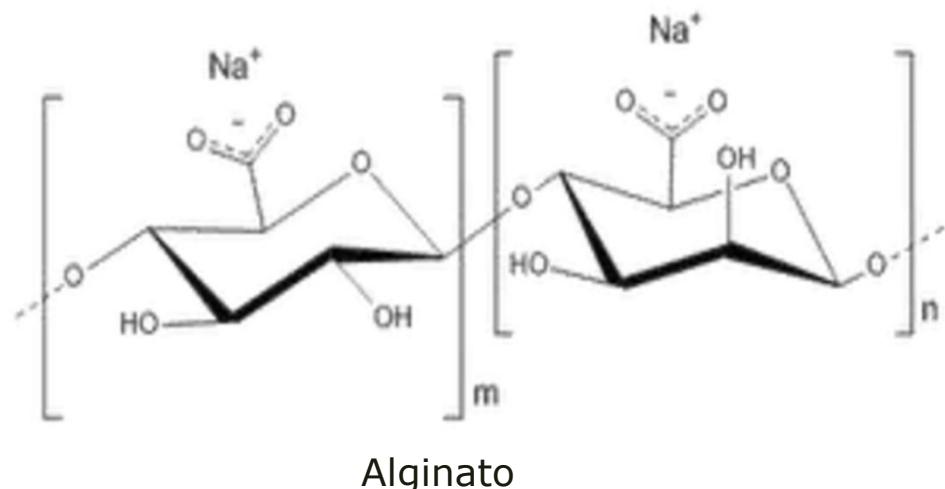
O desenvolvimento de adsorventes de baixo custo com alta capacidade de adsorção e seletividade tem sido um grande desafio!

Adsorvente de Quitosana e Alginato

- Polímeros naturais abundantes;
- Baixo custo;
- Boa capacidade de adsorção.



Quitosana



Alginato

Poucos registros sobre o uso combinado como adsorvente em cromatografia de afinidade para a adsorção de biomoléculas

Adsorvente de Quitosana e Alginato

■ Histórico

- Rodrigues (2010) estudou a adsorção de celulase e BSA em adsorvente de quitosana e alginato epoxidado;
- Testes de adsorção em corantes → adsorção irreversível do corante;
- Por que não usar o corante como ligante? → conceito de cromatografia por afinidade por corantes imobilizados;
- Em 2011 nasce a parceria UNIFESP e GPSA/UFC: ICs, TCC, mestrado e doutorado para adsorção de Imunoglobulina G;
- Características do adsorvente → complexidade → pesquisa!!!

Imunoglobulina G humana

Biomolécula glicoproteica;
Anticorpo humano mais
abundante (75%).

Obtenção da IgG:
Fracionamento do plasma humano;
Métodos cromatográficos.



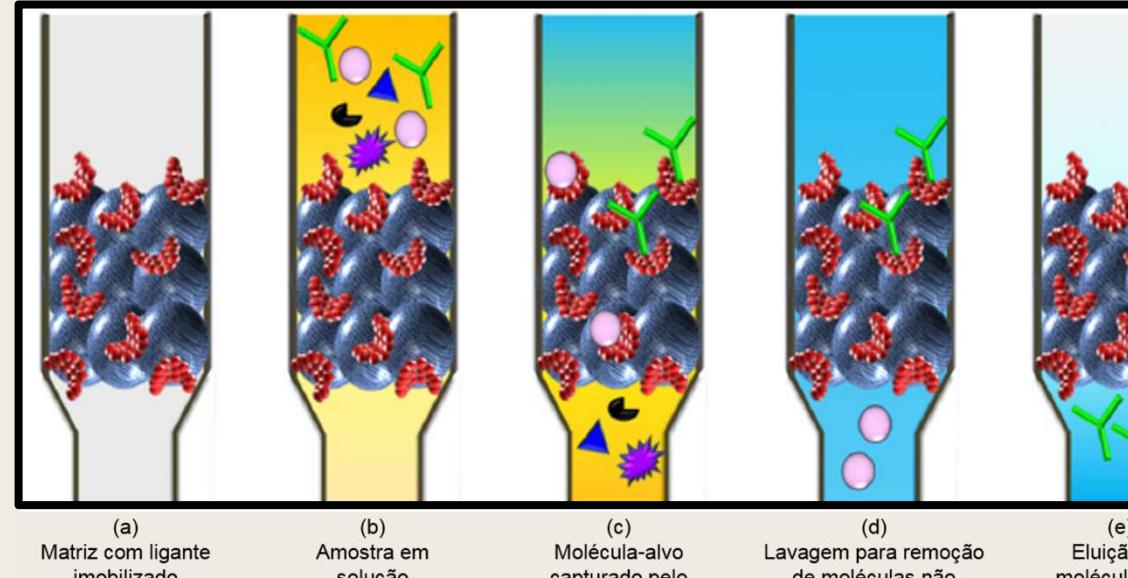
A IgG pode ser empregada em:

- *Imunodeficiências congênitas ou adquiridas;*
- *Tratamento de deficiências seletivas de anticorpos, como no caso de inflamações crônicas;*
- *Tratamento de doenças autoimunes;*
- *Tratamento de alguns tipos de câncer.*

Cromatografia por Afinidade

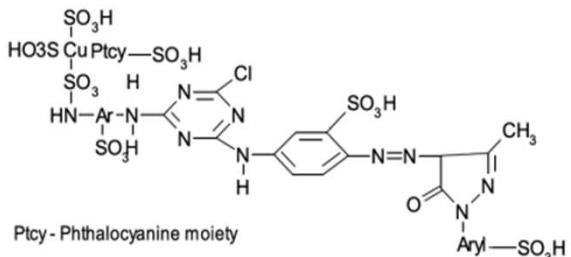
- Etapas envolvidas na purificação de anticorpos utilizando cromatografia por afinidade:

- Ligantes de afinidade
 - Corantes reativos.

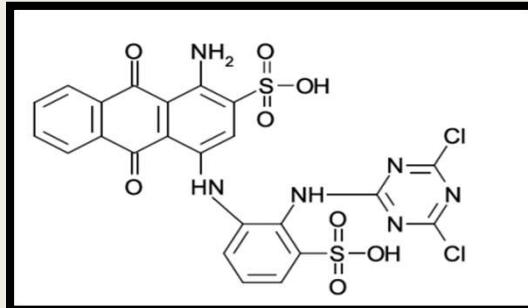


Fonte: AYYAR, ARORA, *et al.* (2012)

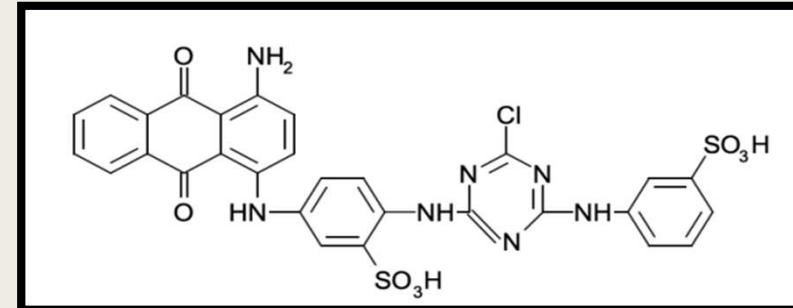
Reativo Verde 5



Reativo Azul 4



Cibacron Blue F3GA



Fonte: GONDIM (2012)

Redes Neurais Artificiais (RNAs)

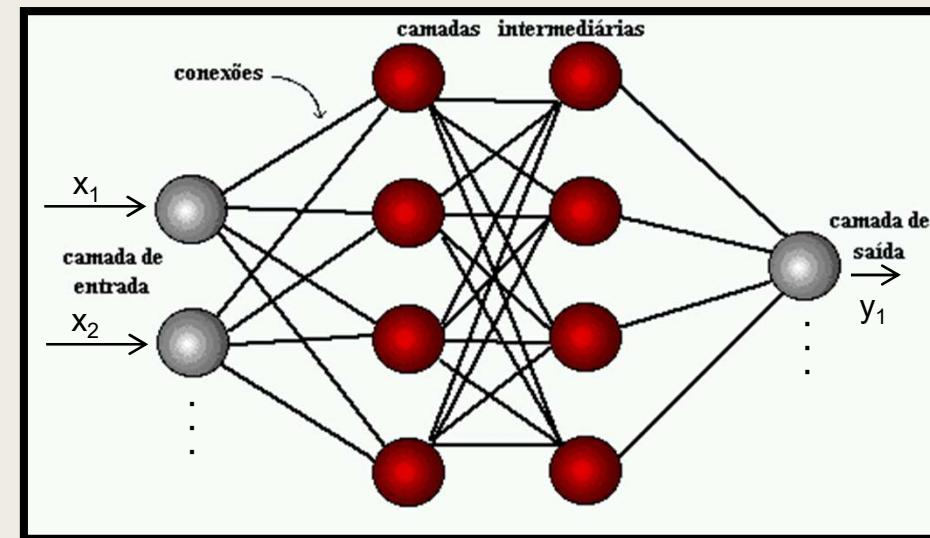
- Desenvolvidas na década de 1940;
 - *Imitar o cérebro humano:*
 - *Aprender com exemplos*
 - *Simular novos eventos*
- Alternativa à modelagem fenomenológica
 - *Em casos complexos.*
 - *Não é necessário se conhecer como são as relações entre as variáveis dependentes e independentes*
- Ref.: BRAGA, A. P. et al., Redes Neurais Artificiais: Teoria e Aplicações. 2^a ed. LTC, 2007.

Redes Neurais Artificiais (RNAs)

- Etapas para obtenção do modelo
 - *Treinamento*
 - *Validação*
 - *Teste*
- Ajuste dos parâmetros
 - *Algoritmos de Otimização*
 - *Minimizam uma função objetivo*
- O modelo pode ser atualizado e melhorado conforme novos dados forem coletados

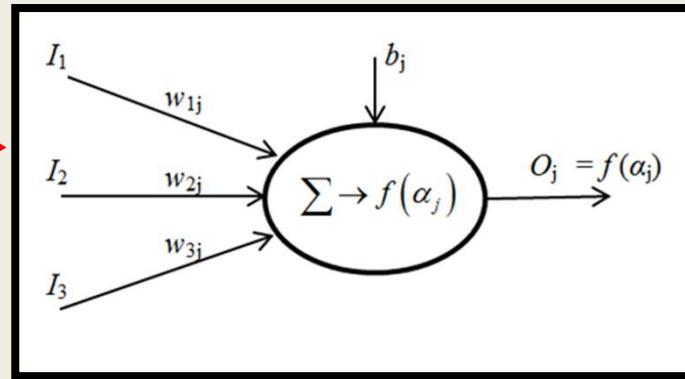
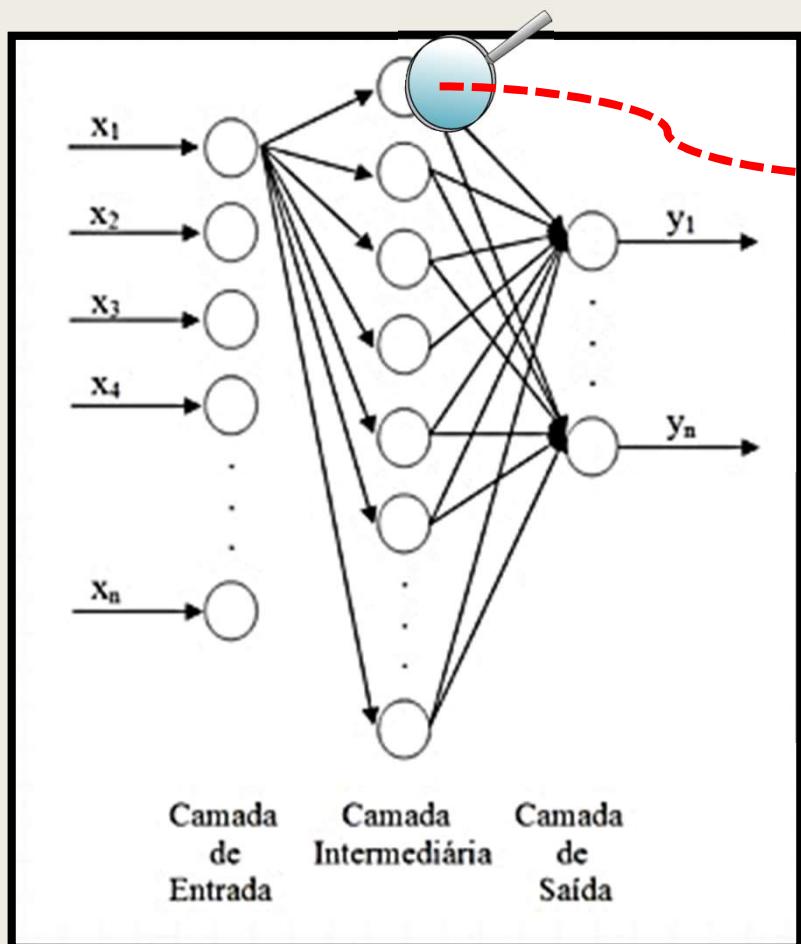
Redes Neurais Artificiais (RNAs)

- Metodologia computacional que realiza análises multivariadas.
- RNAs que podem executar tarefas tais como:
 - *Prever um valor de produção;*
 - *Reconhecer um padrão em dados multivariados e completar um padrão conhecido;*
 - *Mostram a variação da concentração de equilíbrio no sólido adsorvente com a concentração da fase líquida em determinada temperatura.*
- Parâmetros:
 - *Número de camadas;*
 - *Algoritmo de treinamento.*



Fonte: Adaptado de Carvalho (2009)

Redes Neurais Artificiais (RNAs)



Neurônio genérico

$$\alpha_j = \sum_{i=1}^Z w_{ij} I_i + b_j$$

Função de ativação

Entrada camada de saída = $f(\text{saída camada oculta})$

$$y_n = f\left(\sum_{j=1}^W w_{jk} f\left(\sum_{i=1}^Z w_{ij} x_i + b_j \right)_j + b_k \right)_n$$

Resposta do neurônio n na camada de saída

Equação para **um RNA** com uma camada oculta.

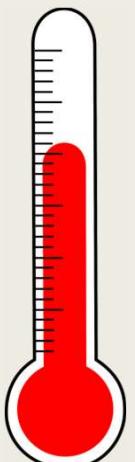
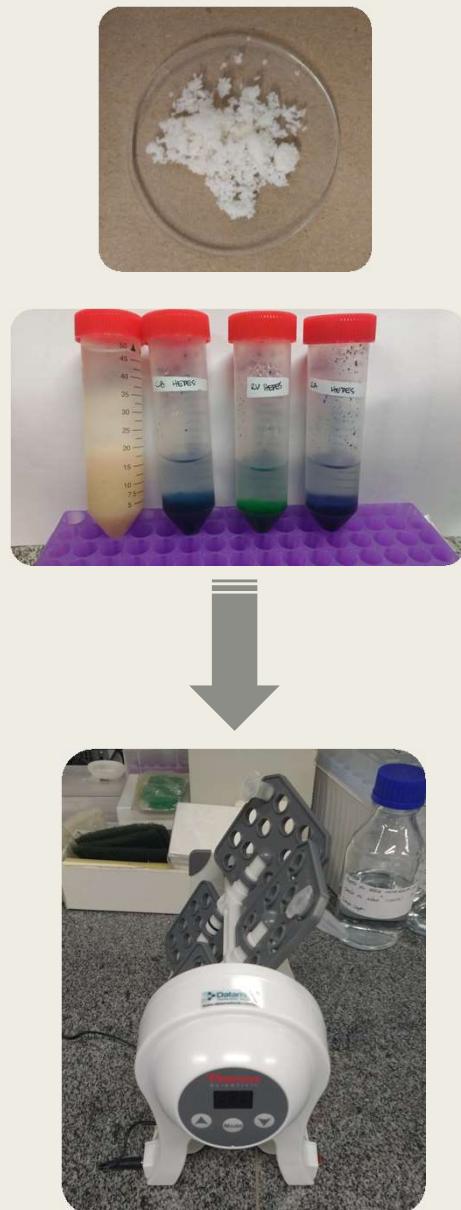
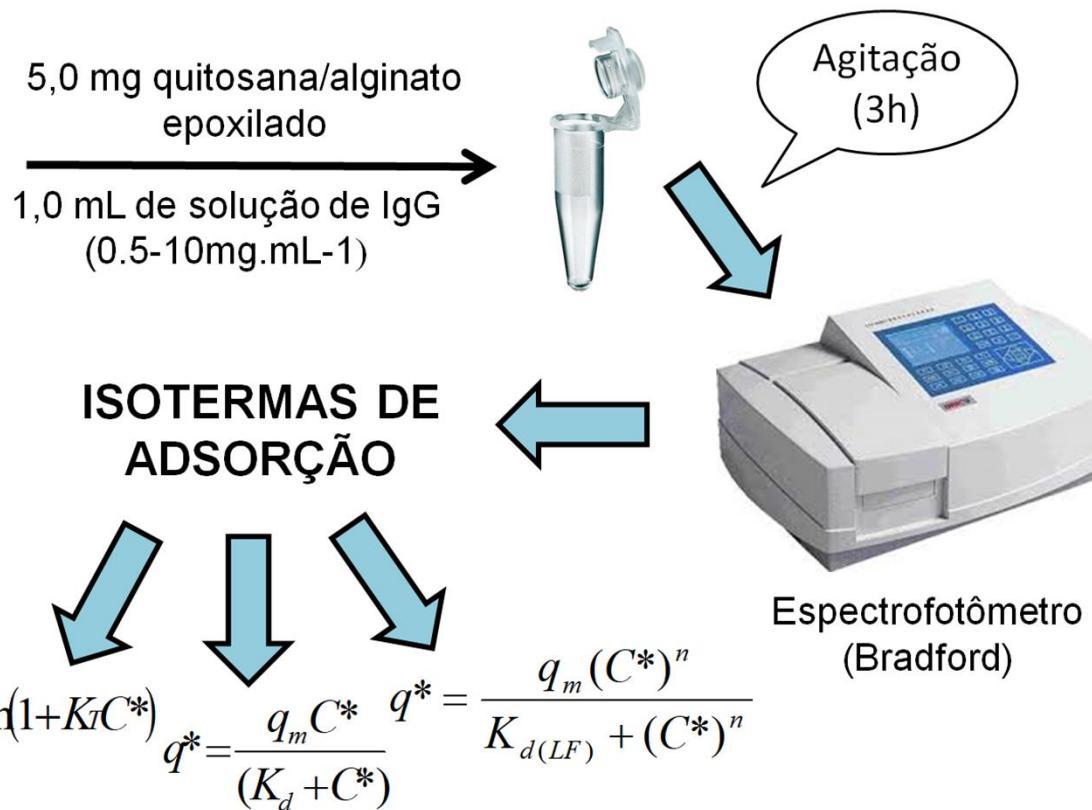
OBJETIVOS

Objetivos

- Aquisição de dados de adsorção de IgG humana em adsorventes de quitosana/alginato em 4 diferentes temperaturas (4° C , 15° C , 25° C e 37° C), variando-se o pH na faixa entre 6,0 e 8,5, utilizando os tampões biológicos MOPS, TRIS, HEPES e fosfato de sódio sem corantes imobilizados (experimentos controle);
- Aquisição dos dados de adsorção de IgG nas mesmas condições anteriores, mas utilizando apenas o tampão biológico fosfato de sódio juntamente com os corantes imobilizados;
- Modelagem matemática dos dados de adsorção feita utilizando redes neurais artificiais e comparada com métodos não lineares clássicos aplicados nos modelos de Langmuir, Langmuir-Freundlich e Temkin.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção das Isotermas



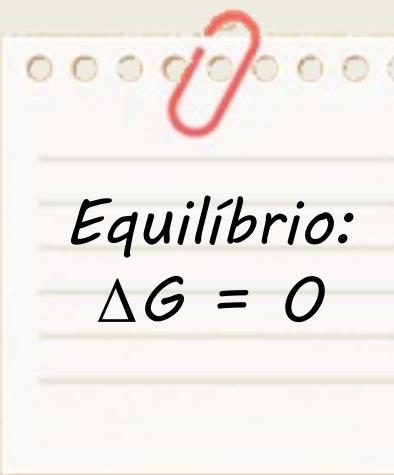
Obtenção dos parâmetros termodinâmicos

$$\Delta G^0 = RT \ln K_d$$

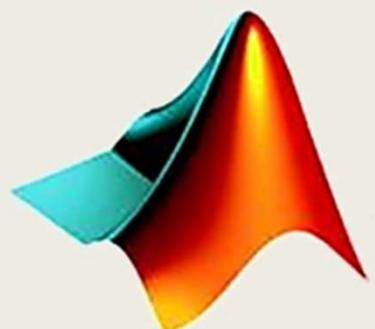
$$\ln K_d = \frac{\Delta H^0}{RT} + J$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0$$

$$K_T = \exp\left(\frac{\Delta G_{máx}}{RT}\right)$$



Treinamento e Simulação com RNAs



MATLAB®

- Avaliação da capacidade das RNAs de **simularem isotermas** com base nos dados previstos pelo **modelo de melhor ajuste**.

- 28 isotermas ao total (interpolação)

- Isotermas divididas em três conjuntos: Conjunto 1, Conjunto 2, Conjunto 3.

Fosfato de sódio
Tansig vs. Logsig

LM/Interface
2 camadas oculta

NARX/Código
RB/LM/RP
1 camada oculta.

Fosfato de sódio
NARX/Código
RB/LM/RP
1 camada oculta.

Todas
isotermas/NA
Código + RB/LI
1 camada
oc /Treino

RESULTADOS

ADSORÇÃO SEM CORANTES IMOBILIZADOS

Tampões MOPS, TRIS-HCl, HEPES e fosfato de sódio
Experimentos Controle

TAMPÃO MOPS

Resultados

■ Modelo de Langmuir

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g seca)	750,6 ± 199,96	261,93 ± 118,23	802,83 ± 411,28	513,06 ± 148,76
K_d (mol/L)	(2,41 ± 1,49) 10 ⁻⁴	(4,82 ± 3,37) 10 ⁻⁴	(6,76 ± 5,09) 10 ⁻⁴	(3,09 ± 1,87) 10 ⁻⁴
R^2	0,894	0,951	0,948	0,899
χ^2	4394,97	102,36	794,27	1858,03

■ Modelo de Langmuir-Freundlich

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	524,50 ± 137,23	119,60 ± 24,91	431,01 ± 206,15	320,45 ± 48,81
$K_{d(LF)}$ (mol/L)	(1,92 ± 1,05) 10 ⁻⁴	(2,15 ± 0,80) 10 ⁻⁴	(4,05 ± 2,13) 10 ⁻⁴	(2,48 ± 1,21) 10 ⁻⁴
n	1,66 ± 0,91	1,93 ± 0,78	1,45 ± 0,62	2,11 ± 0,92
R^2	0,888	0,955	0,944	0,917
χ^2	4616,37	92,96	859,88	1538,30

■ Modelo de Temkin

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	236,03 ± 111,56	106,74 ± 63,88	336,06 ± 222,49	179,21 ± 85,64
K_t (L/mol)	(6,24 ± 6,00) 10 ⁻⁵	(2,31 ± 2,07) 10 ⁻⁵	(1,59 ± 1,47) 10 ⁻⁵	(4,41 ± 4,00) 10 ⁻⁵
R^2	0,882	0,950	0,947	0,891
χ^2	4870,85	105,00	816,34	2021,42

- Em 4°C e 25°C: modelo de Langmuir apresentou melhor ajuste
- Em 15°C e 37°C: modelo de Langmuir-Freundlich foi o melhor ajuste
- Os erros associados a cada ajuste:
 - Menores no modelo de Langmuir-Freundlich
 - mesma ordem de grandeza do valor para as constantes de dissociação (K_d , $K_{d(LF)}$, K_t)
- $n > 1$ no ajuste pelo modelo Langmuir-Freundlich: **adsorção multicamadas** - cooperatividade positiva
- Parâmetros:
 - Q_m evidenciaram a alta capacidade de adsorção de IgG
 - 25°C > 4°C > 37°C > 15°C (Langmuir e Temkin)
 - 4°C > 25°C > 37°C > 15°C (Langmuir-Freundlich)
 - K_d , $K_{d(LF)}$ e K_t : valores típicos de constantes de dissociação que caracterizam sistemas de pseudobioafinidade
 - 25°C > 15°C > 37°C > 4°C (Langmuir)
 - 25°C > 37°C > 15°C > 4°C (Langmuir-Freundlich)

TAMPÃO TRIS

Resultados

■ Modelo de Langmuir

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Qm (mg/g)	(1,88 ± 1,79) 103	1,69 108 ± 3,71 1013	2,06 108 ± 9,49 1013	1,58 103 ± 766,18
Kd (mol/L)	(2,52 ± 2,96) 10-3	313,88 ± 6,93 107	562,64 ± 2,61 108	(1,15 ± 0,78) 10-3
R ²	0,945	0,865	0,845	0,960
X ²	1540,71	3224,19	2064,67	1941,76

- Em 4°, 15° e 25°C: modelo de Langmuir-Freundlich foi o melhor ajuste

- Em 37°C: modelo de Langmuir melhor representou os dados

- Os erros associados a cada ajuste – exceto aos dados a 37°C:

- Maiores que os valores
- Descrebiliza os resultados, deixando-se ser confiáveis valores do R² (inconsistência física)

- n>1 no ajuste pelo modelo Langmuir-Freundlich: adsorção multicamadas

- Parâmetros:

- Q_m evidenciaram a alta capacidade de adsorção IgG
- 25°C > 15°C > 4°C > 37°C (Langmuir)
- 25°C > 4°C > 37°C > 15°C (Langmuir-Freundlich)
- 15°C > 4°C > 25°C > 37°C (Temkin)
- K_D, K_{D(LF)} e K_t: típicos de sistemas de pseudobioafinidade
- 25°C > 15°C > 4°C > 37°C (Langmuir)
- 4°C > 15°C > 25°C > 37°C (Langmuir-Freundlich)
- 37°C > 25°C > 4°C > 15°C (Temkin)

■ Modelo de Langmuir-Freundlich

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q _m (mg/g)	2,71 10 ⁷ ± 8,31 10 ¹¹	353,68 ± 34,76	1,12 10 ⁸ ± 4,36 10 ¹³	882,33 ± 446,06
K _{d(LF)} (mol/L)	1,26 10 ² ± 3,89 10 ⁶	6,17 10 ³ ± 8,07 10 ⁴	2,72 10 ³ ± 1,18 10 ⁹	(8,03 ± 3,56) 10 ⁻⁴
n	1,51 ± 0,46	10,77 ± 7,73	2,04 ± 1,61	1,34 ± 0,47
R ²	0,989	0,912	0,923	0,957
X ²	337,03	2114,55	1024,98	2063,01

■ Modelo de Temkin

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Qm (mg/g)	5,81 106 ± 5,44 1010	7,64 106 ± 1,50 1011	1,34 106 ± 7,95 109	672,59 ± 411,15
Kt (L/mol)	4,72 10-10 ± 4,67 10-6	3,13 10-10 ± 6,00 10-6	1,21 10-9 ± 7,33 10-6	(9,21 ± 7,33) 10-6
R ²	0,944	0,865	0,845	0,959
X ²	1759,66	3224,24	2064,92	1989,09

TAMPÃO HEPES

Resultados

■ Modelo de Langmuir

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	1045,93 ± 212,89	393,96 ± 62,20	633,02 ± 83,34	491,85 ± 27,20
K_d (mol/L)	(4,07 ± 1,47) 10 ⁻⁴	(7,46 ± 4,2) 10 ⁻⁵	(9,10 ± 4,00) 10 ⁻⁵	(8,29 ± 1,60) 10 ⁻⁵
R^2	0,977	0,862	0,932	0,984
X^2	1210,74	3402,68	3535,12	505,09

■ Modelo de Langmuir-Freundlich

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	1447,24 ± 1541,65	333,15 ± 37,10	1279,17 ± 2052,05	544,56 ± 103,47
$K_{d(LF)}$ (mol/L)	(5,52 ± 6,37) 10 ⁻⁴	(5,02 ± 3,47) 10 ⁻⁵	(2,55 ± 5,39) 10 ⁻⁴	(1,01 ± 0,39) 10 ⁻⁴
n	0,85 ± 0,30	2,39 ± 1,46	0,54 ± 0,33	0,84 ± 0,20
R^2	0,978	0,892	0,945	0,986
X^2	1402,31	3213,51	3418,47	542,91

■ Modelo de Temkin

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	371,39 ± 107,70	92,03 ± 34,61	147,69 ± 35,89	115,97 ± 14,02
K_t (L/mol)	(3,36 ± 1,67) 10 ⁻⁵	(3,97 ± 4,75) 10 ⁻⁴	(3,59 ± 2,69) 10 ⁻⁴	(3,66 ± 1,38) 10 ⁻⁴
R^2	0,976	0,832	0,939	0,982
X^2	1261,58	4154,09	3459,83	586,13

- Modelo de **Langmuir** apresenta melhor ajuste em todas as temperaturas
- Os **erros** associados a cada parâmetro com a mesma ordem de grandeza
- $n > 1$ no ajuste pelo modelo Langmuir-Freundlich: **adsorção em multicamadas**
- Parâmetros:
 - Q_m evidenciaram a **alta capacidade de adsorção** de IgG
 - $4^\circ\text{C} > 25^\circ\text{C} > 37^\circ\text{C} > 15^\circ\text{C}$ (**Langmuir, Langmuir-Freundlich e Temkin**)
 - $K_D, K_{D(LF)}$ e K_t : valores **típicos de constantes de dissociação que caracterizam sistemas de pseudobioafinidade**
 - $4^\circ\text{C} > 25^\circ\text{C} > 37^\circ\text{C} > 15^\circ\text{C}$ (**Langmuir e Langmuir-Freundlich**)
 $15^\circ\text{C} > 37^\circ\text{C} > 25^\circ\text{C} > 4^\circ\text{C}$ (**Temkin**)

TAMPÃO FOSFATO DE SÓDIO

Resultados

■ Modelo de Langmuir

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	272,81 ± 66,52	140,57 ± 33,61	315,1 ± 49,95	750,31 ± 180,22
K_d (mol/L)	(4,28 ± 2,24) 10 ⁻⁴	(3,25 ± 1,70) 10 ⁻⁴	(3,48 ± 1,28) 10 ⁻⁴	(8,03 ± 3,10) 10 ⁻⁴
R^2	0,937	0,919	0,961	0,979
χ^2	378,42	99,96	352,94	434,37

■ Modelo de Langmuir-Freundlich

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	202,21 ± 70,16	3,29 10 ⁶ ± 3,38 10 ¹⁰	216,50 ± 18,22	546,32 ± 233,91
$K_{d(LF)}$ (mol/L)	(3,58 ± 1,73) 10 ⁻⁴	7,75 ± 7,00 10 ⁵	(3,70 ± 1,19) 10 ⁻⁴	(6,90 ± 2,53) 10 ⁻⁴
n	1,37 ± 0,63	0,54 ± 0,46	1,91 ± 0,46	1,23 ± 0,40
R^2	0,925	0,932	0,982	0,977
χ^2	374,04	83,50	199,38	612,75

■ Modelo de Temkin

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	90,57 ± 36,17	42,55 ± 14,50	103,15 ± 30,36	289,66 ± 105,91
K_t (L/mol)	(3,49 ± 2,40) 10 ⁻⁵	(5,60 ± 4,00) 10 ⁻⁵	(4,33 ± 2,67) 10 ⁻⁵	(1,49 ± 0,80) 10 ⁻⁵
R^2	0,926	0,927	0,953	0,974
χ^2	368,28	89,54	432,44	556,46

- Em 4°C e 37°C: modelo de Langmuir apresentou melhor ajuste
- Em 15°C e 25°C: modelo de Langmuir-Freundlich foi o melhor ajuste
- Os erros associados a cada ajuste:
 - mesma ordem de grandeza do valor para as constantes de dissociação (K_d , $K_{d(LF)}$ e K_t)
 - Maiores que os parâmetros de ajuste de Langmuir-Freundlich a 15°C: sem sentido físico
- $n > 1$ no ajuste pelo modelo Langmuir-Freundlich: **adsorção multicamadas** - cooperatividade positiva
- Parâmetros:
 - Q_m evidenciaram a alta capacidade de adsorção de IgG
 - 37°C > 25°C > 4°C > 15°C (Langmuir e Temkin)
15°C > 37°C > 25°C > 4°C (Langmuir-Freundlich)
 - K_d , $K_{d(LF)}$ e K_t : valores típicos de constantes de dissociação que caracterizam sistemas **pseudobioafinidade**
 - 37°C > 4°C > 25°C > 15°C (Langmuir)
15°C > 37°C > 25°C > 4°C (Langmuir-Freundlich)
15°C > 25°C > 4°C > 37°C (Temkin)

Comparando com resultados anteriores...

- Parâmetros ajustados para os modelos de Langmuir e Langmuir-Freundlich para os tampões HEPES (25 mM pH 6,8) e MES (25 mM pH 6,5), a 4°C e 37°C, sem corantes immobilizados
- Millan (2016)

n>1: indicando possível formação de multicamadas na adsorção

	T (°C)	Langmuir		R ²	Langmuir-Freundlich			R ²
		Q _m (mg/g seca)	K _d (mol/L)		Q _m (mg/g seca)	K _{L(F)} (mol/L) (10 ⁻⁵)	n	
HEPES	4	919,66 ± 418,58	(2,93 ± 2,13) 10 ⁻⁵	0,920	455,21 ± 76,50	1,54 ± 0,59	2,37 ± 0,89	0,953
	37	387,64 ± 54,03	(2,10 ± 0,68) 10 ⁻⁶	0,955	284,15 ± 22,23	1,76 ± 0,41	1,86 ± 0,41	0,979
MES	4	430,73 ± 69,72	(1,48 ± 0,58) 10 ⁻⁵	0,936	319,90 ± 31,77	1,11 ± 0,32	1,86 ± 0,47	0,967
	37	362,14 ± 34,65	(1,94 ± 0,42) 10 ⁻⁵	0,979	302,20 ± 30,52	1,72 ± 0,30	1,35 ± 0,23	0,987

- Aumento da temperatura causava uma diminuição na capacidade de adsorção: Dotto *et al* (2011)

ADSORÇÃO COM CORANTES IMOBILIZADOS

Reativo Azul, Reativo Verde e Cibacron Blue

LANGMUIR- FREUNDLICH

Resultados

■ Reativo Verde

Parâmetro	Temperatura (°C)			
s	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	$490,16 \pm 53,03$	$4,71 \cdot 10^6 \pm 1,76 \cdot 10^{11}$	$102,12 \pm 29,95$	$877,65 \pm 2693,66$
$K_{d(LF)}$ (mol/L)	$(2,05 \pm 3,46) \cdot 10^{-2}$	$18,85 \pm 7,13 \cdot 10^5$	$(1,69 \pm 1,69) \cdot 10^{-3}$	$(1,60 \pm 4,86) \cdot 10^{-3}$
n	$3,46 \pm 1,11$	$0,85 \pm 0,60$	$1,89 \pm 0,88$	$0,73 \pm 0,34$
R^2	0,970	0,915	0,920	0,960
χ^2	1131,07	285,22	102,24	202,99

■ Reativo Azul

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	$237,23 \pm 34,72$	$1014,47 \pm 399,64$	$242,21 \pm 166,88$	$447,19 \pm 44,08377$
$K_{d(LF)}$ (mol/L)	$(3,27 \pm 1,25) \cdot 10^{-4}$	$(4,17 \pm 1,09) \cdot 10^{-3}$	$(6,47 \pm 8,99) \cdot 10^{-4}$	$(1,55 \pm 3,30) \cdot 10^{-2}$
n	$1,59 \pm 0,53$	$1,70 \pm 0,33$	$1,43 \pm 1,30$	$3,82 \pm 1,55$
R^2	0,950	0,991	0,763	0,947
χ^2	428,32	364,89	1941,25	2014,14

■ Cibacron Blue

Parâmetros	Temperatura (°C)			
	4	15	25	37
Q_m (mg/g)	$173,58 \pm 14,89$	$1124,05 \pm 675,86$	$984,80 \pm 455,80$	$681,54 \pm 76,25$
$K_{d(LF)}$ (mol/L)	$(9,95 \pm 2,09) \cdot 10^{-4}$	$(4,19 \pm 1,87) \cdot 10^{-3}$	$(9,03 \pm 3,51) \cdot 10^{-4}$	$0,30 \pm 1,01$
n	$3,12 \pm 1,54$	$1,74 \pm 0,55$	$1,14 \pm 0,27$	$4,97 \pm 2,06$
R^2	0,922	0,975	0,987	0,955
χ^2	496,14	1283,82	612,28	3354,13

Comparando os resultados...

- Q_m
 - 4°C: *Reativo Verde* > *Reativo Azul* > *Cibacron Blue*
 - 15°C e 37°C: *Reativo Verde* > *Cibacron Blue* > *Reativo Azul*
 - 25°C: *Cibacron Blue* > *Reativo Azul* > *Reativo Verde*
- K_d
 - 4°C, 15°C e 25°C: *Reativo Verde* > *Cibacron Blue* > *Reativo Azul*
 - 37°C: *Cibacron Blue* > *Reativo Azul* > *Reativo Verde*
- Experimentos com corantes → uma **maior capacidade** de adsorção da IgG do que os sem corantes

PARÂMETROS TERMODINÂMICOS

Energia livre de Gibbs, entalpia e entropia

Energia Livre de Gibbs: $\Delta G_{\text{máx}}$

Temperatura (°C)	$\Delta G_{\text{máx}} (\text{kJ/mol})$			
	MOPS	TRIS	HEPES	FOSFATO
4	-22,30	-49,45	-23,72	-23,63
15	-25,56	-52,40	-18,75	-23,44
25	-27,37	-50,86	-19,65	-24,89
37	-25,85	-29,88	-20,39	-28,64

Temperatura (°C)	$\Delta G_{\text{máx}} (\text{kJ/mol})$		
	Cibacron blue	Reativo verde	Reativo azul
4	-22,36	-29,39	-23,09
15	-49,63	-30,38	-49,72
25	-28,52	-28,49	-26,27
37	-37,21	-27,65	-29,62



- ↑ Quantidade de proteína adsorvida, ↓ $\Delta G_{\text{máx}}$
- Bresolin *et al.* (2009), estudando adsorção de anticorpos monoclonais em PEVA-CM-Asp-Zn(II): mesmas ordens de grandezas de $\Delta G_{\text{máx}}$
- Bayramoglu, Okteme Arica (2007): $\Delta G_{\text{máx}}$ (-37,6 kJ / mol)

Entropia: ΔS°

Temperatura (°C)	ΔS° (J/mol)			
	MOPS	TRIS	HEPES	FOSFATO
4	80,37	178,63	85,67	85,53
15	88,62	182,05	65,14	81,61
25	91,72	170,77	65,97	83,73
37	83,27	96,48	65,81	92,59

Aumento da desordem do sistema

Temperatura (°C)	ΔS° (J/mol)		
	Cibacron blue	Reativo verde	Reativo azul
4	80,33	106,28	83,25
15	171,95	105,66	172,53
25	95,34	95,77	88,05
37	119,68	89,36	95,45

Uso de corantes aumentou a afinidade da IgG pela matriz quitosana /alginato

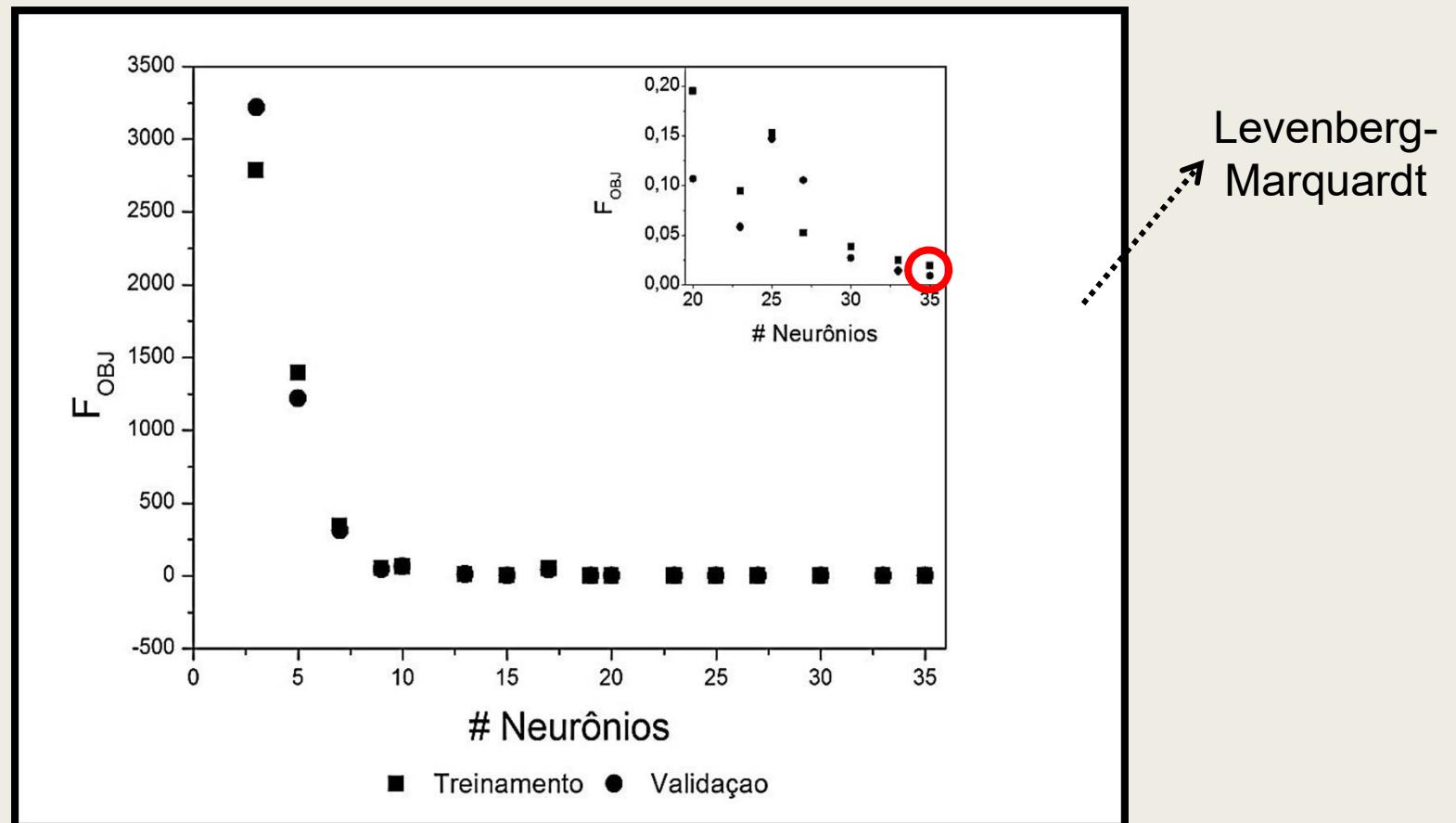
$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$$

SIMULAÇÃO EM REDES NEURAIS ARTIFICIAIS

Resultados para cada conjunto

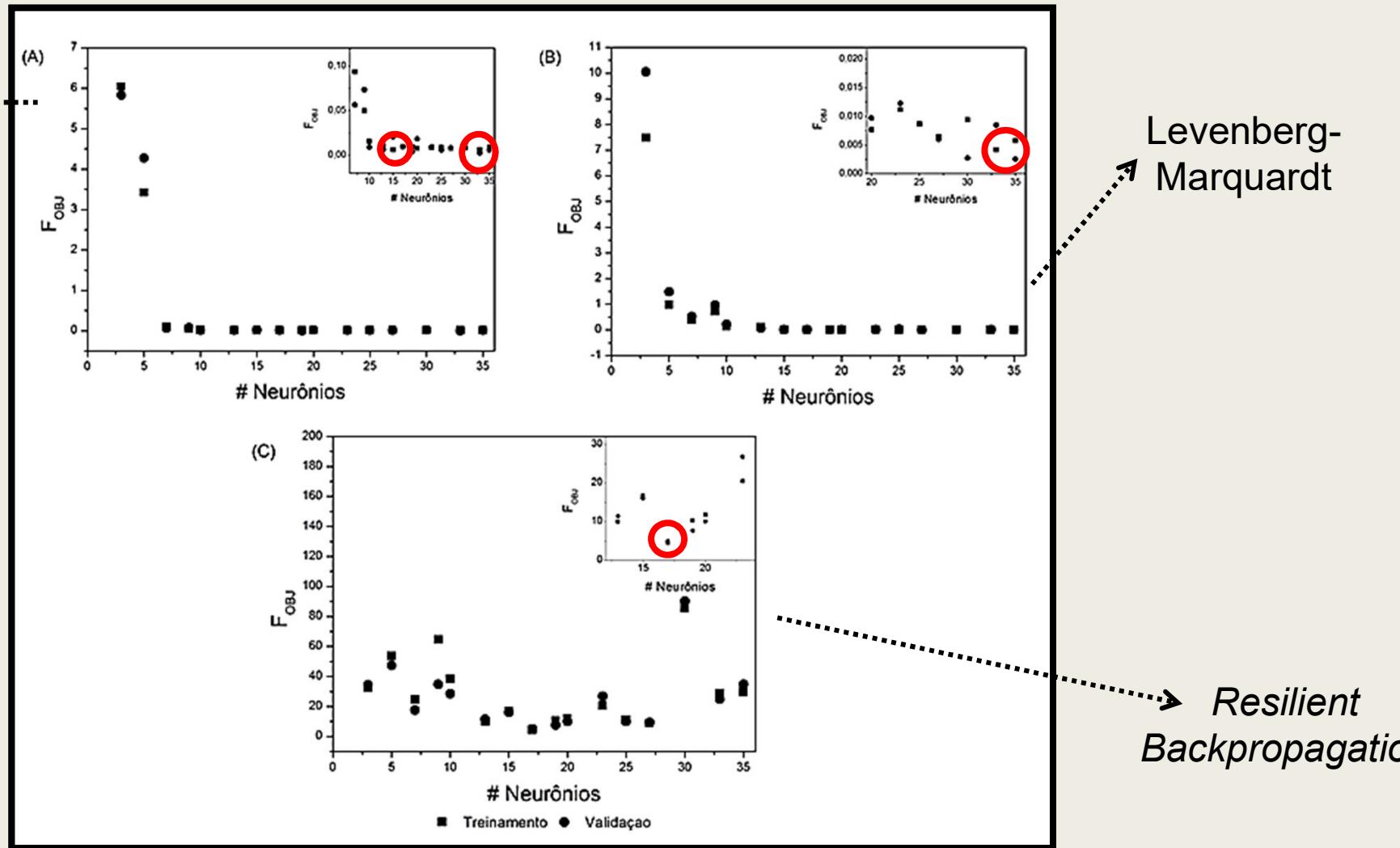
- **Conjunto 1: Fosfato de sódio/duas camadas ocultas/Interface**
 - Bons resultados para R^2 e F_{OBJ} de treinamento e validação;
 - Melhores simulações com função *logsig* (máximo R^2 : 0,5087) → **Insatisfatório**
 - Uma camada oculta: ligeira melhora na simulação (máximo R^2 : 0,6069)
- **Conjunto 2: Fosfato de sódio/uma camada oculta/Código**
 - Sem melhorias significativas para R^2 e F_{OBJ} de treinamento e validação;
 - Estabilização de F_{OBJ} : RB > LM > RP;
 - Grande melhora nas simulações: melhores R^2 em torno de 0,999 → **Satisfatório!**
- **Conjunto 3: Todas isotermas/uma camada oculta/Código**
 - Maiores desvios para R^2 e F_{OBJ} de treinamento e validação: ↑ Complexidade; → **Satisfatório!**
 - Melhores simulações com R^2 em torno de 0,999;
 - Desempenho dos algoritmos na simulação: RB > LM > RP.

Conjunto 1: Treinamento e validação



Conjunto 2: Treinamento e validação

Regulação
Bayesiana



Levenberg-
Marquardt

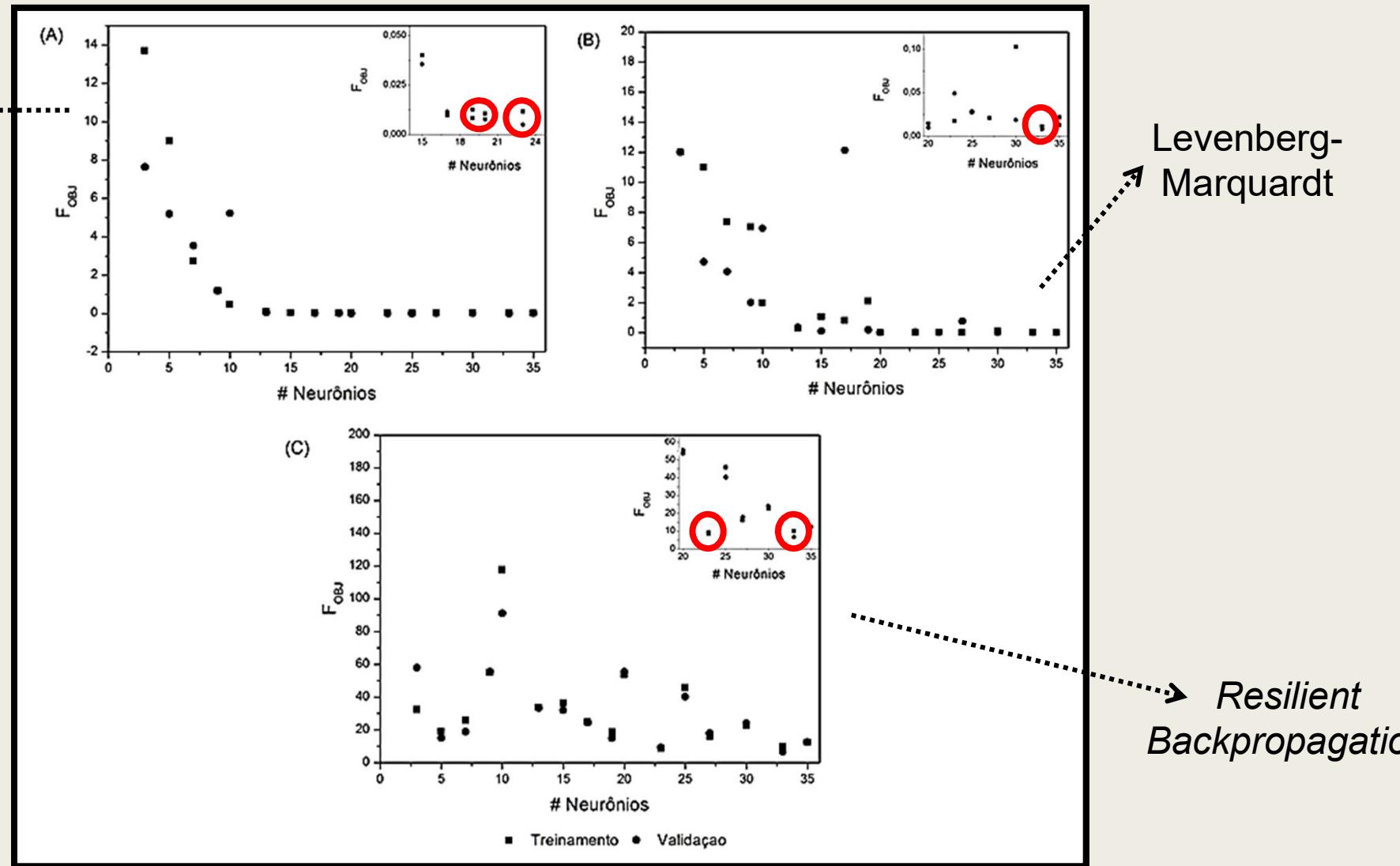
Resilient
Backpropagation

Conjunto 3: Treinamento e validação

Regulação
Bayesiana

20 treinos!

Pode ser que
o
número de
treinos tenha
alguma
influência?

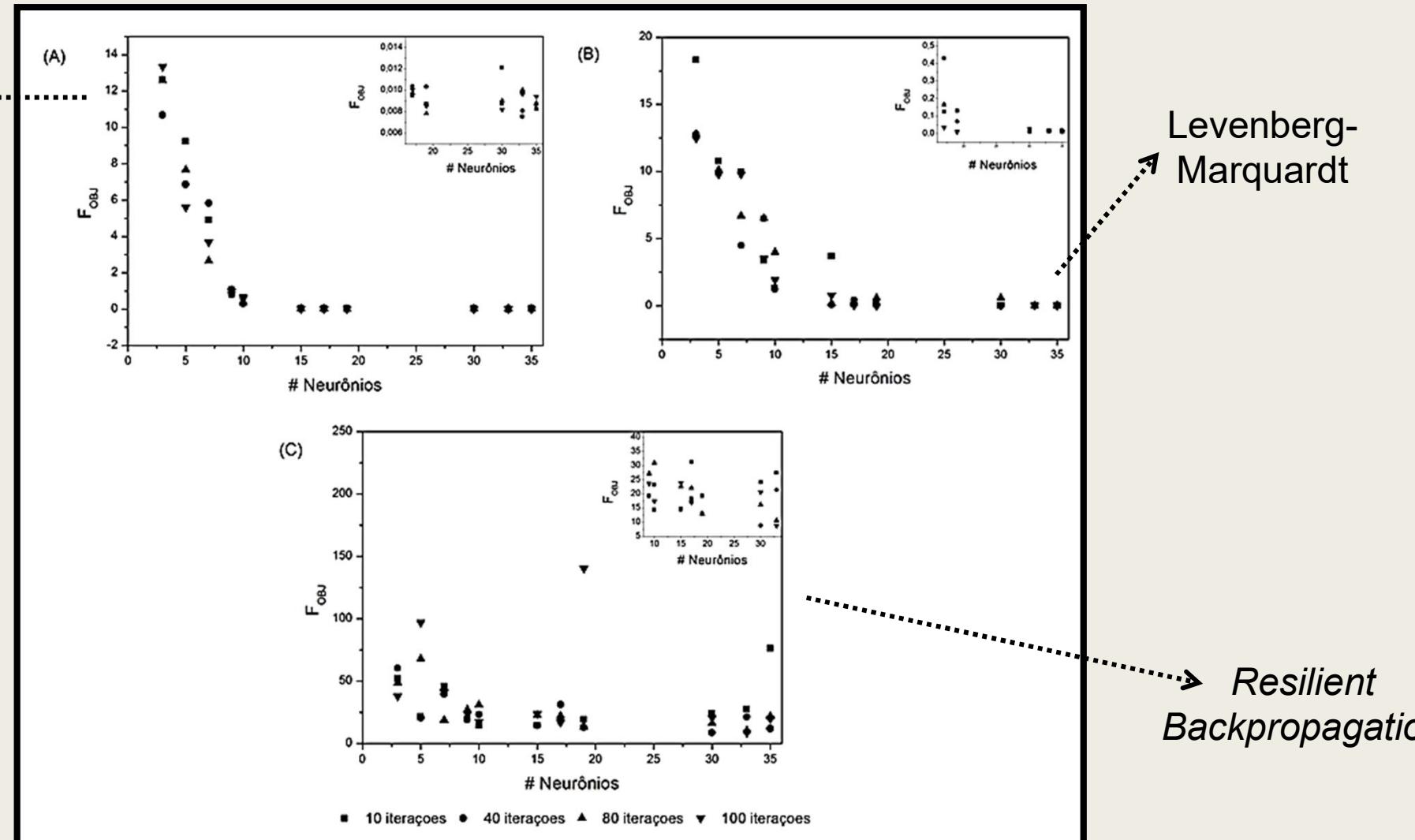


Conjunto 3: Treinamento e validação

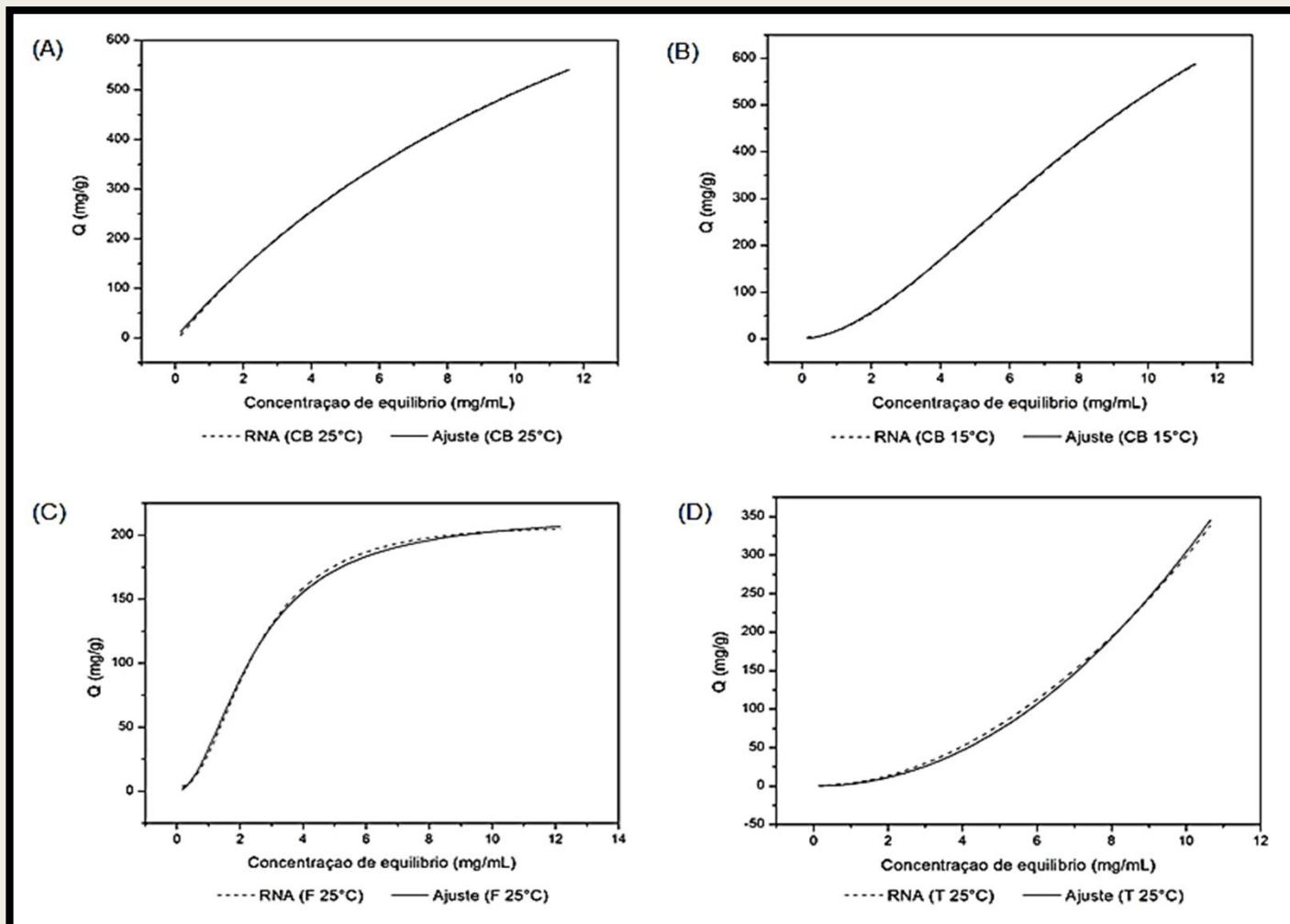
Regulação
Bayesiana

Comportamento
similar para
T, V e S.

O número
de treinos
não influencia
de maneira
significativa.



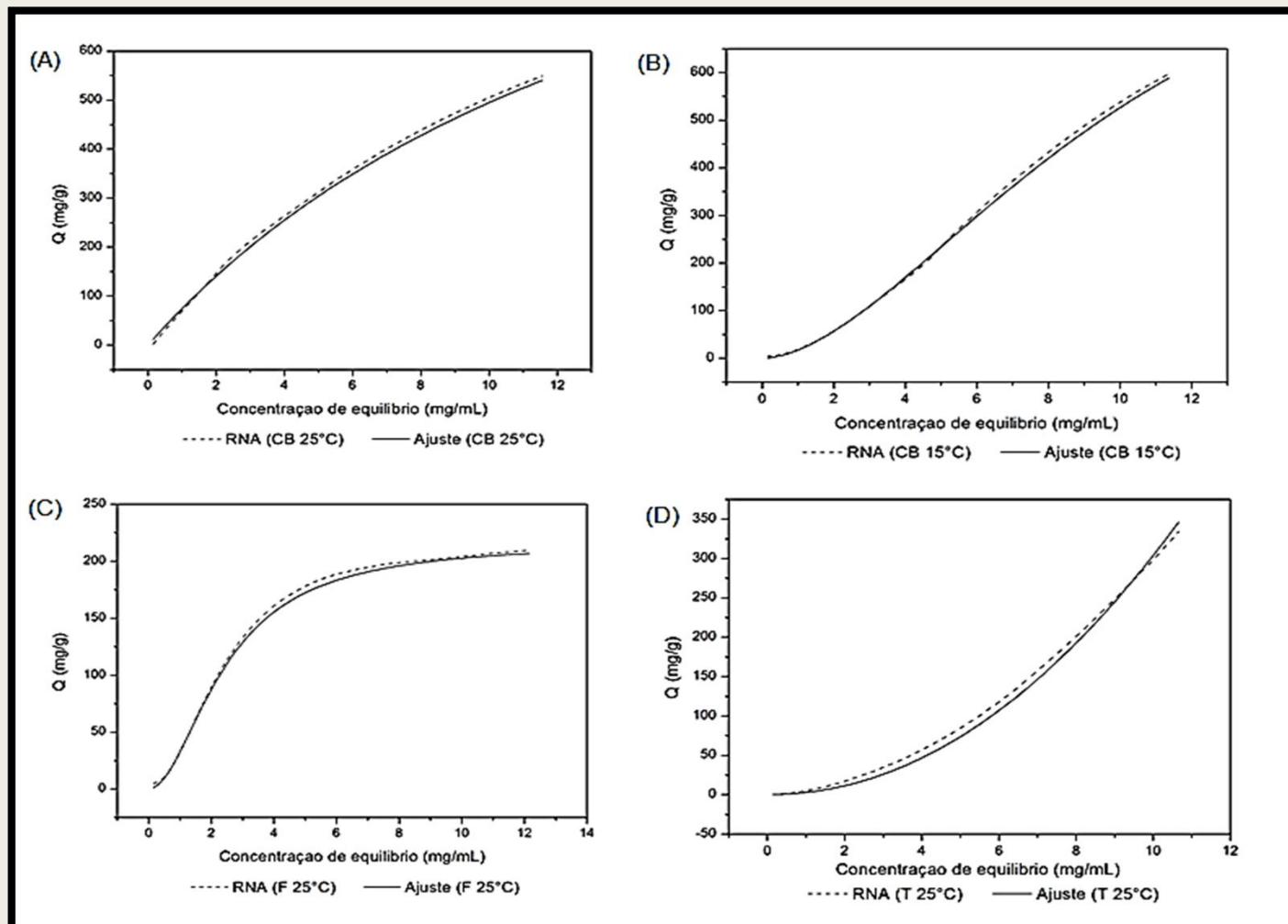
Simulações com o Conjunto 3



**Regulação
Bayesiana**

**3 neurônios na camada
oculta**
20 treinos
9,79% de erro
 R^2 de 0,999

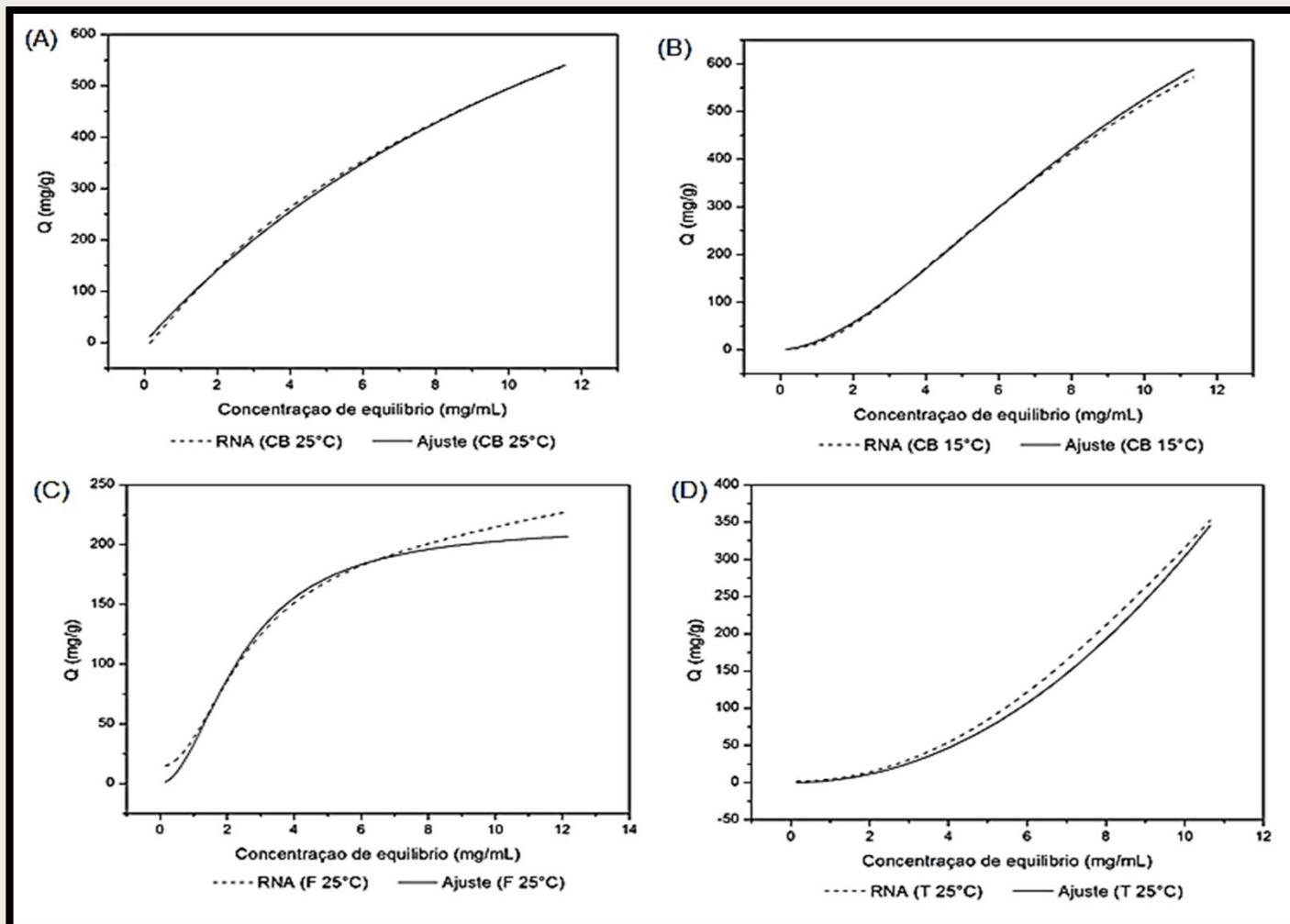
Simulações com o Conjunto 3



**Levenberg-
Marquardt**

**9 neurônios na camada
oculta**
20 treinos
10,36% de erro
 R^2 de 0,999

Simulações com o Conjunto 3



***Resilient
Backpropaga***

**9 neurônios na camada
oculta**
40 treinos
21,12% de erro
 R^2 de 0,998

Overfitting

Mas os melhores resultados para treinamento e validação não haviam sido com outros valores de #Neurônios?



Possível justificativa: ***overfitting*** (sobre-ajuste)

- A rede memoriza os dados de treinamento ao invés de extrair as características gerais que permitiriam a generalização dos dados.

Comparando com outros resultados...

- Morse *et. al* (2011) → Estudou a modelagem do comportamento típico de quatro modelos de isotermas de adsorção (Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich e Toth) para uma única estrutura de rede neural de uma camada oculta.
 - *Melhores resultados para 3 neurônios (T constante) e 4 neurônios (efeito de T incluso) na camada oculta;*
 - *Problemas de sobre-ajuste com 6 neurônios com efeito de T incluso.*
- Schmitz e Bresolin (2014) → Estudou a predição das isotermas de adsorção de IgG humana em membranas Ni(II)-IDA-PEVA por redes neurais artificiais.
 - *Apenas 2 neurônios na camada oculta já levavam a bons resultados na predição de isotermas a duas temperaturas diferentes (dados advindos do modelo ajustado).*

CONCLUSÕES

Conclusões

De 119,60 a 1447,24mg/g

- **Alta capacidade de adsorção** da IgG humana em matriz de quitosana/alginato
- O uso de **corantes** – no geral - mostrou valores de capacidade máxima de adsorção mais significantes do que os valores obtidos pelos experimentos de adsorção sem corantes, para as temperaturas estudadas;
 - A 15°C
 - sem corantes: 353,68mg/g
 - com corantes: 1014,47mg/g
- A **influência da temperatura** na capacidade de adsorção da proteína: **não definida**
 - *Para o experimento sem corantes com o tampão MOPS e com o Cibacron Blue em tampão fosfato: o aumento da temperatura diminuiu a capacidade de adsorção;*
 - *Para o experimento sem corante e com o Reativo Verde ambos com o tampão fosfato: as maiores capacidades de adsorção foram nas temperaturas de 37°C.*

Conclusões

- Possivelmente, há formação de multicamada: **aumento da capacidade de adsorção**
 - $n > 1$ nos ajustes pelo modelo de Langmuir-F
- Processo de adsorção de IgG em matriz de quitosana/alginato é **espontâneo, favorável e contribui para a desordem do sistema**
 - $\Delta S > 0$
 - $\Delta G_{\text{máx}} < 0$

Conclusões

- Modelagem em RNA
 - *Eficiente na simulação e predição dos resultados*
 - *Melhores resultados nas simulações com um **baixo número de neurônios** na camada oculta*
 - *O número de treinos **não interfere** de maneira significativa na estabilização alcançada por cada técnica e/ou algoritmo*
 - *O modelo autorregressivo com entrada exógena não-linear (**NARX**) teve a **maior assiduidade das simulações** (R^2 de 0,998 a 0,999) seguido a ordem: Regulação Bayesiana > Levenberg-Marquardt > Resilient Backpropagation.*

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos



Processo nº 2014/23893-3
Processo nº 2018/02952-2



CONCURSO UNIFESP

Oportunidade de Concurso

- Área de Engenharia Química – Síntese e Simulação de Processos Químicos
- Requisitos: Graduação e Doutorado em Engenharia Química
- PROFESSOR EFETIVO: Cargo de Professor Adjunto A, nível I
- Inscrições até 16/05/2018 às 16 h
- Edital completo: **<http://concurso.unifesp.br/editais/edital168-2018.htm>**

MESTRADO EQ UNIFESP

Oportunidade para Mestrado em EQ

- A Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Paulo torna público que estão abertas as inscrições para o Processo Seletivo de candidatos às vagas de Aluno Regular para o curso de **mestrado** com ingresso no 2º semestre de 2018.
- Cronograma:
 - 23/04 à 25/05/2018: *Período de inscrições*;
 - 06/06/2018: *Divulgação das inscrições deferidas*;
 - 18/06/2018: *Realização da Prova de Conhecimentos Específicos e Prova de Inglês*;
 - 18/07/2018: *Divulgação do resultado do Processo Seletivo para Aluno Regular*;
 - 23/07 à 27/08/2018: *Período de matrícula para os candidatos aprovados*.
- Mais informações em: <http://ppgeq.sites.unifesp.br/>

Dúvidas? Perguntas?



**OBRIGADO PELA
ATENÇÃO!**

igor.bresolin@gmail.com