



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE  
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**SEPARAÇÃO DA PROTEÍNA ALBUMINA DE SORO BOVINO UTILIZANDO  
HIDROXIAPATITA E CARVÃO ATIVO DE BABAÇU (*Orbignya martiana*)**

**MÁRCIA REGINA RIBEIRO ALVES**

**PALMAS - TO  
MAIO/2016**

**MÁRCIA REGINA RIBEIRO ALVES**

**SEPARAÇÃO DA PROTEÍNA ALBUMINA DE SORO BOVINO UTILIZANDO  
HIDROXIAPATITA E CARVÃO ATIVO DE BABAÇU (*Orbignya martiana*)**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

**Orientador:** Prof. Dr. ABRAHAM DAMIAN GIRALDO ZUÑIGA.

**Coorientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. RITA DE CÁSSIA SUPERBI DE SOUSA

**PALMAS - TO**

**MAIO/2016**

**FICHA CATALOGRÁFICA****Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

A474s Alves, Márcia Regina Ribeiro.

Separação da proteína albumina de soro bovino utilizando hidroxiapatita e carvão ativo de babaçu (*Orbignya martiana*). / Márcia Regina Ribeiro Alves. – Palmas, TO, 2016.

108 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós Graduação (Doutorado) em Biodiversidade e Biotecnologia, 2016.

Orientador: Abraham Damian Giraldo Zuñiga

Coorientadora : Rita de Cássia Superbi de Sousa

1. Adsorção. 2. Albumina de soro bovino. 3. Hidroxiapatita. 4. Babaçu. I. Título

**CDD 660.6**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MÁRCIA REGINA RIBEIRO ALVES

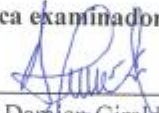
SEPARAÇÃO DA PROTEÍNA ALBUMINA DE SORO BOVINO UTILIZANDO  
HIDROXIAPATITA E CARVÃO ATIVO DE BABAÇU (*Orbignya martiana*)


Tese de doutorado apresentada ao Curso de  
Doutorado do Programa de Pós-Graduação em  
Biodiversidade e Biotecnologia da Rede  
BIONORTE, na Universidade Federal do  
Tocantins, como requisito parcial para a obtenção  
do Título de Doutor em Biotecnologia.


Orientador: Prof. Dr. ABRAHAM DAMIAN GIRALDO ZUÑIGA

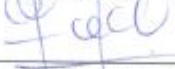
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> RITA DE CÁSSIA SUPERBI DE SOUSA


Banca examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Abraham Damian Giraldo Zuñiga - UFT

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda – UFT

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Donizete Xavier da Silva – UFT

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Aroldo Arévalo Pinedo – UFT

  
\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Caroline Roberta Freitas Pires - UFT

Resultado: Aprovada (x)

Reprovada ( )

PALMAS - TO  
MAIO/2016

## DEDICATÓRIA

Ao meu pai, *in memorium*, Veir, minha mãe, Marly, aos meus irmãos, Vera Lúcia, Márcio, Válber e a minha amiga Célia. Dedico este trabalho com todo amor e carinho.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela vida e por proporcionarem a base para a minha educação. Agradeço em especial ao meu pai *in memorium* pelo apoio incondicional desde o início da caminhada. Aos queridos irmãos que sempre me apoiaram nos momentos mais difíceis da minha vida.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Abraham Damian G. Zuñiga, e Prof<sup>ra</sup> Dr<sup>a</sup> Rita de Cássia Superbi de Sousa, do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Viçosa - UFV, por todo o apoio, incentivo, paciência, ensinamentos.

Aos professores desta banca que acompanharam o meu doutoramento, incentivaram a sua execução e examinaram este trabalho. Aos professores da Universidade Federal do Tocantins (Bionorte) pelos ensinamentos que me deram uma base sólida para realizar este trabalho.

A todas as pessoas da Universidade Federal de Viçosa pelo apoio na realização do trabalho em especial, Antônio Lacetá, que contribui na realização de algumas análises.

Aos amigos estiveram sempre ao meu lado no laboratório, incentivando e ajudando experimentos.

Ao LACEN-TO, por ter me apoiado nesta jornada durante todo o tempo.

Sempre a Deus por permitir a realização de um desejo de contribuir mesmo que de forma pequena ao desenvolvimento da Ciência e da Sociedade.

## EPÍGRAFE

*“A mente que se abre a uma nova idéia, jamais volta ao seu tamanho original”*

*(Albert Einstein)*

## SUMÁRIO

	<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	ix
	<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	x
	<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	xii
	<b>RESUMO.....</b>	xiii
	<b>ABSTRACT.....</b>	xiv
	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	15
1.	<b>REVISÃO DE BIBLIOGRAFICA.....</b>	17
1.1	<b>SORO DO LEITE.....</b>	17
1.1.1	Aplicações e benefícios das proteínas do soro de leite.....	18
1.2	<b>ALBUMINA DO SORO BOVINO (BSA).....</b>	20
1.3	<b>ADSORVENTES.....</b>	23
1.3.1	Hidroxiapatita.....	24
1.3.1.1	Aplicações da hidroxiapatita.....	26
1.3.2	Babaçu.....	27
1.3.2.1	Carvão ativo.....	29
1.5	<b>ALGUNS MÉTODOS DE SEPARAÇÃO DE PROTEÍNAS.....</b>	29
1.6	<b>ADSORÇÃO.....</b>	30
1.6.1	Equilíbrio de adsorção.....	31
1.6.2	Isotermas de adsorção.....	32
1.6.2.1	Langmuir.....	34
1.6.2.2	Freundlich.....	35
1.6.2.3	Jovanovic.....	36
1.7	<b>FATORES IMPORTANTES NO FENÔMENO DE ADSORÇÃO DE PROTEÍNAS.....</b>	36
1.7.1	Proteínas.....	37
1.7.1.1	Peso molecular.....	37
1.7.1.2	Concentração de proteínas.....	38
1.7.1.3	Concentração da solução.....	38
1.7.1.4	Estruturas das proteínas.....	38
1.7.1.5	Forças intermoleculares.....	39
1.7.2	pH.....	39
1.7.3	Temperatura.....	40
1.7.4	Concentração de sal.....	41
1.7.5	Influência dos adsorventes.....	42
1.8	<b>POTENCIAL ZETA (Pz).....</b>	43
2.	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	45
3.	<b>OBJETIVOS.....</b>	47
3.1	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	47
3.2	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	47
4.	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	48
4.1	<b>AMOSTRAS E REAGENTES.....</b>	48
4.2	<b>PREPARO DOS ADSORVENTES.....</b>	49
4.2.1	Hidroxiapatita sintética (HAS).....	49
4.2.2	Carvão ativo de babaçu (CAB).....	49
4.3	<b>FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA APLICADA NO TRABALHO..</b>	50
4.4	<b>CINÉTICA DE ADSORÇÃO.....</b>	51
4.5	<b>DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ADSORÇÃO DA PROTEÍNA</b>	52



4.6	POTENCIAL ZETA (Pz).....	52
4.7	ISOTERMAS DE ADSORÇÃO.....	53
4.7.1	Efeito do pH .....	53
4.7.2	Efeito da concentração de NaCl.....	54
4.8	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	55
5.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	56
5.1	CINÉTICA DE ADSORÇÃO.....	56
5.2	DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ADSORÇÃO DA PROTEÍNA	61
5.3	POTENCIAL ZETA (Pz).....	62
5.4	ISOTERMAS DE ADSORÇÃO.....	63
5.4.1	Efeito do pH .....	64
5.4.2	Efeito da concentração de NaCl.....	72
6.	<b>CONCLUSÕES</b> .....	77
7.	<b>SUGESTÕES</b> .....	78
8.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	79
	<b>ANEXOS</b> .....	97
	Processo da Patente depositada INPI: <b>BR 10 2016 006987- 4</b> .....	98
	Artigo: The process of separating bovine serum albumin using hydroxyapatite and active babassu coal ( <i>Orbignya martiana</i> ).....	99

**LISTA DE ABREVIATURAS**

BSA	Albumina de soro bovino
pI	Ponto isoelétrico
<i>Nm</i>	nanômetros
HA	Hidroxiapatita comercial
HAS	Hidroxiapatita sintética
CAB	Carvão ativo de babaçu
Q	Quantidade de proteína adsorvida por unidade de massa do adsorvente ( $\text{mg g}^{-1}$ )
$q_m$	Quantidade máxima de proteína adsorvida ( $\text{mg g}^{-1}$ )
Kd	Constante de equilíbrio da isoterma de Langmuir ( $\text{mg mL}^{-1}$ )
C	Concentração de proteína na fase líquida ( $\text{mg mL}^{-1}$ )
$C_0$	Concentração inicial de adsorbato ( $\text{mg mL}^{-1}$ )
b	Constante de equilíbrio da isoterma de Freundlich ( $\text{mg mL}^{-1}$ )
Pz	Potencial zeta

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Unidade básica da proteína formando o esqueleto polipeptídico. R1 e R2 simbolizam o radical.....	21
FIGURA 2	Estrutura tridimensional da BSA.....	21
FIGURA 3	Classificação do tamanho dos poros.....	24
FIGURA 4	Estrutura molecular (a) e química (b) da hidroxiapatita (HA) – célula unitária.....	25
FIGURA 5	Representação do esquema de origem da carga negativa da superfície de HA e o processo da origem da formação do material orgânico em solução tamponada.....	26
FIGURA 6	Formação do complexo HA-Ca-albumina para explicar a fixação desta proteína em função do pH da solução.....	26
FIGURA 7	Componentes e composição média de frutos de babaçu (% peso).....	28
FIGURA 8	Representação gráfica das formas de isotermas de adsorção.....	33
FIGURA 9	Esquema da dupla camada elétrica formada na superfície de uma partícula carregada.....	44
FIGURA 10	Fluxograma da metodologia aplicada no trabalho.....	50
FIGURA 11	Cinética de adsorção de BSA sobre a superfície da hidroxiapatita comercial nos pHs (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). (a). Curva de $C \cdot Co^{-1}$ versus tempo (min), a 25 °C por 24 h e (b). Modelos cinéticos de Pseudo 1ª ordem e Pseudo 2ª ordem.....	56
FIGURA 12	Cinética de adsorção de BSA sobre a superfície da hidroxiapatita sintética nos pHs (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). (a). Curva de $C \cdot Co^{-1}$ versus tempo (min), a 25 °C por 24 h e (b). Modelos cinéticos de Pseudo 1ª ordem e Pseudo 2ª ordem.....	57
FIGURA 13	Cinética de adsorção de BSA sobre a superfície do carvão ativo de babaçu nos pHs (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). (a). Curva de $C \cdot Co^{-1}$ versus tempo (min), a 25 °C por 24 h e (b). Modelos cinéticos de Pseudo 1ª ordem e Pseudo 2ª ordem.....	57
FIGURA 14	Isotermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais.....	64
FIGURA 15	Isotermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais.....	65
FIGURA 16	Isotermas de adsorção de BSA sobre a hidroxiapatita sintética em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais.....	65
FIGURA 17	Isotermas de adsorção de BSA sobre a hidroxiapatita sintética em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais.....	66

Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais

- FIGURA 18 Isotermas de adsorção de BSA sobre o carvão ativo de babaçu em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais..... 66
- FIGURA 19 Isotermas de adsorção de BSA sobre o carvão ativo de babaçu em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais..... 67
- FIGURA 20 Isotermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) na ausência e presença de NaCl a 25 °C para os ajustes do modelo de Langmuir. Os símbolos representam os dados experimentais..... 72
- FIGURA 21 Isotermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) na ausência e presença de NaCl a 25 °C para os ajustes do modelo de Langmuir. Os símbolos representam os dados experimentais..... 73

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição do leite e soro de leite bovino.....	17
TABELA 2	Propriedades de proteínas do soro de leite bovino.....	18
TABELA 3	Principais funções de algumas proteínas do soro de leite bovino.....	19
TABELA 4	Composição de aminoácidos da molécula de BSA.....	22
TABELA 5	Alguns fatores que influenciam no processo de adsorção de proteínas.....	43
TABELA 6	Comportamento de estabilidade de colóides com valores de potencial zeta..	44
TABELA 7	Reagentes utilizados nos experimentos.....	48
TABELA 8	Modelos e parâmetros cinéticos para a adsorção da BSA sobre a hidroxiapatita comercial.....	57
TABELA 9	Modelos e parâmetros cinéticos para a adsorção da BSA sobre a hidroxiapatita sintética.....	58
TABELA 10	Modelos e parâmetros cinéticos para a adsorção da BSA sobre o carvão ativo de babaçu.....	58
TABELA 11	Concentração na solução (C), capacidade adsortiva (q) e eficiência de adsorção (efic) da albumina de soro bovino (BSA) sobre a Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) após 24 h a 25 °C nos pH (4,0, 5,0, 6,0 e 7,0).....	60
TABELA 12	Potencial Zeta (Pz) obtido para a hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB).....	61
TABELA 13	Parâmetros de isotermas de adsorção da hidroxiapatita comercial sobre a albumina de soro bovino (BSA) a 25 °C nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) conforme os modelos Langmuir, Freundlich e Jovanovic.....	68
TABELA 14	Parâmetros de isotermas de adsorção da hidroxiapatita sintética sobre a albumina de soro bovino (BSA) a 25 °C nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) conforme os modelos Langmuir, Freundlich e Jovanovic.....	69
TABELA 15	Parâmetros de isotermas de adsorção do carvão ativo de babaçu sobre a albumina de soro bovino (BSA) a 25 °C nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) conforme os modelos Langmuir, Freundlich e Jovanovic.....	70
TABELA 16	Coefficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB), em pH 4,0 na ausência e presença de NaCl.....	73
TABELA 17	Coefficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB), em pH 5,0 na ausência e presença de NaCl.....	73
TABELA 18	Coefficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB), em pH 6,0 na ausência e presença de NaCl.....	73
TABELA 19	Coefficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB), em pH 7,0 na ausência e presença de NaCl.....	74

## RESUMO

ALVES, Márcia Regina Ribeiro. **Separação da proteína albumina de soro bovino utilizando hidroxiapatita e carvão ativo de babaçu (*Orbignya martiana*)**. 2016. 108 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2016.

## RESUMO

Atualmente observa-se um aumento do interesse no processo de separação de proteínas individuais do soro de leite a partir de diferentes adsorventes devido à sua aplicabilidade universal. A necessidade do uso de adsorventes com custos mais baixos na produção industrial tem sido importante para os processos de separação. A albumina de soro bovino (BSA) é uma proteína presente no soro de leite bovino e tem sido estudada em função de suas qualidades funcionais e nutricionais para fins de aproveitamento biotecnológico. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar o processo de separação desta proteína em diferentes pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0), concentrações (0,0 a 7,0 mg g<sup>-1</sup>) e concentração de NaCl no processo adsorptivo. Para a separação foram utilizados método de adsorção, com utilização de hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB). Inicialmente foram realizados estudos cinéticos dos modelos de Pseudo 1ª ordem e Pseudo 2ª ordem. Foi também realizada a eficiência do processo adsorptivo. A caracterização foi feita através de análises do potencial zeta nos adsorventes estudados. Para as isotermas, foram realizados estudos de dados de equilíbrio através de modelos de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. O efeito da concentração de NaCl, foi avaliado sem utilização do sal e a (1,0 mol L<sup>-1</sup>) para o modelo de Langmuir. Os resultados cinéticos foi melhor representado no modelo de Pseudo 2ª ordem com características de quimissorção. A eficiência foi mais satisfatória em pH 4,0 para HA com 74,3 %, HAS com 68,7 %, e CAB sendo obtido 37,3%. As cargas obtidas de potencial zeta variaram entre (-6,6 e -42,8mV). Os resultados para o pH 4,0 foram melhores, sendo que, a capacidade máxima de adsorção (q<sub>m</sub>): q<sub>m</sub> = 85,53 mg g<sup>-1</sup>, 68,96 mg g<sup>-1</sup> e 36,18 mg g<sup>-1</sup> para a HA, HAS e CAB, respectivamente. Para os três adsorventes foi observado que o q<sub>m</sub> de BSA diminuiu com o aumento da concentração de NaCl. Para os pH (4,0; 6,0 e 7,0) o (q<sub>m</sub>) diminuiu à medida que o pH aumentou indicando que ligações eletrostáticas e grupos funcionais da superfície dos adsorventes contribuíram para essa a redução, sobretudo para o CAB foi encontrada diferença estatística significativa (p<0.05).

**Palavras-Chave:** Adsorção, Albumina de soro bovino, Hidroxiapatita, Babaçu, Potencial zeta

## ABSTRACT

ALVES, Márcia Regina Ribeiro. **The process of separating bovine serum albumin using hydroxyapatite and active babassu coal (*Orbignya martiana*)**. 2016. 108 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2016.

## ABSTRACT

Currently there has been an increased interest in the separation process of the individual whey proteins from different adsorbents, this is due to its universal applicability. The need to use adsorbents with lower costs in industrial production has been important for the separation process. The bovine serum albumin (BSA) is a protein present in bovine milk whey and has been studied as a function of their functional and nutritional qualities for biotechnological utilization purposes. This work was developed to study the process of separation of this protein at different pH (4.0 to 7.0), concentrations (0.0 to 7.0 mg g<sup>-1</sup>) and NaCl concentration in the adsorptive process. For separation were used adsorption method, using commercial hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (SAH) and activated carbon babassu (CAB). Initially it was performed kinetic studies of Pseudo 1st order models and Pseudo 2nd order. adsorptive efficiency of the process was also carried out. The characterization was done by analysis of the zeta potential of the adsorbents studied. For isotherms, equilibrium data were performed studies using Langmuir, Freundlich and Jovanovic. The effect of NaCl concentration was evaluated without the use of salt and (1.0 mol L<sup>-1</sup>) to the Langmuir model. The kinetic results were better represented in the Pseudo 2nd order model with chemisorption characteristics. The efficiency was improved at pH 4.0 for HA with (74.3%), with hypertension (68.7%) and CAB are obtained (37.3%). The fillers obtained from zeta potential ranging from (-6.6 and -42,8mV). The results for pH 4.0 were better, and the maximum adsorption capacity (q<sub>m</sub>): q<sub>m</sub> = 85.53 mg g<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> 68.96 mg and 36.18 mg g<sup>-1</sup> for HA, HAS and CAB respectively. For the three adsorbents noted that (q<sub>m</sub>) BSA decreased with increasing NaCl concentration. For the pH (4,0; 6,0 and 7,0), It was observed that the (q<sub>m</sub>) decreased as the pH increased indicating that electrostatic bonds and functional groups on the surface of adsorbents contributed to this reduction, particularly for the CAB, for a statistically significant difference was found (p<0.05).

**Keywords:** Adsorption, Bovine Serum Albumin, Hydroxyapatite, babassu, zeta potential

## INTRODUÇÃO

A produção mundial de soro de leite foi estimada em 190 milhões de toneladas ao ano (CUNHA, 2012). As proteínas de soro movimentam anualmente cerca de US\$ 3,8 bilhões (CARVALHO, et al., 2013). Apesar disso, no Brasil o soro de leite ainda é considerado um subproduto da indústria de laticínio, sendo também subutilizado, tendo baixo valor econômico devido ao seu descarte inadequado (alimentação de suínos e efluentes), apesar de ser considerada uma importante fonte de proteínas com elevado valor nutricional e biotecnológico (ALBREHT; VOVK, 2012; BESSELINK, et al., 2015). Em função disso, estudos têm sido realizados com o intuito do aproveitamento de soro com alto valor agregado. O subproduto (soro) pode ser recuperado para uso em diversas indústrias (ALBREHT; VOVK, 2012; CAO, et al., 2012; SMITHERS, 2008).

A albumina de soro bovino (BSA) apresenta baixo custo em relação a outras proteínas, tem ampla disponibilidade, semelhança estrutural e funcional com a albumina de soro humano, com isso possibilitam diversas aplicações biotecnológicas (TSAI, et al., 2011). Em função destes aspectos, a separação de BSA é extremamente importante na área de biotecnologia (KANDORI, et al., 2013; ZHAO, et al., 2009). O crescimento nesta área proporcionou um aumento nas pesquisas de grande escala de processos de purificação de proteínas com utilização de diversos adsorventes. Estima-se que mais de 60% do custo total de bioprocessos é devido à recuperação e purificação. Um dos principais desafios na separação de proteínas do soro de leite é a baixa concentração destas e, a complexidade do soro. Em função deste fato, desenvolvimento de métodos capazes de fracionar, sem modificar as proteínas do soro pode contribuir para a recuperação desse importante nutriente (CAPITANI, et al., 2005).

A adsorção é uma técnica amplamente utilizada para separação devido às suas vantagens de operação, além do baixo custo, tempo e eficiência e facilidade no processamento (LI, et al., 2013). O uso de materiais alternativos como hidroxiapatita tem sido utilizado em vários processos de adsorção (MAVROPOULOS, et al., 2011, SOUSA, et al., 2014), porém poucos trabalhos são encontrados com carvão ativo e as respectivas interações com proteínas (EL'TEKOVA, et al., 2013; OLIVEIRA, et al., 2015; 014; PEREIRA, et al., 2014).

A hidroxiapatita é um adsorvente que apresenta fórmula  $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ , é considerada uma biocerâmica bastante utilizada na separação de biomoléculas (ZHAO, et al., 2009). É conhecida como fosfato de cálcio alcalino sintético, estável a uma larga faixa de pH



e temperatura. Este adsorvente tem uma elevada afinidade com as proteínas (SHEN, et al., 2008). Outro adsorvente utilizado, o carvão de babaçu (*Orbignya martiana*), é oriundo de uma palmeira nativa da região norte do Brasil, ocupando elevadas extensões de terras com coberturas florestais, sendo um recurso renovável de imenso potencial energético (TOBASA, 2016). É um material carbonáceo que pode ser utilizado no processo de separação da proteína (OLIVEIRA, et al., 2015).

No processo de separação alguns aspectos influenciam a adsorção das proteínas como concentração, o pH da solução, interações entre as moléculas, além dos grupos funcionais, por isso, estudos têm sido realizados nos últimos anos com o intuito de examinar o efeito de tais condições experimentais sobre a adsorção de proteínas (OLIVEIRA, et al., 2015; SHEN, et al., 2008). Estudos de interações entre superfícies hidrofílicas, hidrofóbicas além de interações eletrostáticas, entre grupos com cargas que estão disponíveis em uma solução tampão foram realizados (MAVROPOULOS, et al., 2011; OLIVEIRA, et al., 2015; SWAIN; SARKAR, 2013). Trabalhos com carvão ativo de babaçu foram realizados e mostraram as interações entre grupos funcionais e proteínas, sendo verificada a retração da capacidade de adsorção (PEREIRA, et al., 2014; OLIVEIRA, 2015). Porém, mais estudos são necessários para o melhor entendimento devido a grande complexidade e as interações dinâmicas entre proteína e a superfície do adsorvente (FONTAN, et al., 2013).

Neste trabalho, a BSA foi escolhida como um modelo de proteína porque já é bem utilizada em estudos de adsorção, apresenta boa estabilidade, disponibilidade, elevada pureza e solubilidade em água. A hidroxiapatita foi usada devido à alta afinidade com as proteínas, além da pureza e disponibilidade do material adsorvente. O carvão ativo de babaçu foi proposto também em função da disponibilidade, possibilidade de agregar valor a um subproduto, já que é pouco utilizado. Durante a pesquisa, foi realizada a caracterização através do potencial zeta, onde foram verificadas as cargas na superfície dos adsorventes, além disso, a taxa de equilíbrio e de adsorção foi investigada, sendo analisado o comportamento em função das cargas da proteína e dos adsorventes.

Modelos de isotermas foram utilizadas para estudar o comportamento no equilíbrio de adsorção na ausência e presença de Cloreto de Sódio (NaCl). A adsorção foi observada através de modelos cinéticos com métodos de regressão não-linear.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 SORO DE LEITE

Na indústria de laticínios, a palavra soro é usada para definir o líquido esverdeado que permanece em solução após a precipitação das caseínas (formação de coalho) durante o processamento do queijo. É uma substância líquida aquosa obtida a partir do processo de fabricação de queijos. O soro corresponde a 85-90% do volume de leite usado neste processo conforme cita Albreht; Vovk, (2012), sendo considerado um subproduto do leite, além de ter baixo valor econômico devido a sua má utilização.

A produção mundial de soro de leite foi estimada em 190 milhões de toneladas ao ano (CUNHA, 2012). A produção anual média é de mais de 4 bilhões de litros deste subproduto no Brasil (ROSA, et al., 2015). No Tocantins a produção do soro de leite é estimada em 7.132,295 litros de soro, em função quantidade e estimativa de produção de queijos nos 18 laticínios (ADAPEC, 2009). Estes dados imprecisos sobre a disponibilidade de soro de leite no Brasil é confirmado em função da quantidade de queijos produzidos em pequenas empresas, que sem estruturas para processamento do soro, destinam o subproduto derivado do queijo para alimentação animal e o excedente é descartado em rios, como descreve o Instituto de Economia Agrícola, (2013). O soro de leite apresenta grande importância, tanto em função do elevado volume produzido, quanto à sua rica composição nutricional. Estudos têm sido realizados com o intuito do aproveitamento de soro com alto valor agregado. Na tabela 1 são apresentados alguns constituintes presentes no leite e no soro de leite bovino.

**Tabela 1-** Composição do leite e soro de leite bovino

<b>Composição</b>	<b>Leite (g/100g)</b>	<b>Soro (g/100g)</b>
Proteína	3,6	0,65 -1,05
Gordura	3,7	0,05 -0,63
Minerais	0,7	0,37 -0,95
Lactose	4,9	4,5 - 5,3
Sólidos totais	12,9	6,2 - 7,3

Fonte: Smithers et al. (1996); Techninvest, (2000), com adaptações.

Os constituintes do soro de leite bovino como as proteínas, têm aproximadamente 20 % do total das proteínas presentes no leite, tendo como principais componentes a  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg),  $\alpha$ -lactalbumina ( $\alpha$ -La), albumina de soro bovino (BSA) e imunoglobulina (Ig), que representam 50 %, 20 %, 10 % e 10 % da fração do soro de leite, respectivamente. (ALBREHT; VOVK, 2012; SANTOS, et al., 2012; TAVARES; MALCATA, 2013). Na tabela 2 são mostradas as principais características das proteínas do soro de leite.

**Tabela 2** – Propriedades de proteínas do soro de leite bovino.

Proteína	Massa molar (kDa)	Ponto isoeletrico	Concentração (g.L <sup>-1</sup> )
$\beta$ -lactoglobulina	18,3	5,2	2,0 – 4,0
$\alpha$ -lactoalbumina	14,1	4,2 – 4,8	0,6 – 11,7
Albumina de soro bovino (BSA)	69,0	4,6 – 4,9	0,1 – 0,4
Glicomacropéptido	7,0	4,7 – 4,8	1,2 – 1,5
Imunoglobulina	15,0 – 160,0	5,5 – 8,3	0,6 – 1,0
Proteose-peptona	4,1 – 80,0	3,3 – 3,7	1,4
Lactoferrina	78,0	8,2 – 9,0	0,02 – 0,4
Lactoperoxidase	89,0	9,0 – 9,5	0,02

Fonte: Loughney, et al., (2014); Mizubuti, (1994) com adaptações.

### 1.1.1 Aplicações e benefícios das proteínas do soro de leite

Os constituintes presentes no soro de leite, principalmente as proteínas do soro de leite, têm atributos nutricionais, e podem ser utilizados em aplicações biológicas e uso como ingredientes alimentares (SGARBIERI, 2004; SMITHERS, 2008). Além disso, presença de moléculas de peptídeos e proteínas bioativas contribui para este interesse (CAPITANI, et al., 2005; MADUREIRA, et al., 2010). Os peptídeos bioativos podem ser vendidos comercialmente como nutracêuticos, sendo que, um nutracêutico considerado um comestível, que é uma substância que possui benefícios para a saúde ou que podem ser utilizados como ingredientes (TAVARES; MALCATA, 2013). Atualmente se observa um aumento do interesse nos métodos de isolamento de proteínas individuais do soro de leite a partir de diferentes fontes, devido a esta aplicabilidade universal. Para estas as proteínas separadas e purificadas individualmente exibem uma melhor funcionalidade em relação às proteínas nativas misturadas, portanto, há um grande interesse no desenvolvimento de métodos mais

fáceis e mais eficientes para recuperar frações puras de proteínas (SANTOS, et al., 2012). Esta recuperação pode ser utilizada em diversas indústrias (ALBREHT; VOVK, 2012; CAO, et al., 2012; SMITHERS, 2008). Tendo várias possibilidades de utilização do soro na alimentação humana como: produtos de padaria e confeitaria, bebidas não alcoólicas e alcoólicas, produtos infantis e geriátricos, doce de leite, iogurte, temperos, sorvetes, molhos de carne e salsichas, sobremesas geladas e outros (ALBREHT; VOVK, 2012; MIZUBUTI, 1994). Alguns aspectos funcionais de solubilidade, formação e estabilidade de espuma, emulsibilidade, gelificação, formação de filmes e cápsulas protetoras são de grande interesse (ALBREHT; VOVK, 2012; SGARBIERI, 2004). Outros benefícios para a saúde humana são considerados importantes, entre os quais, propriedades antimicrobiana e antiviral fazem parte deste interesse, além de atividade anticâncer (CAO, et al., 2012; GILL; CROSS, 2000; NABET; LINDEN, 2001). A albumina de soro bovino (BSA) é um exemplo de grande aplicação na bioindústria e em laboratórios; várias pesquisas com estas proteínas têm sido realizadas no sentido de demonstrar as aplicações para os concentrados de proteínas do soro e isolados de proteína do soro (IMAFIDON, et al., 1997). Na tabela 3 são apresentados principais funções das proteínas encontradas no soro de leite bovino.

**Tabela 3-** Principais funções de algumas proteínas do soro de leite bovino

<b>Proteínas</b>	<b>Funções</b>	<b>Referências</b>
$\beta$ -Lg	Promove a ligação e o transporte de retinol, vitamina D e ácido palmítico;  Síntese enzimática de prostaglandinas, Anti-hipertensivos, anti-câncer, hipocolesterolémica.	Fox; Mcsweeney, (1998); Tolkach; Kulozik, (2005); Wu, et al., (1999)  Antila, et al., (1991); De Wit; (1998); Gill; Cross, (2000); Hartmann; Meisel (2007); Meisel; Schlimme, (1996); Nagaoka, et al., (2001)
$\alpha$ -La	A ligação de cálcio, absorção síntese lactose, ação junto às células tumorais; atividades bactericida, antitumoral e anti-hipertensiva; Aditivo alimentício, antiviral	De Wit, (1998); Sgarbieri, (2004); Svensson, et al., 2002; Tavares, et al., (2011); Zhivotovsky, et al., (1995)
BSA	Contribui para o transporte, metabolismo, atua na proteção contra ação dos radicais livres (antioxidante), propriedades anti-inflamatórias; Contribuição para a diminuição da pressão osmótica do sangue.	Meisel; Fitzgerald, (2000); Meisel; Schlimme, (1996); Morr; Ha, (1993); Tani, et al., (1993); Tong, et al., (2000); Xi; Fan, (2010)

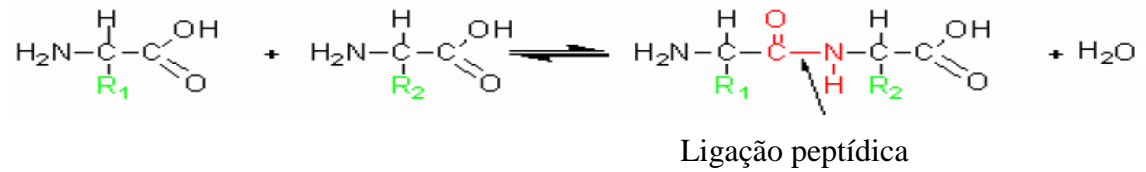
Lenda: ( $\beta$ - Lg) =  $\beta$ -lactoglobulina, ( $\alpha$ -La) =  $\alpha$ -lactalbumina e (BSA) = albumina de soro bovino

Outros benefícios destas proteínas é a alta composição em aminoácidos, alta digestibilidade e considerável biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, sendo caracterizado o alto valor nutricional. Em função desta quantidade importante de aminoácidos essenciais e da elevada qualidade protéica, as proteínas do soro podem aumentar o valor nutricional de alimentos usados na dieta humana (ALBREHT; VOVK, 2012). Como característica, Carrijo e Baracat-Pereira, (2014) citam que os aminoácidos livres são compostos iônicos com uma solubilidade maior em solventes polares que em apolares. Decrevendo ainda que, o ponto isoelétrico (pI), característico de cada aminoácido, corresponde ao valor de pH em que as cargas elétricas da molécula se igualam e se anulam (carga líquida zero).

## 1.2 ALBUMINA DO SORO BOVINO (BSA)

As proteínas consistem de polipeptídeos que são normalmente encontrados em formas globulares ou fibrosas (HAQUE, et al., 2013). A albumina do soro bovino (BSA) apresenta a forma globular e apresenta fórmula química  $C_{2934}H_{4615}N_{781}O_{897}S_{39}$ , tendo resíduos com 99 cargas negativas (Asp+Glu) e 82 resíduos com cargas positivas (Arg + Lys) de acordo como descrito em RCSB PDB (2015). Tem em sua constituição o peptídeo na cadeia molecular presente no soro de leite, apresentando massa de 69 kDa e 583 resíduos de aminoácidos (LOZANO, et al., 2008). Em sua estrutura secundária a maior hélice é  $\alpha$ -hélice e contém 17 ligações de dissulfetos intramoleculares, um grupo tiol livre no resíduo 34 de aminoácido, sulfidril e alta flexibilidade (KADI, et al., 2006; FOX e McSWEENEY, 1998; TARDIOLI, et al, 2003). No estado sólido a estrutura terciária confere à BSA uma forma análoga a um coração (heart-shape) ou um triângulo equilátero (PETERS, 1985).

Os constituintes básicos das proteínas são os  $\alpha$ -aminoácidos que apresentam caráter anfótero e são responsáveis em conjunto, pelas características estruturais e funcionais das moléculas proteicas (CARRIJO; BARACAT-PEREIRA, 2014). As cadeias laterais (R1 e R2) de uma unidade básica da proteína conferem a cada aminoácido suas características químicas próprias. As cadeias laterais são formadas por aminoácidos apolares e polares, carregados positiva ou negativamente. A unidade básica da proteína é mostrada na Figura 1.

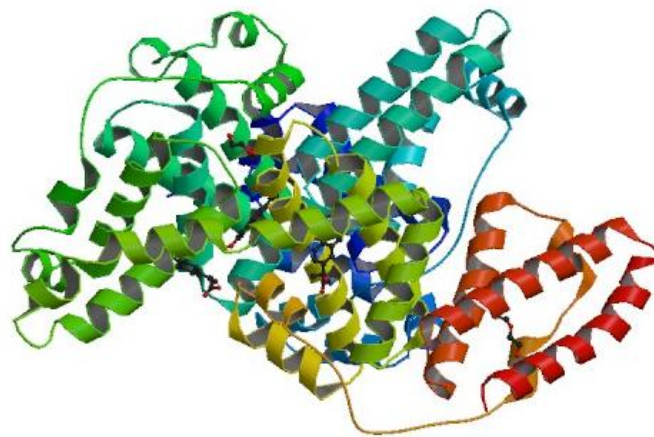


**Figura 1.** Unidade básica da proteína formando o esqueleto polipeptídico. R1 e R2 simbolizam o radical.

Fonte: Alberts et al. (2005), com adaptações.

Ocorrem interações hidrofóbicas e iônicas, ligação de hidrogênio entre as cadeias laterais, inserido em grupos não polares e pontes de dissulfeto covalentes, todos desempenham importante papel na manutenção da estrutura (HAQUE, et al., 2013). Outra característica importante é o ponto isoelétrico (pI) que está entre 4,6 e 4,9 (LOUGHNEY, et al. (2014). Este (pI) é está relacionado ao pH da solução, pois as cargas livres sobre a estrutura da BSA podem se alterar. Valores de pH abaixo do (pI), as proteína apresentam cargas semelhantes, podendo assim apresentar repulsão eletrostáticas de cargas (RABE, et al., 2011).

A conformação global da proteína é uma combinação das estruturas, sendo mostrado pela seqüência primária de aminoácidos. A função das proteínas está fortemente ligada à sua estrutura, sendo que a variedade de estruturas dá origem aos diversos tipos de funções. A seguir é apresentada a Figura 2 que mostra estrutura tridimensional da proteína BSA.



**Figura 2.** Estrutura tridimensional da BSA

Fonte: RCSB PDB, (2015)

As proteínas apresentam diferentes níveis estruturais que podem ser visualizados em uma cadeia polipeptídica, sendo então encontrados quatro tipos de classificação estrutural, conforme a constituição de determinados aminoácidos, do tamanho da cadeia e da configuração espacial da cadeia polipeptídica, sendo estrutura primária, secundária, terciária e

quaternária (CARRIJO e BARACAT-PEREIRA, 2014). Dependendo da composição de aminoácidos, a proteína poderá ter um variado número de grupos carregados, levando a diferentes valores de ponto isoelétrico (pI) e arranjos espaciais, em função de sua estrutura primária, secundária, terciária e quaternária (KOPACIEWICZ, et al., 1983). A seguir, a Tabela 4 mostra a composição de aminoácidos da molécula BSA que a caracteriza.

**Tabela 4** - Composição de aminoácidos da molécula de BSA

Aminoácido	Símbolo	Quantidade	Porcentagem (%)
Ala	A	47	8,1
Arg	R	23	3,9
Asn	N	14	2,4
Asp	D	40	6,9
Cys	C	35	6,0
Gln	Q	20	3,4
Glu	E	59	10,1
Gly	G	16	2,7
His	H	17	2,9
Ile	I	14	2,4
Leu	L	61	10,5
Lys	K	59	10,1
Met	M	4	0,7
Phe	F	27	4,6
Pro	P	28	4,8
Ser	S	28	4,8
Thr	T	33	5,7
Trp	W	2	0,3
Tyr	Y	20	3,4
Val	V	36	6,2
Pyl	O	0	0,0
Sec	U	0	0,0

Fonte: Walker, (2005); Carrijo e Baracat-Pereira, (2014) com adaptações.

Devido ao grande conhecimento da estrutura, função e baixo custo em relação a outras proteínas, a BSA, têm sido muito utilizados em função da ampla aplicação, além de apresentar características de substância modelo para estudar os aspectos físicos e biológicos

da adsorção de uma proteína na superfície sólida. Alguns estudos de adsorção em superfícies de materiais com proteínas do soro de leite foram realizadas (JIN, et al., 2012; LI, et al., 2013; ZHANG, et al., 2011). Estes materiais têm sido utilizados como superfícies adsorventes (GAVARA, et al., 2012; YANG, 2003).

### 1.3 ADSORVENTES

Adsorventes têm sido amplamente utilizados no processo de separação de proteínas. Estudos mostram que os adsorventes necessitam de características importantes para que sejam considerados comercialmente viáveis, entre os quais pode-se citar baixo custo, elevada capacidade de adsorção, além de outras características favoráveis, como seletividade, resistência mecânica, estabilidade térmica, inércia química e reprodutibilidade (GAVARA, et al., 2012).

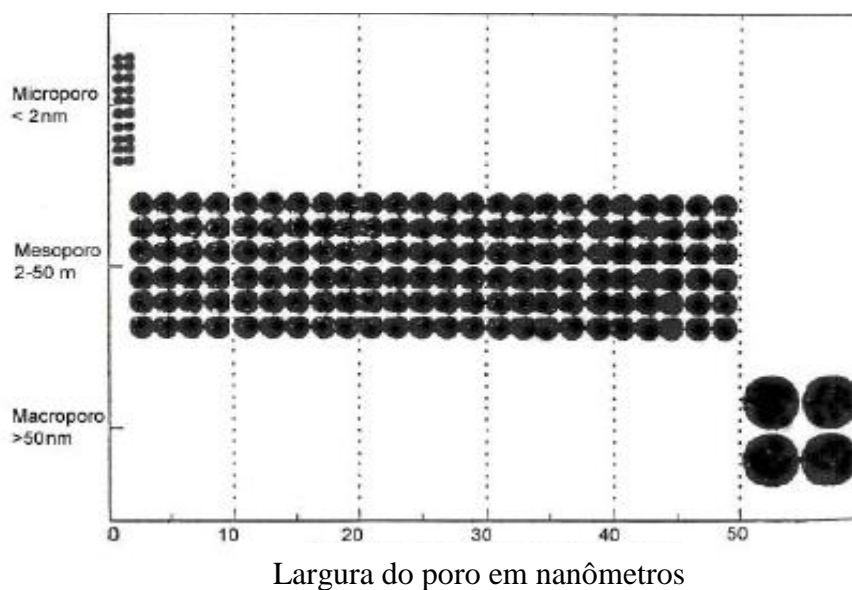
A seleção de um adsorvente adequada para uma dada separação é um problema complexo (YANG, 2003). Além disso, um bom adsorvente deve geralmente possuir um material de estrutura porosa, e o tempo levado para equilíbrio de adsorção a ser estabelecida deve ser tão pequena quanto possível (IUPAC, 1985). Em função das isotermas encontradas, algumas características importantes para o processo de separação são citadas por Yang (1987), sendo:

- i.* A capacidade do adsorvente, na gama de temperaturas de funcionamento e de pressão;
- ii.* O método de pressão de regeneração, tendo à temperatura ou agitação do sorvente aliado a intensidade de oscilação;
- iii.* O comprimento do leito inutilizável e,
- iv.* Os graus de pureza do produto.

A porosidade é um dos aspectos mais importantes para a avaliação de seu desempenho. Segundo a IUPAC (1982), os poros de um adsorvente são classificados em função do diâmetro. A classificação IUPAC dos poros considera as faixas de tamanho que estão especificadas, sendo: Microporos ( $< 2nm$ ); Mesoporos ( $2-50nm$ ); Macroporos ( $> 50nm$ ). A Figura 3 apresenta o tamanho dos poros de acordo com a IUPAC.



## Classificação do tamanho do poro



**Figura 3.** Classificação do tamanho dos poros

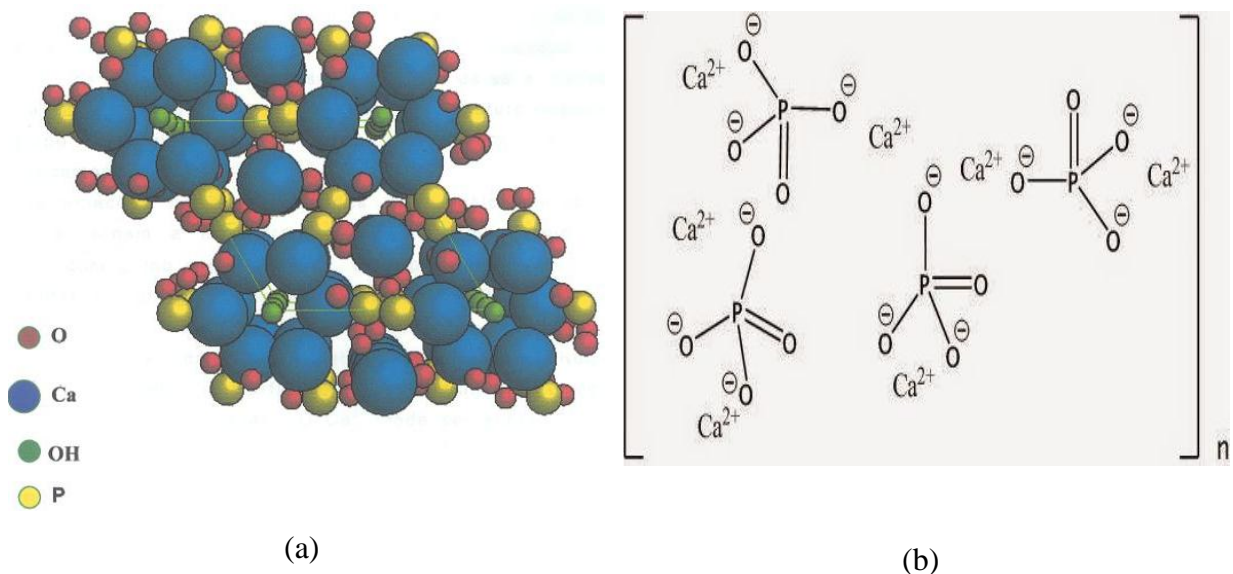
Fonte: IUPAC, (1982).

A estimativa quantitativa da distribuição de tamanho de poro, em especial nos microporos, é um problema importante na caracterização dos sorventes. Além da porosidade da área superficial, tamanho, estabilidade, e, principalmente, os sítios de ligação com os quais o adsorbato possa interagir. Esses parâmetros influenciam na capacidade de cada adsorvente com relação à adsorção de uma molécula. A área específica da superfície é responsável pelo contato entre adsorvente e adsorbato (YANG, 2003).

### 1.3.1 Hidroxiapatita

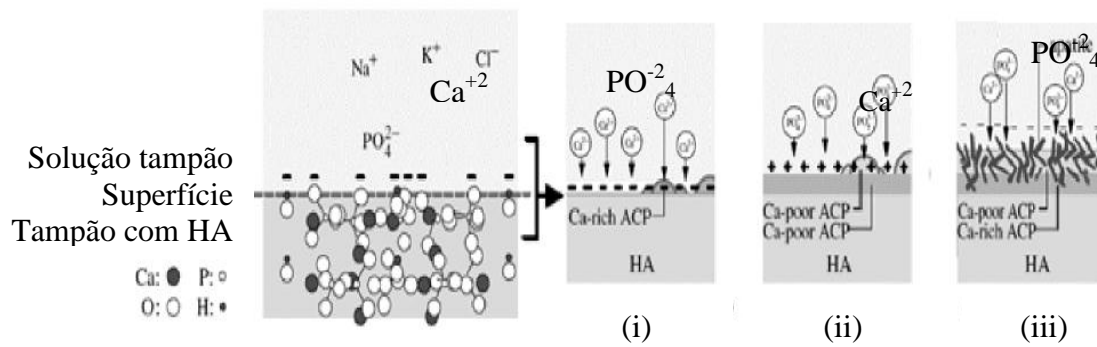
É uma biocerâmica utilizada como adsorventes para a separação de biomateriais, sendo muito utilizado na separação de diferentes proteínas (KANDORI, et al., 2013). Despertam grande interesse devido à sua excelente biocompatibilidade em função da presença de sais de fosfato de cálcio. Entre as cerâmicas com melhor desempenho, está a hidroxiapatita (COSTA, et al., 2009). É o maior constituinte inorgânico do osso e dentes (~ 70%), a hidroxiapatita de cálcio apresenta fórmula química  $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$  e é utilizada em função de sua alta afinidade para proteínas (SHEN, et al., 2008). Esta biocerâmica é bastante conhecida como um fosfato de cálcio alcalino sintético, estável a uma larga faixa de pH e temperatura, e tem sido usado como adsorvente na separação de biopolímeros desde 1950 (VOGT; RUTH, 1997). Tendo bastante uso de hidroxiapatita nos processos de adsorção de

proteínas (LIRA, et al., 2009; KANDORI, et al., 2013; SHEN, et al., 2008; TERCINIER, et al., 2013). Adsorção de proteínas é uma propriedade única da biocerâmica (DUCHEYNE; QIU, 1999; YAN, et al., 1998). A capacidade de adsorção da hidroxiapatita está relacionada à estrutura do poro segundo Kay (1964), e à natureza físico-química da superfície do sólido. Algumas características como porosidade, tamanho dos poros/distribuição e tamanho das partículas também têm impacto sobre a adsorção de proteínas por meio de regulação da área da superfície. A presença de porosidade aumenta grandemente a área de superfície do material e melhora a adsorção de proteína. Zhu, et al., (2009) relataram que a quantidade de proteínas totais é bem adsorvida em poros bifásicos de cálcio e fósforo (Ca-P). A seguir é mostrada na Figura 4, a estrutura da hidroxiapatita.



**Figura 4.** Estrutura molecular (a) e química (b) da hidroxiapatita (HA) – célula unitária.  
Fonte: Almqvist, (199); Kay, et al., (1964)

A formação da apatite ou hidroxiapatita (HA) traz algumas trocas para a apatita na superfície da estrutura, interações entre a hidroxiapatita e os íons de cálcio e fosfato da solução tamponada utilizada. Neste correm três processos envolvendo a formação da apatita como descrito por Yin, et al., (2002). Figura 5 mostra esse processo de formação da hidroxiapatita.



**Figura 5.** Representação do esquema da origem da carga negativa da superfície da HA e o processo da origem da formação do material inorgânico em solução tamponada. Sendo, (i). Adsorção de íons de cálcio (Ca-rico em Apatita-Cálcio- Fósforo (ACP)), ii. Íons fosfato (Ca-pobre em ACP) e, iii. Íons de cálcio e fosfato formando a apatita (HA). Fonte: NATH et al., (2004) com adaptações.

Para uma solução tamponada, os grupos presentes de hidroxila apresentam um comportamento anfótero, assim como os grupos fosfatos estão ionizados em pH diferente e acima de 5,0 (CASA, et al., 2007). A seguir, a Figura 6 apresenta a formação do complexo de hidroxiapatita, cálcio e albumina.



**Figura 6.** Formação do complexo HA-Ca-albumina (BSA) para explicar a fixação desta proteína em função do pH da solução.

A presença de BSA na solução tampão poderá formar um complexo estável entre o cálcio da hidroxiapatita e o grupo carboxílico da proteína, devido a essa alta densidade destes grupos carboxilas sobre a superfície de proteínas.

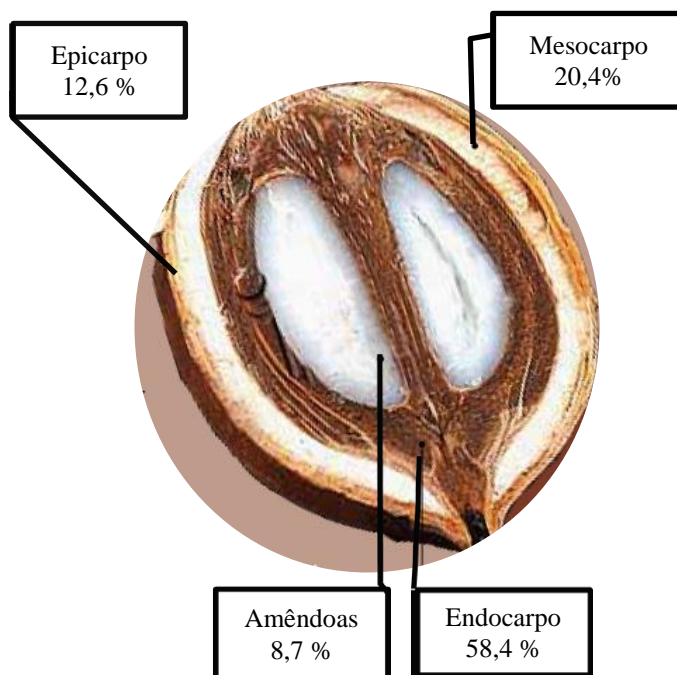
### 1.3.1.1 Aplicações da hidroxiapatita

Um fator que contribui para a hidroxiapatita (HA) ter uma boa estabilidade em um grande número de aplicações é em função da razão molar do cálcio (Ca) e fósforo (P) ser próximo de 1,67. Devido a esta grande afinidade por proteínas, a hidroxiapatita tem sido aplicada como adsorvente (YANG, 2003). Em sua forma sintetizada é muito utilizado em

implantes com fins medicinais apresentando biocompatibilidade e bioatividade da hidroxiapatita (EANES, 1980). A síntese de HA tem sido muito utilizada em função da diversidade do seu uso e as aplicações da hidroxiapatita sintéticas não se restringem somente à área biomédica. Em outras áreas como a ambiental, a hidroxiapatita vem sendo estudada como catalisador na decomposição de compostos orgânicos clorados poluentes provenientes da indústria metalúrgica e da incineração do lixo industrial. Tendo também aplicações tecnológicas, a HA é usada na adsorção de proteínas em sua superfície, adsorvente em cromatografia líquida, como catalisador na decomposição de compostos orgânicos para tratamento de resíduos e remoção de metais pesados (COSTA, et al., 2009; MAVROPOULOS, et al., 2011). Em função da grande afinidade por proteínas, a HA tem sido aplicada como adsorvente em cromatografia (Darton, et al., 2011), processos de adsorção (NOISUWAN, et al., 2011) entre outros (BECKER, et al., 2009; SAFARIK; SAFARIKOVA, 2004). Devido características como baixo custo, não ser tóxico, e que pode ser preparado através de simples operações, oferece a possibilidade de separação seletiva (ROSSANO et al., 2001). Pode ser utilizado em vários métodos de separação (KANDORI et al., 2013). Um dos métodos mais utilizados é a técnica de precipitação, que envolve reações via úmida entre precursores de cálcio e fósforo com controle de temperatura e pH da solução (COSTA, et al., 2009).

### 1.3.2 Babaçu

Uma das espécies de palmeiras com aplicabilidade na indústria extrativista brasileira é o babaçu, a palmeira apresenta excelentes aspectos econômicos, e possui grande valor industrial e comercial, uma vez que é aproveitada integralmente. Esta palmeira oleaginosa também é conhecida cientificamente como *Orbignya martiana* (CARRAZZA, et al., 2012). É encontrada na Região Amazônica, principalmente em extensas formações naturais nos estados do Maranhão, Piauí, Tocantins e Pará (VAINSENER, 2008). A estrutura do coco de babaçu apresenta três camadas, a externa fibrosa (epicarpo); a intermediária, fibrosa-amilácea (mesocarpo); e a interna, lenhosa (endocarpo), na qual estão inseridas as amêndoas. A Figura 7 mostra as camadas e o percentual em peso médio do fruto.



**Figura 7.** Componentes e composição média de frutos de babaçu (% em peso)  
Fonte: Carrazza et al., 2012

O carvão de babaçu é considerado um recurso renovável de imenso potencial energético (TOBASA, 2016). Zylbersztajn, et al., (2000) cita que o babaçu começou a adquirir importância para algumas empresas da indústria siderúrgica, interessadas na possibilidade de utilização do coco carbonizado como carvão vegetal, em substituição ao carvão oriundo de matas nativas. Esta casca do coco, quando ativada, fornece um eficiente carvão, fonte exclusiva de combustível em várias regiões do nordeste do Brasil (MAY, 2000). Entretanto, apesar do potencial atrativo dessa linha de produtos, há conhecimento de apenas uma indústria que utiliza o babaçu de maneira integral. A empresa Tobasa S.A. é detentora da primeira destilaria de álcool de babaçu em escala industrial, produzindo óleo, sabão de coco, farinhas amiláceas, álcool, subprodutos protéicos, carvão ecológico e carvão ativo (PAVLAK, et al., 2007)

Segundo a Tobasa (2016), o carvão de babaçu ativo produzido é oriundo somente do endocarpo do coco de babaçu. Este é constituído essencialmente de microporos e poros de tamanho médio, mantendo, após o processo de ativação, uma elevada dureza e um excelente índice de resistência à abrasão, o que o torna especialmente apto para ser utilizado, dentre outras inúmeras aplicações. Nos últimos anos, os carvões ativos e sintéticos foram utilizados como adsorventes para remoção de biomolécula na fase líquida (DABROWSKI, et al., 2005; SEKARAN, et al., 1996). No entanto, ainda existem poucos dados disponíveis sobre o isolamento das proteínas do soro por adsorção em carvão ativo.

### 1.3.2.1 Carvão ativo

É um material carbonáceo de estrutura porosa e apresenta uma pequena quantidade de heteroátomos, principalmente oxigênio, ligado aos átomos de carbono. Possui uma elevada área superficial específica e porosidade altamente desenvolvida, o que lhe confere a capacidade de adsorver moléculas presentes tanto na fase líquida como gasosa (GORGULHO, et al., 2008; YANG, 2003).

O termo ativo faz referência a um material que teve um acréscimo em uma de suas características físicas, a porosidade. O que se mede a partir desta característica física desenvolvida é a área superficial específica e a distribuição das dimensões dos poros. O carvão ativo comercial tomou sua forma atual desde 1930 (JANKOWSKA, et al., 1991). Seu poder adsorvente é derivado da alta área superficial e da presença de uma variedade de grupos funcionais em sua superfície (YANG; QIU, 2011). O carvão ativo tem sido usado como um adsorvente em processos de separação em função da característica hidrofóbica (YANG, 2003). Tem tido uso também como suportes catalíticos (LI, et al., 2013). Dentre essas aplicações, é destacado o uso como adsorvente, sendo um dos mais utilizados em escala industrial, atualmente, assim como a sílica-gel, a alumina ativada e as peneiras moleculares (BRAGA, 2008). Uma desvantagem da utilização do carvão ativo como adsorvente é o fato de que o seu processo de recuperação ter um relativo custo. Em função disso, existe um crescente interesse na busca de materiais alternativos de baixo custo que possam ser utilizados na sua produção (KAPPEL, et al., 2006).

## 1.5 ALGUNS MÉTODOS DE SEPARAÇÃO DE PROTEÍNAS

Devido ao grande interesse propriedades nutritivas e os diversos benefícios para o humano, as proteínas têm sido muito utilizadas nos processos de separação e purificação (CAO, et al., 2012; TAVARES; MALCATA, 2013). Várias técnicas envolvidas nesta separação são utilizadas. Entre os métodos utilizados, são incluídas a precipitação, ultrafiltração, centrifugação, eletroforese, cromatografia e a adsorção, tem sido amplamente utilizada na separação de proteínas devido a sua relação custo-eficiência, tempo-eficiência e facilidade no processamento (FRANZREB, et al., 2006; JAHANSHAHI, et al., 2008; LI, et al., 2013). A técnica de adsorção é de grande importância para a caracterização de sólidos

porosos, como determinação de área superficial e distribuição de tamanho de poros (ROUQUEROL, et al., 1999).

## 1.6 ADSORÇÃO

O termo adsorção descreve todo tipo de interação de uma substância na superfície externa de um sólido, bem como, na superfície interna de um sólido poroso. A substância fixada na interface é chamada adsorvida e o sólido sobre o qual ocorre a adsorção é adsorvente (MANTELL, 1951). O processo de adsorção consiste no enriquecimento de um ou mais componentes na região da interface sólido-fluido ou no aumento da densidade de um determinado fluido nas vizinhanças dessa interface, ocorrendo a princípio a qualquer temperatura e pressão e para uma infinidade de espécies químicas. Além disso, desempenha papel vital em mecanismos biológicos e em reações de estado sólido. Sendo amplamente utilizada em processos de purificação de proteínas (BARNTHIP; VOGLER, 2012).

É um fenômeno termodinâmico espontâneo e exotérmico, ocorrendo geralmente sem a necessidade de uma reação química (MANTELL, 1951). A adsorção pode ser física ou química, e na maioria dos processos de separação por adsorção a física é mais comum (GARLAND, et al., 2012). São diferenciadas pela natureza da interação entre o fluido e o sólido e consiste na deposição simples da biomolécula sobre um suporte. As moléculas são adsorvidas por interações intermoleculares de menor intensidade, basicamente forças de *Van der Waals* e por forças eletrostáticas. Karajanagi, et al., (2004), cita que essa fraca força de ligação envolvida, a imobilização torna a biomolécula mais susceptível a variações de pH, de temperatura, de solvente e de fortes alterações iônicas. Além disso, não proporciona um aumento da atividade biológica ou estabilidade operacional para um armazenamento em longo prazo.

Adsorção química, também chamada quimissorção, que é a fixação de moléculas na superfície do adsorvente por meio das ligações químicas havendo formação de intermediários, esse tipo de adsorção também envolve um maior conteúdo energético. A adsorção química envolve interações com valores de energia superiores, tais como aqueles que operam na formação de ligações químicas covalentes entre o adsorbato e o adsorvente (FIGUEIREDO, et al., 2008). A quimissorção ocorre formação de ligações químicas entre o adsorbato (molécula do fluido) e o adsorvente.

A adsorção das moléculas de proteínas pode mostrar variação em sua propriedade funcional quando a sua estrutura é modificada. Autores citam que as moléculas da fase fluida são reversíveis e podem ficar retidas na superfície de um sólido por estas forças básicas formando uma camada (monocamada) ou multicamadas de moléculas (YANG, 2003; COULSON; RICHARDSON, 1985). A investigação dos fenômenos de adsorção de proteína sobre superfícies sólidas é importante na determinação da quantidade de proteína adsorvida sobre o material (FONTAN, et al., 2013). Apesar de existirem inúmeros estudos investigativos sobre a adsorção de proteínas e seu mecanismo, estudos sistemáticos dos aspectos individuais das proteínas são considerados complexos, tendo composição química única, assim como estruturas secundárias, terciárias ou quaternárias que podem permitir a preferência na adsorção nas superfícies das diferentes propriedades físico-químicas (BINAZADEH, et al., 2013). Além disso, características como a força e amplitude de interações de superfície de proteínas são dependentes de várias características (BALL, 2004; BINAZADEH, et al., 2013; GARLAND, et al., 2012), o peso molecular (YANG et al., 2010), ponto isoelétrico (CHEN et al., 2010), características de uma solução como o pH, (ELGERSMA, et al, 1992), as cargas e a polaridade das superfícies influenciam a força iônica (BRUNAUER, et al., 1938; LANGMUIR, 1918; NAKANISHI, et al., 2001), resultando na atração e retenção de certas moléculas, da temperatura (NORDE; LYKLEMA; 1978), a superfície rugosa (DELIGIANNI et al., 2001), a sua estrutura (OSTUNI, et al., 2001), a hidrofobicidade (GARLAND, et al., 2012; WONG, et al., 2012), e a natureza química e suas propriedades (MEDER, et al., 2012).

### 1.6.1 Equilíbrio de adsorção

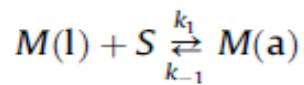
Dados de equilíbrio, comumente conhecidos como isotermas de adsorção, são necessários para a concepção de sistemas de adsorção. Estes dados obtidos do equilíbrio de adsorção são fundamentais para a determinação da quantidade adsorvida, ou seja, a quantidade em massa ou em moles de um determinado fluido retido na superfície de um sólido adsorvente. Este equilíbrio no processo de adsorção geralmente pode ser expresso por uma ou mais de uma série de modelos de isotermas (BALLERSTEIN, et al., 2010). É um conceito dinâmico adotado quando a taxa em que moléculas adsorvem na superfície sólida é igual à taxa que elas desorvem (COULSON; RICHARDSON, 1996).

A relação entre a quantidade adsorvida e a pressão ou a concentração de equilíbrio, à temperatura constante, é conhecida como isoterma de adsorção (ROUQUEROL,



et al., 1999). Esta relação descreve a distribuição de moléculas entre o adsorvente de fase sólida e a fase líquida no estado de equilíbrio (BALLERSTEIN, et al. 2010). Sendo requisitos básicos para o desenho de sistemas de adsorção, que são descritas por isotermas de adsorção, utilizando qualquer um dos modelos matemáticos disponíveis (CRINI e BADOT, 2008).

A adsorção isotérmica relaciona a uma cobertura de superfície de moléculas adsorvidas à concentração (ou pressão). O caráter adsortivo de uma proteína pode ser representado pela reação de equilíbrio (GARLAND, et al., 2012).



A molécula em solução fase (l) está em equilíbrio direto com o estado adsorvido (a). Se definido a cobertura relativa de moléculas, como  $\theta$ , os locais de superfície disponível para a adsorção molecular é  $[S] = 1 - \theta$ . Em condições de equilíbrio, a cobertura das moléculas, é a seguinte:

$$\theta = \frac{K[M]}{1 + K[M]}$$

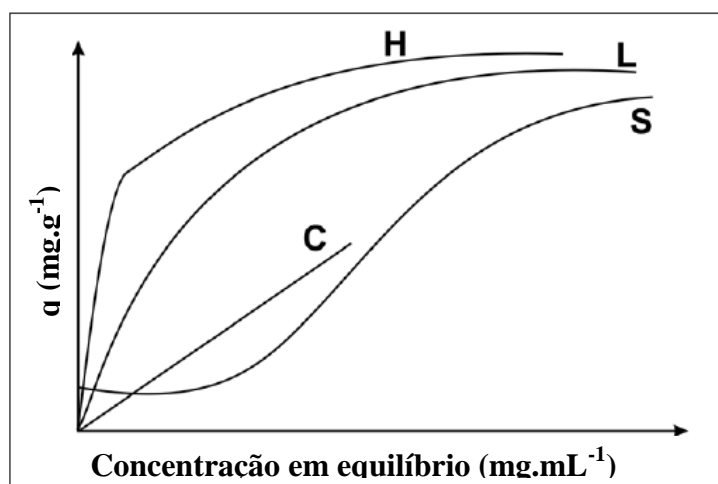
Sendo que,  $K = K_1 / k_{-1}$  é a constante de equilíbrio (em unidades apropriadas) e  $[M]$  é a concentração molecular na fase de solução. A Equação tem sido frequentemente utilizada para ajustar isotermas experimentais de adsorção (GARLAND, et al., 2012).

### 1.6.2 Isotermas de adsorção

A isoterma de adsorção é muito importante, pois a sua forma revela muitos detalhes sobre a área específica e a estrutura porosa de um sólido. A análise de processos de separação é realizada através de determinação de isotérmicas adequadas que refletem a relação entre a concentração de um dos componentes do sólido e da fase líquida (BALLERSTEIN, et al., 2010). O processo de adsorção pode ser apresentado quantitativamente através da construção e análise de curvas de adsorção (isotermas de adsorção), em temperaturas pré-determinadas (YAO, et al., 2010).

A adsorção em interfaces sólido-líquido consiste na determinação das alterações das concentrações que incidem quando determinada quantidade de soluto que permanece em solução após um determinado tempo de contato. Algumas características são observadas de acordo com Giles, et al., (1974), onde usaram a forma inicial das isotermas.

As isotermas de adsorção sólido-líquido foram divididas em quatro tipos: S, L, H e C, de acordo com o sistema desenvolvido. Estas por sua vez apresentam subclasses, dependendo do comportamento em concentração mais alta, sendo: L (Langmuir): Caracterizada por uma região inicial côncava ao eixo de concentração. São as mais comuns e representam adsorção em monocamadas; S: A curva inicial é convexa ao eixo de concentração, e isso é frequentemente seguido por um ponto de inflexão; H: A classe H (alta afinidade) resulta de uma adsorção extremamente forte em concentrações muito baixas; C: Tem inicialmente uma porção linear que indica partição constante do soluto entre solução e adsorvente, e ocorre com adsorventes microporosos (IUPAC, 1985). Essas classes são divididas em subgrupos dependendo do padrão gráfico das curvas, conforme ilustrado na Figura 8.



**Figura 8.** Representação gráfica das formas de isotermas de adsorção

Na literatura há modelos que descrevem os dados experimentais das isotermas de adsorção. Esta série de modelos mostra a razão entre a quantidade adsorvida e a que permanece em solução a uma temperatura fixa em equilíbrio, sendo considerados importantes, uma vez que os estudos de equilíbrio apresentam a capacidade do adsorvente no processo de adsorção e descrevem a adsorção isotérmica por constantes cujos valores expressam as propriedades de superfície e da afinidade do adsorvente (CRINI; BADOT, 2008). O modelo de Langmuir é um dos modelos mais frequentemente empregados (YANG, et al., 2011).

### 1.6.2.1 Langmuir

A isoterma de Langmuir é um modelo de equilíbrio de ligação, requer um equilíbrio dinâmico entre moléculas e entre aquelas absorvidas na solução circundante. Tem sido aplicada na adsorção de proteína em vários sistemas, incluindo superfícies sólidas homogêneas (FELSOVALYI, et al., 2011; LANGMUIR, 1918; TERCINIER, et al., 2013; WELSCH, et al., 2013). É o modelo teórico de isoterma mais simples para a adsorção em monocamada (LANGMUIR, 1918). Foi desenvolvido para representar a adsorção química em diferentes sítios de adsorção (RUTHVEN, 1984). Este modelo clássico de Langmuir descreve o equilíbrio da adsorção da maioria dos sistemas (BALLERSTEIN, et al., 2010), desde que sejam respeitadas como verdadeiras algumas limitações (LANGMUIR, 1918), como: adsorção reversível e limitada em apenas uma camada; a superfície interna do sólido sendo homogênea; não interação das moléculas entre si; inexistência de adsorção competitiva; um único sítio de adsorção para cada molécula que é adsorvida, equivalência energética dos sítios.

Segundo Jacobson, et al., (1987), a teoria de Langmuir adota que as forças que atuam são similares em natureza àquelas que envolvem combinação química, sendo implícito que: o sistema é ideal; as moléculas são adsorvidas e aderem à superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados, com adsorção em monocamada em superfície homogênea; cada sítio pode acomodar uma, e somente uma molécula adsorvida. A energia da entidade adsorvida é a mesma em todos os sítios da superfície e não depende da presença ou ausência de outras entidades adsorvidas nos sítios vizinhos, ou seja, apresenta interação desprezível entre as moléculas adsorvidas.

O modelo de Langmuir apresenta uma equação simples, que é usada muitas vezes para a correlação de uma única troca iônica na adsorção de proteínas isotérmicas. Este modelo foi desenvolvido para a adsorção de gases em superfícies planas e sólidas (BLASCHKE, et al., 2013). A isoterma de Langmuir assume que a concentração de poros “c”, é negligenciável em comparação a concentração de adsorvido, “q” assumindo que existe um equilíbrio local dos poros (Bankston, et al., 2008), sendo o equilíbrio descrito pela equação.

$$q = \frac{q_m \cdot c}{k_d + c}$$

Sendo que  $K_d$  ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) é a constante de dissociação que descreve o equilíbrio da reação de adsorção,  $q$  é  $\text{kg adsorbato/kg adsorvente}$ ,  $q_m$  é a capacidade máxima de adsorção e  $c$  é  $\text{mg adsorbato por mL}^{-1}$  fluido, na condição de equilíbrio entre as fases sólido e líquido (LIRA, et al., 2009).

Um tipo de sítio envolve interações mais fortes e o outro envolve as interações mais fracas (GRITTI, et al., 2003). Na prática, isotermas lineares, Langmuir são amplamente utilizadas para as grandes classes de processos de separação, sendo bem estudadas (FONTAN, et al., 2013; LI, et al., 2013; LIRA, et al., 2009; MAVROPOULOS, et al., 2011; YANG, et al., 2011).

#### 1.6.2.2 Freundlich

É considerada a adsorção em multicamadas e é útil para descrever a adsorção em superfícies altamente heterogêneas e, além da utilização na modelagem de processos de adsorção nestas superfícies. A isoterma de Freundlich tem sido caracterizada através de uma equação empírica, aplicável a sistemas diferenciados por heterogeneidade. Esta equação foi inicialmente utilizada como uma correlação empírica de dados experimentais, admitindo-se uma distribuição logarítmica de sítios ativos, que constitui um tratamento válido quando não existe interação apreciável entre as moléculas de adsorbato (GUIOCHON, 1994). O uso desta equação ocorre em função da precisão os dados de ensaios, que em sua maioria acontece em sistemas aquosos, e descreve o equilíbrio em superfícies heterogêneas (FERREIRA, 2001).

Segundo Suzuki (1990), não há limite para a capacidade de adsorção, pois a quantidade adsorvida tende ao infinito, ou seja, não prevê a saturação. A isoterma de Freundlich é descrita pela Equação.

$$q = KC^{1/n}$$

Em que  $q$  é a massa de soluto adsorvido no equilíbrio por unidade de massa do adsorvente ( $\text{g g}^{-1}$ );  $K$  é a constante de Freundlich [ $(\text{mg g}^{-1}) (\text{L mg}^{-1})^{1/n}$ ];  $C$  é a concentração na solução no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e  $n$  é uma constante (adimensional) usualmente maior do que 1. O expoente “ $n$ ” representa adsorção favorável quando apresenta valor inferior a 1, indicando a tendência do soluto em migrar para a fase sólida.

Em concentrações moderadas, a equação de Freundlich usualmente coincide com a equação de Langmuir. Em concentrações elevadas a equação de Langmuir tende para um

patamar que corresponde à saturação da monocamada, ao contrário de Freundlich que apresenta uma assíntota para concentrações muito elevadas. No modelo é descrita a adsorção de componentes polares em adsorventes polares ou de compostos fortemente polares em solventes, cuja polaridade é baixa ou média (GUIOCHON, et al., 1994). Alguns trabalhos descrevem esta isoterma (LI, et al., 2013; LIRA, et al., 2009; MAVROPOULOS, et al., 2011; SOUSA, et al., 2014).

### 1.6.2.3 Jovanovic

O modelo de uma superfície de adsorção considerado por Jovanovic (1969) é basicamente o mesmo que o considerado por Langmuir em relação ao tipo de aproximação que conduz ao resultado de que a adsorção em monocamada é descrita pela isotérmica de Langmuir. Este modelo de isoterma foi derivado da adsorção em superfície sólida homogênea, considerando um fenômeno não-específico, se interações laterais e cobrindo a superfície com uma monocamada de soluto. Segundo Guiochon, et al., (1994), a principal diferença entre estes dois modelos é o fato de que a derivação do modelo de Jovanovic admite que o equilíbrio de adsorção e dessorção pode não ser estabelecido de forma instantânea (FONTAN, et al., 2013). O modelo de Jovanovic pode ser mostrado usando a seguinte relação:

$$q = q_s(1 - \exp(-bC))$$

Onde  $q_s$  é a capacidade de saturação do adsorvente,  $b$  é uma constante de equilíbrio (também conhecida como energia de ligação entre o soluto e o adsorvente),  $C$  é a concentração do soluto na fase fluida e  $q$  é a concentração do soluto no adsorvente.

## 1.7 FATORES IMPORTANTES NO FENÔMENO DE ADSORÇÃO DE PROTEÍNAS

As condições sob as quais os ensaios de adsorção de proteínas são realizados têm uma influência decisiva no comportamento de adsorção. Parâmetros externos são, basicamente, temperatura, pH, força iônica, e composição tamponada (RABE, et al., 2011). Além destes parâmetros, as propriedades e a superfície das proteínas podem influenciar o processo de adsorção (VOGLER, 2012).

### 1.7.1 Proteínas

As proteínas são polipeptídeos compostos de aminoácidos individuais cujas cadeias laterais contêm grupos orgânicos hidrofóbicos ou hidrofílicos, como os fosfatos, oligossacarídeos, lipídeos (BARRAL, et al., 2008; GARLAND, et al., 2012; RABE, et al., 2011). São macromoléculas de alto peso molecular e apresentam diferentes formas tridimensionais (ALBERTS, et al., 2005). Vários aspectos contribuem no processo de adsorção entre os quais, a força e amplitude de interações de superfície de proteínas são dependentes de várias características (BALL, 2004; BINAZADEH, et al., 2013; GARLAND, et al., 2012), entre os quais, o peso molecular (NORDE, 2008; YANG, et al., 2010), densidade de grupos funcionais, distribuição sobre a superfície das partículas (MEDER, et al., 2013), sendo considerado importante também a energia da superfície, polaridade, carga e morfologia (RABE, et al., 2011).

#### 1.7.1.1 Peso Molecular

Estudos mostram que o peso molecular das proteínas influencia a capacidade adsorvente (NOH, et al., 2008; PARHI et al., 2009). Estas características relativas às propriedades, tamanho, estabilidade estrutural e composição classificam as proteínas em relação ao seu comportamento interfacial (NORDE, 2008). Trabalhos mostram que as proteínas maiores podem ocupar várias camadas no estado adsorvido (PARHI, et al., 2009).

Segundo Nfor, et al., (2010), o tamanho da proteína BSA e de amiloglucosidase contribuiu para a interação proteína e o sal. Estudo realizado com polietileno glicol (mPEG-OH) e proteínas, foi verificado a ocorrência de problemas associados com a purificação de péptidos e proteínas pequenas quando na presença de proteínas de grande peso molecular (GONZÁLEZ-ORTEGA, et al., 2012).

Vogler, (2012) comparou as capacidades de adsorventes de proteínas com a variação dos pesos moleculares, e observou que as imunoglobulinas (IgM) com peso molecular maior em relação a albumina pode ocupar várias camadas no estado adsorvido enquanto a menor adsorção de proteínas como em uma monocamada completa ou parcial na superfície saturação, sendo importante o peso molecular na adsorção.

### 1.7.1.2 Concentração de Proteínas

A concentração da proteína interfere no processo de adsorção (VOGLER, 2012). Em baixas concentrações de proteína, esta pode maximizar suas interações com a superfície tanto pela sua orientação espacial na superfície do substrato quanto pela sua desnaturação e adsorção irreversível. Em altas concentrações as proteínas sofrem menor interação com a superfície, mantendo sua conformação, e desorvem mais facilmente (NATH, et al., 2004). Interações da proteína de superfície são influenciadas pela propriedade da proteína e também pelas propriedades da superfície (RABE, et al., 2011).

Estudo relaciona a quantidade de proteínas e o processo de adsorção (Noh; Vogler, 2007; Vogler, 2012), sendo que a ocorrência de competição da proteína-adsorção indica que as proteínas individuais na mistura difundem uma interface recém-criada a uma taxa dependente da difusão de constantes específicas para estas proteínas individuais, interferindo no gradiente de concentração (BARNTHIP, et al., 2008; VOGLER, 2012).

### 1.7.1.3 Concentração da Solução

A concentração da solução pode ser comparada com a superfície saturada do adsorvente, mas de acordo com Vogler (2012) é pouco relatada na literatura. A adsorção de uma solução concentrada é rápida em comparação com uma solução diluída (SEIGEL, et al., 1997). Segundo Vogler (2012) com a concentração da solução, a superfície do adsorvente torna-se sub-saturada, então esta estará prontamente disponível para a desnaturação das proteínas. Em contrapartida, as proteínas que ocupam adsorventes saturados, podem deslocar vizinhos adsorvidos a ocuparem mais espaço, o que aumenta a energia e conseqüentemente retarda o processo.

### 1.7.1.4 Estruturas das Proteínas

A adsorção de proteínas nas superfícies apresentam questões que interferem no processo de adsorção (WELSCH, et al. 2013). Algumas apresentam alta estabilidade interna, sendo aderidas às superfícies hidrofílicas e são, geralmente, pequenas. Em alguns casos, são consideradas “duras”, como a lisozimas, quando apresentam alta estabilidade (NATH, et al., 2004). Por outro lado, proteínas com baixa estabilidade interna, chamadas de proteínas “moles”, como a BSA, com tendência a adsorção em todas as superfícies independente das

interações eletrostáticas, devido ao ganho na entropia conformacional, que provoca uma mudança significativa. Estas estruturas podem direcionar a adsorção e integridade conformacional na superfície do substrato (NATH, et al., 2004).

#### 1.7.1.5 Forças intermoleculares

A estabilidade é outro fator importante que depende das forças intermoleculares que dominam a interação mútua e são influenciados pelos tipos de proteínas envolvidas (WU; NARSIMHAN, 2008). Trabalhos realizados corroboram sobre a influência das estruturas de diferentes proteínas em relação à estabilidade (RICHARDS, 1977). Além da influência das estruturas, o número de moléculas de proteínas na solução interfere no processo de adsorção em função da competição existente. Barnthip, et al., (2009) citam que em soluções binárias a complexidade é maior em relação a estabilidade obtida em comparação com soluções contendo proteínas purificadas.

#### 1.7.2 pH

A influência do pH no processo de troca iônica de proteínas está associada ao ponto isoelétrico (pI) e, conseqüentemente, à sua carga elétrica líquida. As moléculas podem ter cargas negativas, neutras ou carregadas positivamente dependendo do pH da solução (BARRAL, et al., 2008). Estudos relatam que as taxas de adsorção são elevadas quando a proteína e substrato têm cargas opostas sendo que as atrações eletrostáticas podem acelerar a migração na direção da superfície (BREMER, et al, 2004; RABE, et al., 2011). Em soluções com pH acima o (pI) da proteína e abaixo do  $pK_a$ , a interação destas forças eletrostáticas das proteínas, aumenta com o incremento do pH (NFOR, et al., 2010). Considerando que, em condições de pH elevado, as proteínas ( $pH > pI$ ) são negativas. Quando o pH é igual ao ponto isoelétrico (pI) de uma proteína com cargas negativas e positivas, considera-se que estão em equilíbrio, resultando em moléculas neutras. As repulsões eletrostáticas proteína-proteína são menores e o ponto isoelétrico permite densidades de compactação mais elevadas sobre a superfície (RABE, et al., 2011).

Em condições de pH baixo ( $pH < pI$ ) as proteínas estão com cargas positivas. A carga líquida de proteína é positiva, a adsorção em meio protonado deve ocorrer (WRZOSEK; POLAKOVIC, 2011). O efeito do pH no processo de troca iônica de proteínas têm sido



relatados ao longo dos últimos anos (GAO, et al., 2008; NFOR, et al., 2010; WRZOSEK; POLAKOVIC, 2011).

Kopaciewicz, et al., (1983) citam que condições extremas de pH podem levar a alterações conformacionais e perda de atividades específicas, como no caso de enzimas. Tais alterações podem induzir a um aumento na hidrofobicidade da proteína, reduzindo sua interação com o trocador iônico.

Garland, et al., (2012) descreve que a presença de superfícies hidrofílicas com grupos carregados é capaz de uma forte interação eletrostática com os grupos da proteína. Assim, o pH de uma solução aquosa afeta as propriedades de muitas superfícies devido à protonação ou desprotonação dos grupos ionizáveis e as consequentes interações entre estes grupos de superfície carregadas de ions e biomoléculas (FENOGLIO, et al., 2011; MARKLAND, et al., 1999). Determinando assim o estado eletrostático das proteínas (RABE et al., 2011).

Resultados sobre a influência do pH no processo de troca iônica com proteínas são citados por Nfor, et al., (2010), em que o pH da solução atinge os estados de carga da proteína e o da resina utilizada na adsorção, tendo portanto uma forte influência na resistência das interações eletrostáticas das proteínas ligantes. O incremento das forças de atração foi observado com a relação de aumento da carga positiva com a superfície da proteína BSA quando aos valores de pH estavam entre 3,3 e 4,6 (TRAN; JAMES, 2012).

Foi verificado por Lin, et al., (1991) que a variação de pH, as forças não-iônicas, como a interação hidrofóbica, também atuaram no processo de troca iônica. É citado que esta interação hidrofóbica desempenha um importante papel no fenômeno de adsorção de proteínas. Na superfície hidrófila ocorre interação favorável com água e, geralmente, é coberto com uma camada de hidratação quando em contato com uma solução aquosa, criando uma barreira através da qual a adsorção de moléculas de proteínas deve atravessar antes de interagir com a superfície subjacente (GARLAND, et al., 2012).

### 1.7.3 Temperatura

A temperatura tem um efeito sobre o estado de equilíbrio e sobre a cinética durante o processo de adsorção de proteínas (RABE, et al., 2011). A influência da temperatura no equilíbrio de troca iônica tem despertado cada vez mais o interesse de pesquisadores. Sendo considerado um fenômeno complexo, que pode afetar tanto as propriedades físico-químicas

do adsorvente, como as propriedades do soluto, como mudanças conformacionais de proteínas (MIHELIC, et al., 2003).

Normalmente, o aumento da velocidade de adsorção pode ser esperado devido a uma difusividade acelerada das proteínas para a superfície adsorvente. Em alguns casos, a elevação na temperatura aumenta a capacidade máxima adsortiva, o que sugere que o processo é endotérmico enquanto que em outros, ocorre o inverso.

#### 1.7.4 Concentração de Sal

Em geral, quanto maior a concentração de sal, menor a capacidade adsortiva do adsorvente, indicando que a principal força envolvida no processo de troca iônica é a atração eletrostática (LIN, et al., 1991). Isto significa que quanto maior a força iônica, menores são as interações eletrostáticas entre as moléculas carregadas, consequentemente, a adsorção de proteínas carregadas é dificultada (RABE, et al., 2011). A influência da concentração do sal ou de força iônica na adsorção de proteínas foi observado por Nfor, et al., (2010), em trabalho realizado com BSA, lisozima, ovalbumina, amiloglicosidade e quimotripsina, sendo que interações proteína-sal foram dominantes apenas para BSA e amiloglicosidade. Foi observado que ocorre influência na adsorção de proteínas por forças eletrostáticas e interações hidrofóbicas em resinas mistas.

Xu, et al., (2005) cita que a adição de sal na solução comprime a camada de solvatação das proteínas e aumenta a interação entre as mesmas. À medida que a concentração de sal na solução tem um acréscimo, mais moléculas do solvente ficam associadas com os íons da solução. Em consequência, com a diminuição do solvente, fica disponível para participar da camada de solvatação das proteínas, expondo padrões hidrofóbicos na superfície da proteína. Assim, as proteínas podem exibir interações hidrofóbicas, agregarem-se e se precipitarem na solução.

Gao, et al., (2008), em um estudo do efeito do pH e concentração salina sob o mecanismo de adsorção de proteínas em um trocador iônico, observaram efeito semelhante com o aumento da concentração de NaCl e diminuição da adsorção da proteína. Este comportamento pode estar associado ao efeito estérico das interações intermoleculares das proteínas com os contra-íons. Outra contribuição para este efeito, é a concorrência das moléculas de proteína em solução e os eletrólitos Cl<sup>-</sup> da adição de NaCl com os contra-íons de troca (LIRA, et al., 2009). Então, observa-se que dependendo do tipo de sal pode afetar a troca iônica conforme descrito por Nfor, et al., (2010). Na presença de sal, ocorre a

desidratação das moléculas de proteínas devido à solvatação das moléculas de sal ao redor das moléculas de proteína. Assim, as zonas hidrofóbicas expostas na superfície da proteína aumentam com a elevação da concentração de sal, tornando a interação hidrofóbica entre proteína e adsorvente.

Gao, et al., (2006), estudando o efeito do pH e concentração salina sob o mecanismo de adsorção de proteínas em um trocador iônico, também observaram efeito semelhante do aumento da concentração de NaCl e diminuição da adsorção de proteínas.

### 1.7.5 Influência dos Adsorventes

Os adsorventes apresentam superfícies que permitem uma combinação seletiva com o soluto, propiciando a ligação entre soluto e superfície do adsorvente (COHEN e PETERS, 1995). Isto ocorre em função das propriedades químicas da superfície sólida dos adsorventes interferindo assim na adsorção (LUNDQVIST, et al., 2004). O fenômeno da superfície no processo de adsorção é importante que tenha uma grande área superficial externa e interna associada à sua estrutura porosa, em função ainda da capacidade de adsorção em lugar do tipo e tamanhos dos poros, assim como a sua distribuição, e da natureza da superfície dos adsorventes (COULSON e RICHARDSON, 1985; RUTHVEN, 1984).

Normalmente, os adsorventes são caracterizados como hidrofílico ou hidrofóbico (GAO, et al., 2009). A superfície do adsorvente por possuir propriedades hidrófoba, hidrofílicas ou carregadas tem maior facilidade de adsorção da molécula de proteínas (GARLAND, et al., 2012). Esta superfície química e a resistência do meio iônico influenciam os resultados de adsorção, e tem sido foco de estudo entre as proteínas e as interações superficiais, pois ocorrem energias envolvidas que interferem na adsorção (VOGLER, 2012).

Estudos de proteínas e interações da superfície do adsorvente tem sido o foco principal de trabalho teórico moderno, porque as energias envolvidas têm presumido ser grande em relação à energia térmica (VOGLER, 2012). Vários aspectos da interação de biomacromoléculas com superfícies inorgânicas são citadas por Fenoglio, et al., (2011). Estas interações causam alterações entálpicas e estão geralmente relacionadas com a formação ou interrupção de várias ligações químicas ou entre a proteína e a superfície ou no interior da molécula após a adsorção ou após a redistribuição de grupos com íons (NORDE, 2008). Na tabela 5 são mostrados alguns fatores e aspectos que influenciam o processo.

**Tabela 5** – Alguns fatores que influenciam o processo de adsorção de proteínas

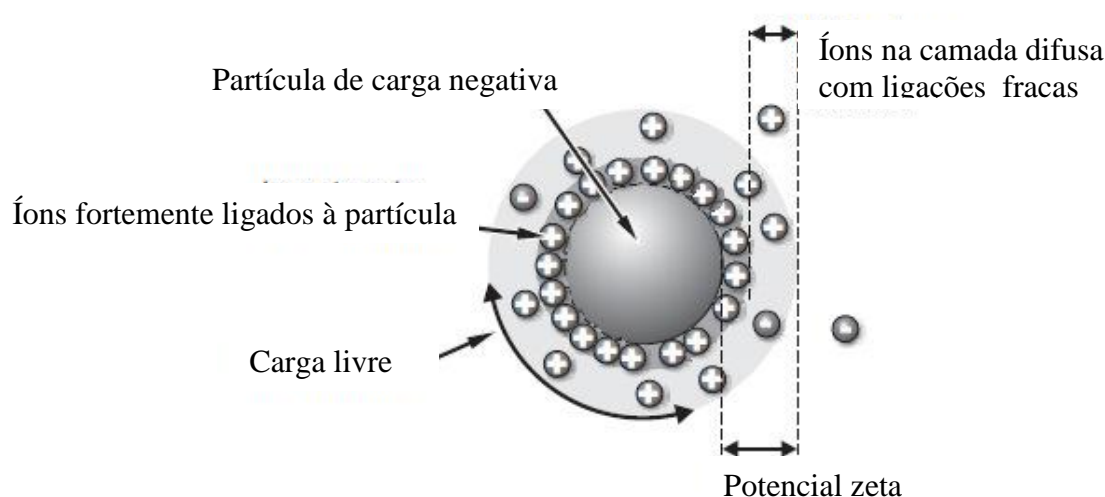
<b>Fatores</b>	<b>Aspectos</b>
<b>Carga superficial</b>	
a. Substrato e cargas da proteína estão com sinais opostos	- Aumento da quantidade de proteínas adsorvidas
b. Substrato e cargas da proteína com mesmo sinal	- Diminuição da quantidade de proteínas adsorvidas
<b>pH</b>	- Estabilidade da suspensão coloidal e carga da superfície
<b>Fase fluída</b>	- Estabilidade da suspensão coloidal, pH e carga superficial
<b>Composição química</b>	- Estabilidade da suspensão coloidal e carga da superfície
<b>Temperatura</b>	- Influência na solubilidade do colóide
<b>Tempo de imersão</b>	- Quantidade de proteína adsorvida
<b>Massa adsorvente</b>	- Quantidade de proteína adsorvida

### 1.8 POTENCIAL ZETA (Pz)

O potencial zeta é uma medida da magnitude da repulsão ou da atração eletrostática ou das cargas entre partículas, sendo um dos parâmetros fundamentais que, sabidamente, afetam a estabilidade. Sua medição oferece uma visão detalhada sobre as causas da dispersão, agregação ou floculação, podendo ser aplicada para melhorar a formulação de dispersões, emulsões e suspensões (MALVERN INSTRUMENTS, 2004).

É uma técnica para determinar a carga de superfície das nanopartículas em solução (colóides). As nanopartículas têm uma carga de superfície que atrai uma fina camada de íons de carga oposta à superfície da nanopartícula. Esta dupla camada de íons viaja com a nanopartícula e se difunde ao longo da solução (RABE, et al., 2011). Quando um material apresenta íons em sua estrutura, a sua superfície apresenta carga. Este mesmo material apresentará a formação de uma dupla camada elétrica na sua superfície quando estiver em uma solução aquosa contendo eletrólitos. A primeira camada é constituída por íons adsorvidos diretamente na superfície devido às interações químicas específicas com a superfície, por

exemplo, forças eletrostáticas, ligação de hidrogênio e interações de *van der Waals*. A segunda camada é formada através de interações de forças eletrostáticas fracas entre íons livres que se movem no fluido e a superfície, sob a influência da atração elétrica e do movimento térmico. Esta segunda camada é, portanto, chamada de camada difusa (MALVERN INSTRUMENTS, 2004). A seguir é mostrado na Figura 9.



**Figura 9.** Esquema da dupla camada elétrica formada na superfície de uma partícula carregada. Fonte: Malvern Instruments, (2004).

O potencial elétrico no limite da camada dupla é conhecido como o potencial zeta das partículas e tem valores que variam tipicamente desde 100 mV e -100 mV. A Tabela 6 a seguir mostra o comportamento de estabilidade de colóides.

**Tabela 6 -** Comportamento de estabilidade de colóides com valores de potencial zeta

Potencial Zeta (mV)	Comportamento da estabilidade do colóide
$0 \pm 5$	Rápida cogulação e floculação
$\pm 10 \pm 30$	Estabilidade fraca
$\pm 30 \pm 40$	Moderada estabilidade
$\pm 40 \pm 60$	Boa estabilidade
Mais $\pm 61$	Excelente estabilidade

Fonte: Malvern Instruments, (2004).

A amplitude do potencial zeta é preditiva da estabilidade coloidal. Nanopartículas com potencial zeta superiores a + 25 mV ou inferior a -25 mV normalmente têm um grau mais alto de estabilidade. Dispersões com um baixo valor potencial zeta acabará agregadas devido a atrações de inter-partículas com interações de *Van der Waals* segundo Malvern Instruments (2004).

## 2. JUSTIFICATIVA

No mundo, estima-se que o mercado de proteínas de soro de leite movimentada por ano U\$ 3,8 bilhões (CARVALHO, et al., 2013). No Brasil, o aproveitamento do soro de leite bovino para a obtenção de proteínas ainda é pouco realizado. Em função disso, o País importa um alto volume deste coproduto, pois o beneficiamento requer a aplicação de tecnologias ainda não adaptadas à realidade nacional (ALVES, et al., 2014).

Estudos recentes têm sido feitos com intuito de modificar o cenário atual (ROSA, et al., 2015; DE MOURA, et al., 2013). Este interesse é em função dos constituintes do soro de leite bovino, pois as proteínas presentes são importantes por apresentarem propriedades funcionais e nutricionais, em função da presença de moléculas de peptídeos e proteínas bioativas (GIRALDO-ZUÑIGA, et al., 2004; MADUREIRA, et al., 2010). A albumina de soro bovino (BSA) é uma das proteínas presentes neste soro, e tem um papel importante, pois apresenta várias propriedades funcionais e nutricionais (GIRALDO-ZUÑIGA, et al., 2004). Estudos envolvendo a análise de seus compostos bioativos evidenciam benefícios para a saúde humana. Entre esses possíveis benefícios destacam-se seus efeitos hipotensivo (ANTILA, et al., 1991; DE WIT, 1998; FARREL, et al., 1987; GROLEAU, et al., 2003; HARTMANN; MEISEL, 2007; MEISEL; SCHLIMME, 1996; NAGAOKA, et al., 2001), função antioxidante e hipocolesterolêmico, promoção de ligação e transporte de retinol, vitamina D e ácido palmítico (FOX; MCSWEENEY, 1998; TOLKACH; KULOZIK, 2005; WU, et al., 1999). Além disso, as proteínas têm outras utilizações como preparo de filmes comestíveis, no preparo de alimentos que proporcionam benefícios para o ser humano e no preparo de alimentos infantis (DE WIT, 1998), SGARBIERI, 2004; SVENSSON, et al., 2002; TAVARES, et al., 2011; WALSTRA, et al., 1999; ZHIVOTOVSKY, et al., 1995).

Com a presença destas múltiplas aplicações é importante o desenvolvimento de processos de separação e purificação, sendo interessante buscar a economia e viabilidade do processo conforme cita Rodrigues (2001). Um dos principais desafios na separação de proteínas do soro de leite é a baixa concentração destas e a complexidade do soro. Existem vários métodos de separação e purificação de proteínas conforme descrito em Jahanshahi, et al., (2008); Franzreb, et al., (2006), sendo que alguns deles são bem difundidos na literatura (ALBREHT; VOVK, 2012; FONTAN, et al., 2013; LI, et al., 2013). É importante que os estudos sobre separação de proteínas do soro incluam a busca de processos alternativos de separação e purificação destas proteínas com aplicação em escala industrial. Os adsorventes

mais utilizados no processo de adsorção de proteínas, apesar de serem vantajosos, apresentam custos mais elevados. Então a proposta deste trabalho é pesquisar adsorventes como a hidroxiapatita e o carvão ativo do babaçu (*Orbignya martiana*) na separação da albumina de soro bovino. Eanes, (1980), cita que hidroxiapatita atua como um adsorvente e é um constituinte mineral encontrado no osso bovino. Quimicamente é um fosfato de cálcio alcalino, é bastante estável numa grande faixa de pH e temperatura. Na forma sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração, o que facilita a integração de implantes (SILVA RIGO, 2010). Tem uma alta capacidade de adsorver moléculas, sendo eficiente no tratamento de remoção de metais pesados em águas e solos poluídos (MAVROPOULOS, et al., 2011). No Tocantins o babaçu está presente na região do Bico do Papagaio (TOBASA, 2016), tendo grande valor industrial e comercial, porém ainda pode ser aproveitado como adsorventes para proteínas do soro de leite e conseqüentemente, diminuir o descarte deste soro no meio ambiente, além de potencializar a valorização da matéria prima extrativista.

Assim, a pesquisa sobre a separação da albumina de soro bovino e a utilização de adsorventes mais baratos irá possibilitar um entendimento maior sobre o melhor aproveitamento de proteínas do soro de leite, agregando mais valor econômico ao subproduto.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o comportamento adsorptivo da albumina de soro bovino (BSA) em diferentes matrizes adsorventes (hidroxiapatita comercial, hidroxiapatita sintética e carvão ativo de babaçu) em tanques agitados.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

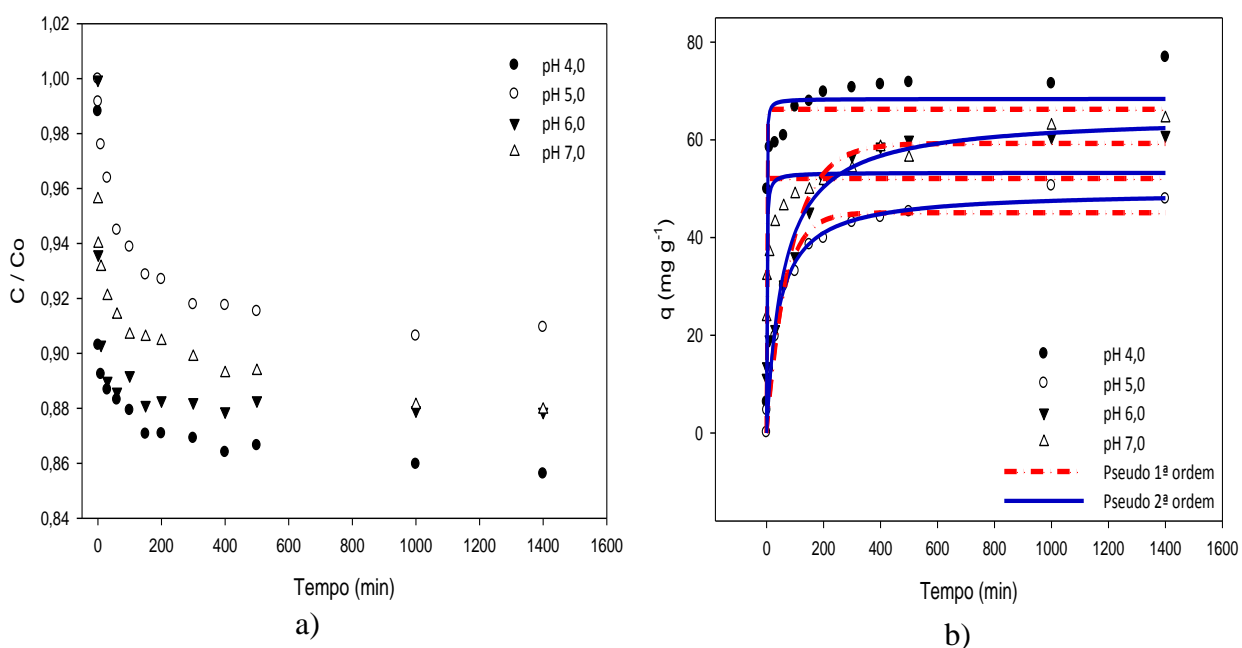
- i) Determinar a cinética de adsorção da albumina de soro bovino em tanques agitados;
- ii) Determinar a eficiência de adsorção da proteína;
- iii) Determinar o potencial zeta dos adsorventes em diferentes pH;
- iv) Determinar isotermas de adsorção;
- v) Determinar o modelo de Langmuir na adsorção da proteína (BSA) em diferentes pH e em solução iônica (NaCl);
- vi) Estudar diferentes modelos de isotermas para melhor ajuste aos dados experimentais.



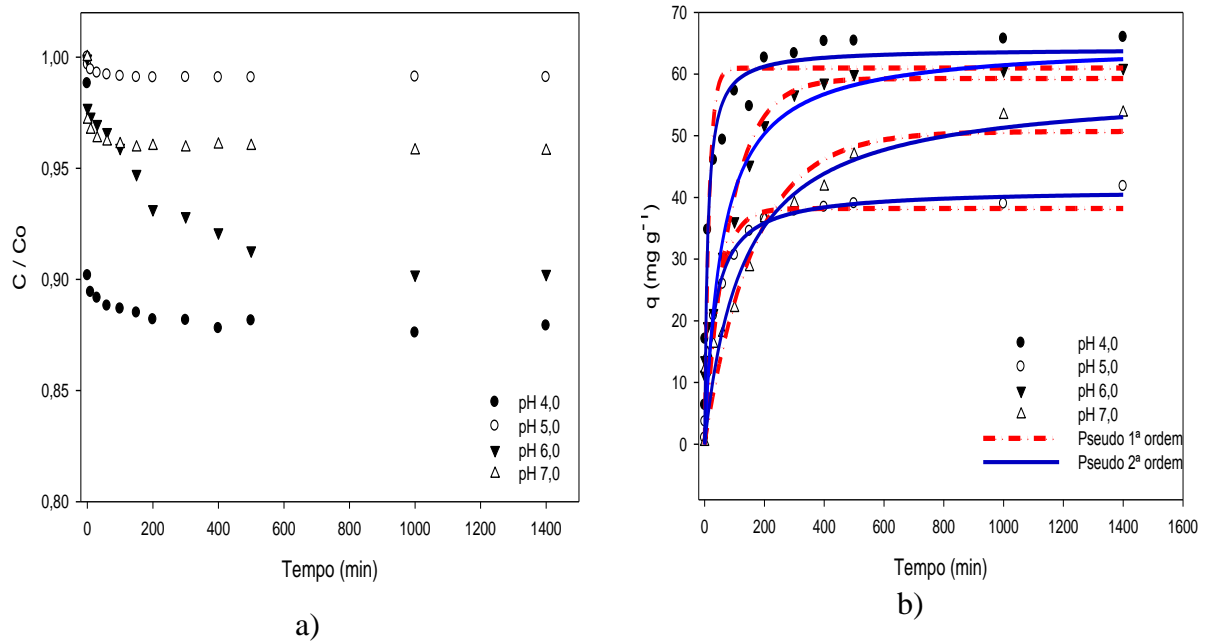
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CINÉTICA DE ADSORÇÃO

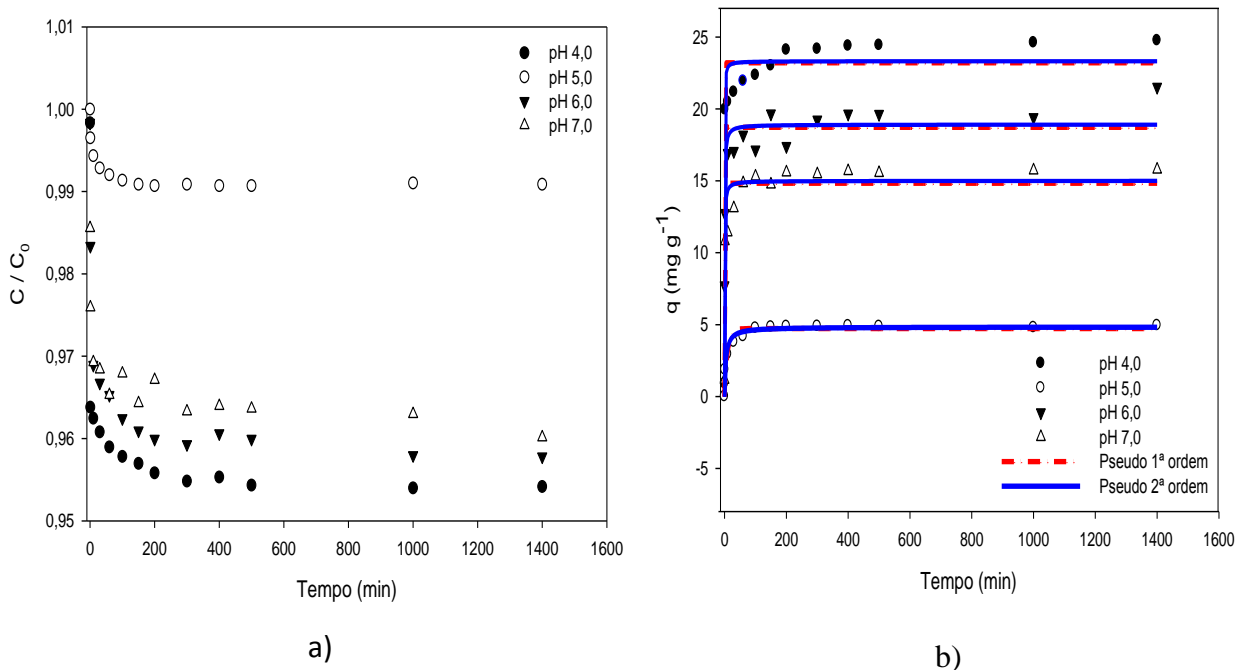
As Figuras 11 a 13 mostram a cinética de adsorção de BSA em adsorventes (HA, HAS e CAB) para os pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). As Figuras 11(a), 12(a) e 13(a) mostram as curvas  $C/C_0$  versus tempo (min). As Figuras 11(b), 12(b) e 13(b) apresentam os modelos de Pseudo 1ª e 2ª ordem nos pH (4,0, 5,0, 6,0 e 7,0). A concentração inicial ( $C_0$ ) de proteína utilizada foi  $3,0 \text{ mg mL}^{-1}$ . Para as soluções tampões com pH (4,0; 6,0 e 7,0) foi observado um aumento da quantidade de proteína adsorvida com o tempo com o aumento do pH, ocasionando um patamar mais alto da curva  $C/C_0$ . Na adsorção ocorrida a pH 5,0 também observa-se o aumento da adsorção de proteína com o tempo, porém esta adsorção é menor em relação as soluções com os pH (4,0; 6,0 e 7,0).



**Figura 11.** Cinética de adsorção de BSA sobre a superfície da hidroxiapatita comercial nos pHs (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). (a). Curva de  $C/C_0$  versus tempo (min), a 25 °C por 24 h e (b). Modelos cinéticos de Pseudo 1ª ordem e Pseudo 2ª ordem



**Figura 12.** Cinética de adsorção de BSA sobre a superfície da hidroxiapatita sintética nos pHs (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). (a). Curva de  $C.C_0^{-1}$  versus tempo (min), a 25 °C por 24 h e (b). Modelos cinéticos de Pseudo 1ª ordem e Pseudo 2ª ordem



**Figura 13.** Cinética de adsorção de BSA sobre a superfície do carvão ativo de babaçu nos pHs (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). (a). Curva de  $C.C_0^{-1}$  versus tempo (min), a 25 °C por 24 h e (b). Modelos cinéticos de Pseudo 1ª ordem e Pseudo 2ª ordem

Nas Figuras 11(a), 12(a) e 13(a) verificou-se graficamente que, com aproximadamente 150 min, já havia sido atingido um patamar na curva de  $C.C_0^{-1}$  versus

tempo (min), sendo então observada a tendência ao equilíbrio. As curvas cinéticas da hidroxiapatita comercial (HA) para os pH (4,0, 5,0, 6,0 e 7,0), apresentadas na Figura 11(a), observa-se que a concentração de albumina de soro bovino (BSA) na fase líquida diminuiu cerca de 85 a 92%, indicando que a adsorção foi melhor em pH 4,0. Para a Hidroxiapatita sintética (HAS), como indicado na Figura 12(a), a concentração de (BSA) na fase líquida no equilíbrio foi em torno de 89 a 98 %, mostrando uma menor adsorção em relação a HA. O carvão ativo de babaçu (CAB), mostrado na Figura 13(b), apresentou menor adsorção em relação a HA e HAS, sendo adsorvido entre 5 e 15 % aproximadamente para as diferentes condições de pH. Para todos os adsorventes, observa-se que a adsorção foi maior em solução tampão em pH 4,0 e a solução tampão com pH 5,0 foi mais baixa, supõe-se que a proximidade do potencial isoelétrico (4,6 a 4,9) da albumina de soro bovino tenha influenciado esta menor adsorção no processo.

Nas Tabelas 8, 9 e 10 são apresentados os parâmetros dos modelos cinéticos de Pseudo 1ª ordem e 2ª ordem para os adsorventes hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética e carvão ativo de babaçu (CAB). São mostrados os valores das constantes de Lagergren  $q_{e1}$ ,  $k_1$ ,  $q_{e2}$  e  $k_2$ , além do  $R^2$ , onde  $k_1$  e  $k_2$  representam as constante de velocidade,  $q_{e,calc}$  = quantidades de BSA adsorvida no equilíbrio,  $q_{e,exp}$  = calculo da quantidades de BSA adsorvida no equilíbrio obtida experimentalmente e tempo (h). O RMSE representa o Erro médio do quadrado de resíduo.

**Tabela 8** - Modelos e parâmetros cinéticos para a adsorção da BSA sobre a hidroxiapatita comercial

Modelo	Parâmetros	pH			
		4,0	5,0	6,0	7,0
Pseudo 1ª ordem	$q_{e,exp}$ (mg g <sup>-1</sup> )	75,91	47,93	60,99	56,34
	$q_{e1, calc}$ (mg g <sup>-1</sup> )	66,26	45,10	59,29	52,10
	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	0,04	0,02	0,01	0,95
	$R^2$	0,9103	0,9803	0,9410	0,9426
	RMSE	7,84	3,48	3,82	10,6
Pseudo 2ª ordem	$q_{e,exp}$ (mg g <sup>-1</sup> )	75,91	47,93	60,99	56,34
	$q_{e2, calc}$ (mg g <sup>-1</sup> )	68,39	49,49	65,03	53,28
	$k_2$ (min <sup>-1</sup> )	0,0034	0,0005	0,0003	0,0191
	$h$ (min <sup>-1</sup> )	15,9	1,24	1,268	54,22
	$R^2$	0,9583	0,9941	0,9510	0,9970
	RMSE	5,41	1,91	2,39	10,07

**Tabela 9** - Modelos e parâmetros cinéticos para a adsorção da BSA sobre a hidroxiapatita sintética

Modelo	Parâmetros	pH			
		4,0	5,0	6,0	7,0
Pseudo 1 <sup>a</sup> ordem	$q_{e,exp}$ (mg g <sup>-1</sup> )	65,96	41,77	60,78	53,72
	$q_{e1, calc}$ (mg g <sup>-1</sup> )	60,97	38,21	59,29	50,70
	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	0,0659	0,0213	0,0113	0,0060
	$R^2$	0,9399	0,9864	0,8855	0,9404
	RMSE	7,00	2,43	6,81	6,05
Pseudo 2 <sup>a</sup> ordem	$q_{e,exp}$ (mg g <sup>-1</sup> )	65,96	41,77	60,78	53,72
	$q_{e2, calc}$ (mg g <sup>-1</sup> )	64,12	41,32	60,03	57,85
	$k_2$ (min <sup>-1</sup> )	0,0016	0,0008	0,0003	0,0001
	$h$ (min <sup>-1</sup> )	6,57	1,36	1,08	0,33
	$R^2$	0,9708	0,9969	0,9515	0,9546
	RMSE	4,9148	1,16	6,23	5,30

**Tabela 10** - Modelos e parâmetros cinéticos para a adsorção da BSA sobre o carvão ativo de babaçu

Modelo	Parâmetros	pH			
		4,0	5,0	6,0	7,0
Pseudo 1 <sup>a</sup> ordem	$q_{e,exp}$ (mg g <sup>-1</sup> )	24,75	4,93	21,52	15,78
	$q_{e1, calc}$ (mg g <sup>-1</sup> )	23,21	4,72	18,72	14,83
	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	1,9634	0,0986	1,1425	1,3026
	$R^2$	0,9751	0,9450	0,6921	0,9477
	RMSE	1,46	0,51	2,71	1,35
Pseudo 2 <sup>a</sup> ordem	$q_{e,exp}$ (mg g <sup>-1</sup> )	24,75	4,93	21,52	15,78
	$q_{e2, calc}$ (mg g <sup>-1</sup> )	23,32	4,83	18,91	15,00
	$k_2$ (min <sup>-1</sup> )	0,0218	0,0474	0,0100	0,1384
	$h$ (min <sup>-1</sup> )	11,85	1,10	3,57	31,14
	$R^2$	0,9781	0,9721	0,7098	0,9594
	RMSE	1,37	0,37	2,65	1,19

Os valores de  $R^2$  obtidos para a hidroxiapatita comercial variaram entre (0,9103 a 0,9970), hidroxiapatita sintética (0,8855 a 0,9969) e carvão ativo de babaçu (0,6921 a 0,9781)

para os modelos. Os valores calculados  $q_{e,calc}$  obtidos para os adsorventes (HA, HAS e CAB) foram próximos aos resultados de  $q_{e,exp}$  para os pH estudados. Supõe-se que o processo de adsorção segue principalmente a Pseudo 2ª ordem com base nos valores obtidos do erro médio do quadrado do resíduo (RMSE) e dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) encontrados. De modo geral, o menor valor de (RMSE) indicou que o modelo de Pseudo 2ª ordem explica melhor o comportamento dos dados experimentais, e o maior valor de  $R^2$  encontrado, mostra que este modelo cinético é mais apropriado para descrever o processo de cinética de adsorção da BSA sobre os adsorventes, com características de quimissorção.

Os valores de  $q_e$  obtidos (Tabelas 8, 9 e 10) variaram entre  $q_{e,exp} = 47,93$  a  $75,91$   $mg\ g^{-1}$  para HA,  $q_{e,exp} = 41,77$  a  $65,96$   $mg\ g^{-1}$  para HAS e  $q_{e,exp} = 4,93$  a  $24,75$   $mg\ g^{-1}$  para CAB nos pH avaliados. Sendo que para a hidroxiapatita comercial (HA) a pH 4,0 houve maior capacidade de adsorção de BSA em comparação com a hidroxiapatita sintética (HAS) e o carvão ativo de babaçu (CAB) e os demais pH estudados.

Estudos de cinética sobre hidroxiapatita e carvão ativo têm sido realizados por vários autores. Yin, et al., (2002) avaliaram a cinética de adsorção de BSA sobre HA a  $18,5$  °C em pH 5,82 e  $30$  °C em pH 7,0 encontraram resultados como  $q_{e,exp} = 59,06$  e  $41,49$   $mg\ g^{-1}$ , valores semelhantes aos encontrados neste trabalho. Swain e Sarkar, (2013) estudaram adsorção de BSA sobre hidroxiapatita em pH 7,4 a  $37$  °C, tendo encontrado valores de  $q_{e,exp} = 28$   $mg\ g^{-1}$ . Em pesquisa conduzida por Pereira, et al., (2014) com BSA sobre carvão ativo de siriguela foram encontrados ( $q_{e,exp} = 29,35$  a  $58,26$   $mg\ g^{-1}$ ) e  $h = 28,74$   $min^{-1}$  para um pH = 7,0 e temperaturas entre  $20$  °C e  $40$  °C.

Os valores mais elevados das constantes de velocidade,  $k_1$ , para o adsorvente CAB (Tabela 10) podem ser devido a alguma alteração dos sítios dos adsorventes (Kopac, et al., 2008) devido a presença de heteroátomos na superfície de CAB (Oliveira, et al., 2015). Os resultados encontrados neste processo supõe-se que ocorreram reações de trocas de superfície até que os sítios fossem totalmente ocupados, principalmente para HA, HAS e para o CAB foi dificultada devido à presença de vários grupos funcionais na estrutura do adsorvente (Laszlo, 2005; Oliveira, et al., 2015). Os valores obtidos de  $k_2$  variaram entre 0,0001 e  $0,1384$   $min^{-1}$  para os adsorventes nos diferentes pH estudados. Diversos estudos foram realizados e os resultados obtidos para os parâmetros  $k_1$  e  $k_2$  corroboram com os encontrados nesta pesquisa. Kopac, et al., (2008) também relataram valores de  $k_1$  próximos aos encontrados neste trabalho, sendo, pH 4,  $k_1 = 0,018$  e  $0,019$   $min^{-1}$  a  $20$  °C e  $40$  °C, respectivamente. Para pH 5, obteve-se  $k_1 = 0,013$   $min^{-1}$  a  $20$  °C e  $0,019$   $min^{-1}$  a  $40$  °C. (Kopac, et al., 2008).

A taxa de transferência de massa no processo de adsorção foi mais lento no pH 7,0 dos adsorventes hidroxiapatita (HA) e carvão ativo de babaçu (CAB) com  $h = 54,22$  e

31,14 mg g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). Isso pode ter ocorrido em função do alto peso molecular (69 kDa) da proteína BSA e os diversos grupos funcionais existentes na molécula de CAB, ocorrendo assim uma rápida saturação dos poros. Em geral a taxa de transferência de massa de (HA e HAS) é mais acelerado possivelmente em função da existência de altos números de sítios disponíveis para as ligações iniciais.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ADSORÇÃO DA PROTEÍNA

Os resultados médios de eficiência obtidos para a adsorção da albumina de soro bovino sobre a hidroxiapatita comercial, hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) para os pH (4,0 5,0 6,0 e 7,0) a 25 °C, após 24 h, são mostrados na Tabela 11.

**Tabela 11** - Concentração na solução (C), capacidade adsortiva (q) e eficiência de adsorção (efic) da albumina de soro bovino (BSA) sobre a Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) após 24 h a 25 °C nos pH (4,0, 5,0, 6,0 e 7,0)

Adsorventes	pH	BSA		
		C (mg mL <sup>-1</sup> )	q (mg g <sup>-1</sup> )	Efic (%)
HA	4,0	0,77	67,5	74,3
	5,0	1,44	45,3	52,0
	6,0	1,14	54,2	62,0
	7,0	1,22	54,3	59,3
HAS	4,0	0,94	61,8	68,6
	5,0	1,39	41,7	53,7
	6,0	1,06	54,7	64,6
	7,0	1,47	46,6	51,0
CAB	4,0	1,81	32,9	39,6
	5,0	2,86	9,5	4,66
	6,0	2,21	21,5	26,3
	7,0	2,59	15,7	13,6

Pode ser verificado que valores mais elevados da capacidade de adsorção e da eficiência foram obtidos para a hidroxiapatita com maior pureza (HA) e hidroxiapatita sintética (HAS) no pH 4,0 sugerindo que estes adsorventes e pH são os mais indicados para testes posteriores. Observa-se pelos resultados que os diversos grupos funcionais presentes no carvão ativo influenciaram a capacidade de adsorção. O valor encontrado para a solução tampão no pH 4,0 foram semelhantes aos obtidos por Oliveira, et al., (2015), tendo encontrado (8,1; 26,2 e 25,4 mg g<sup>-1</sup>) e eficiência de 8,1, 26,1 e 25,5 % para os pH (3; 5 e 7) respectivamente, na adsorção de BSA em carvão ativo obtido do caroço de cajá. Pereira, et al., (2014) estudaram a adsorção de BSA sobre carvão ativo produzidos com casca e sementes de seriguela tendo encontrado valores entre (41,02 e 188,29 mg g<sup>-1</sup>) e eficiência entre 21,25 a 92,29 %. Resultados também próximos aos obtidos neste trabalho.

### 5.3 POTENCIAL ZETA (Pz)

As medidas de potencial zeta (Pz) obtidas para os adsorventes são mostradas na Tabela 12.

**Tabela 12** - Potencial Zeta (Pz) obtido para a hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB)

Adsorventes	Potencial Zeta (mV)				
	pH	4,0	5,0	6,0	7,0
HA		-6,6±0,72	-25,5±0,61	-2,7±0,10	-21,8±0,64
HAS		-11,4±1,20	-24,6±1,47	-25,2±1,55	-26,9±1,40
CAB		+6,9±1,90	-40,4±0,97	-41,4±1,10	-44,4±0,79

Os valores obtidos para HA (-6,6 a -25,5 mV) e HAS (-11,4 a -26,9 mV) nos pH 4,0 a 7,0, respectivamente, são justificados em função das superfícies heterogêneas e os múltiplos sítios de ligação, além disso, a morfologia da superfície e o grau de cristalinidade são influenciados no processo de produção segundo Norton, et al., (2006). Resultados semelhantes foram obtidos por Tercenier, et al., (2013), onde foram encontrados valores de Pz para a hidroxiapatita (-11 e -28mV) para o pH 7,1. Estes resultados podem ser explicados também em função da presença no meio aquoso de íons de cálcio (Ca<sup>+</sup>) e de fosfato (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) da

hidroxiapatita, o que leva ao aumento das forças eletrostáticas, assim como ao Pz mais negativo, indicando que houve a adsorção de íons acetato ( $\text{Ac}^-$ ) na superfície de HA e HAS. A difusão de íons de sódio ( $\text{Na}^+$ ) presentes em acetato de sódio (NaAc) estão dissolvidos ocorrendo assim, a ligação nas superfícies de HA e HAS. Desta forma, a camada da superfície destes adsorventes é comprimida e isto leva a redução do potencial zeta, principalmente em pH 4,0. Na literatura são apresentados vários estudos com hidroxiapatita. Osório (2008) encontrou valores de PZ nos pH (3,0; 4,0 e 7,0) para HA, sendo obtidos (0,0 mV; -10,0 mV e -30,0 mV) para os pH (3,0; 4,0 e 7,0) respectivamente, em estudo realizado com nanotubos de carbono e hidroxiapatita, resultados esses próximos aos encontrados neste trabalho. Lopes, et al., (1999) analisando o Pz da hidroxiapatita em pH 7,2, obtiveram valores na faixa (-18,1 a -28,37 mV), resultados que corroboram com esta pesquisa.

Para o carvão ativo de babaçu (CAB), resultados apresentaram valores (+6,9 e -44,4 mV) nos pH estudados. Pesquisas realizadas demonstram que as características superficiais do carvão (tamanho de poros e área superficial) influenciaram as características das cargas (OLIVEIRA, et al., 2015). O carvão ativo possui em sua estrutura química, grupos funcionais como: heteroátomos, oxigênio e hidrogênio além de componentes inorgânicos que interferem na adsorção (LÁSZLO, et al., 2005). Estes componentes influenciam no comportamento total das cargas superficiais, justificando assim esta variação do potencial zeta. O mesmo efeito foi observado por Valencia, (2006) sendo encontrado (+3 a -48 mV) e (COTTET, 2009) para carvão ativo de babaçu (+4 e -25 mV). Algumas divergências encontradas nos resultados podem ser em função das diferentes soluções utilizadas (KCl) e (AcNa) na diluição dos adsorventes.

#### 5.4 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Isotermas de adsorção de BSA foram obtidas em várias condições de pH e concentração de sal (NaCl) em diferentes matrizes adsorventes. As representações gráficas mostram  $q$  (quantidade de proteína adsorvida no adsorvente,  $\text{mg g}^{-1}$ ) versus  $C$  (concentração de proteína em equilíbrio na fase líquida,  $\text{mg mL}^{-1}$ ) em diferentes valores de pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) a 25 °C para os adsorventes hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB).

As formas das isotermas de adsorção nas matrizes estudadas se mostraram semelhantes. Os dados de equilíbrio indicam que, nas concentrações analisadas, os ajustes

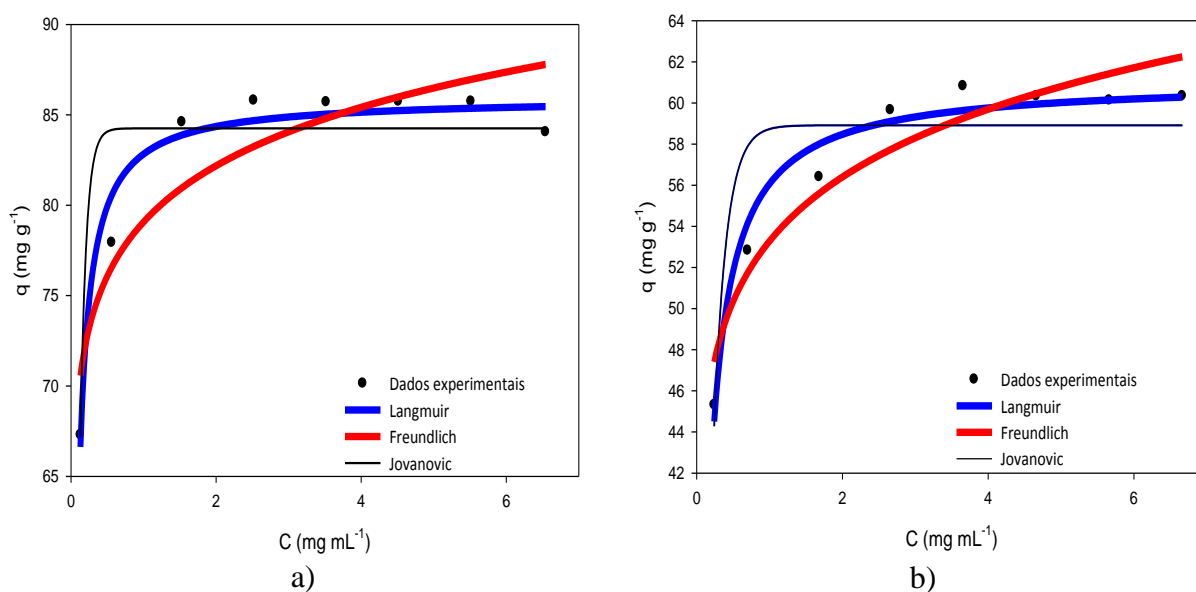


obtidos seguiram um resultado similar ao modelo de isoterma do tipo L (monocamadas), sugerindo que o processo de adsorção ocorreu de forma simples em sítios ativos distribuídos uniformemente na superfície dos adsorventes estudados, mas as quantidades adsorvidas foram consideravelmente diferentes entre si. Este fato indica, que ocorreu saturação da quantidade adsorvida de forma significativa devido ao pH e a concentração de sal (NaCl) em solução, além das características de superfície, principalmente do CAB.

#### 5.4.1 Efeito do pH

As Figuras 14 (a), (b) e Figuras 15 (a), (b) representam a adsorção de BSA em HA, as Figuras 16 (a), (b) e Figuras 17 (a), (b) representam em HAS e Figuras 18 (a), (b) e Figuras 19 (a), (b) representam em CAB nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0), respectivamente.

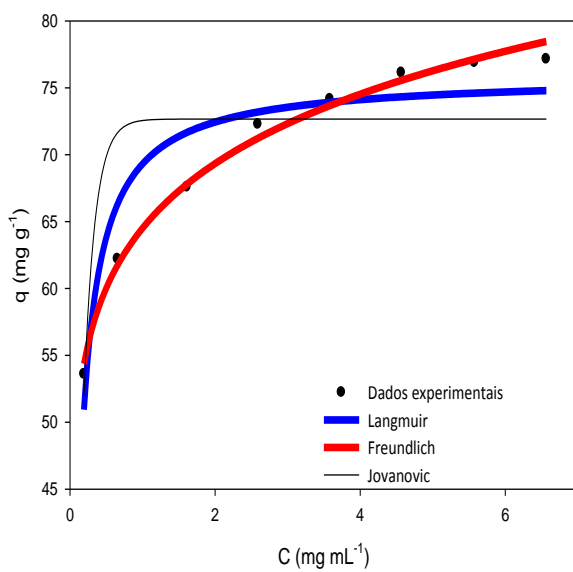
As quantidades de BSA adsorvidas ( $q$ ) nos pH (4,0, 5,0 e 6,0) para HA, HAS e CAB mostradas nas Figuras 14 a 19 apresentaram no geral, valores maiores próximos do ponto isoelétrico (pI) de BSA (4,6-4,9).



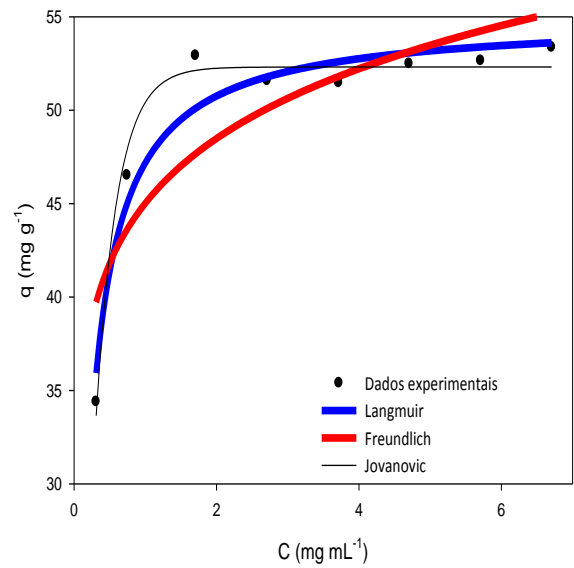
**Figura 14.** Isotermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais

As matrizes adsorventes (HA, HAS e CAB) apresentaram no geral cargas líquidas negativas (Tabela 12), na faixa de pH estudados nesta pesquisa. Abaixo do ponto isoelétrico (pI) da BSA, as cargas líquidas são positivas. Portanto, a atração eletrostática entre as superfícies de HA, HAS e CAB e a molécula de BSA pode aumentar a adsorção da proteína.

Em alguns casos, a quantidade de proteína adsorvida decresce quando o pH está próximo a pH 5,0 como descrito por Cheng, et al., (1987); Suzawa, et al., (1982).

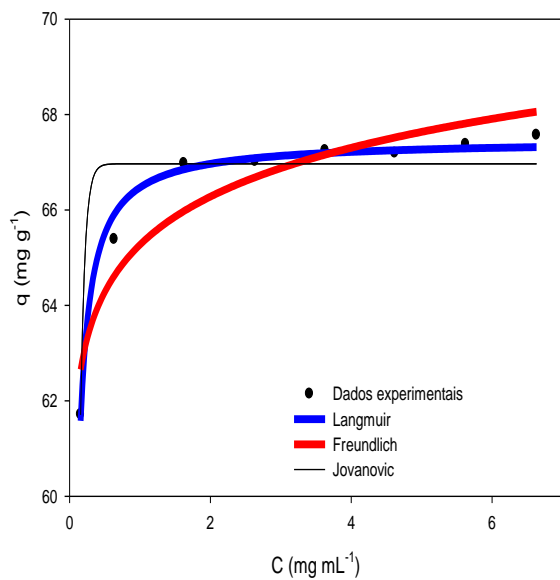


a)

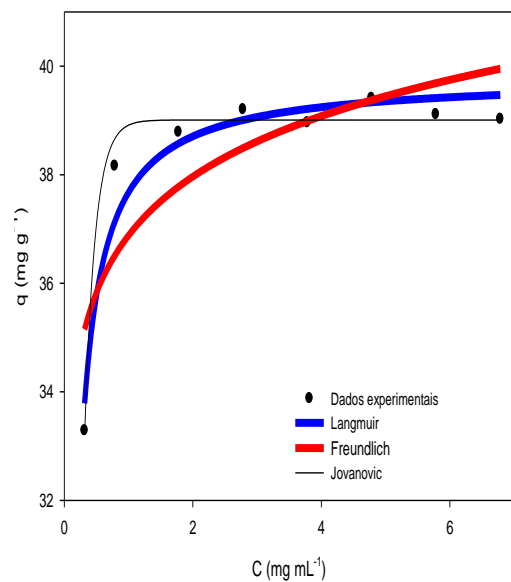


b)

**Figura 15.** Isothermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais

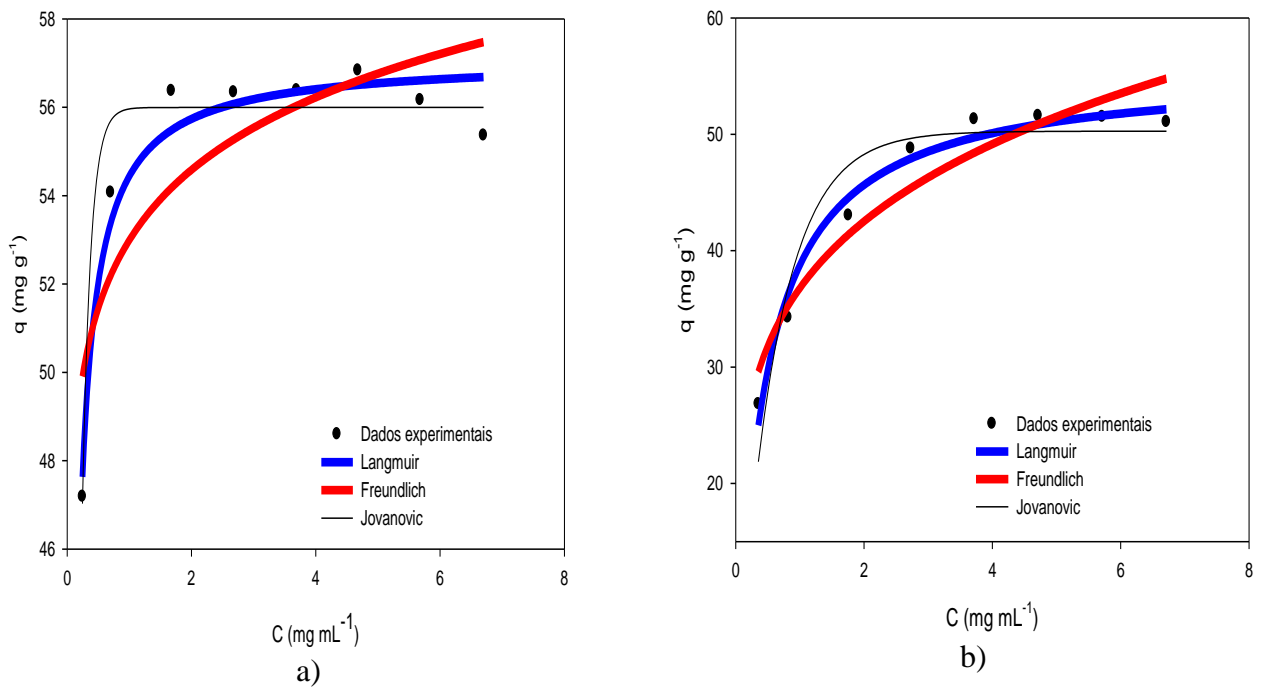


a)

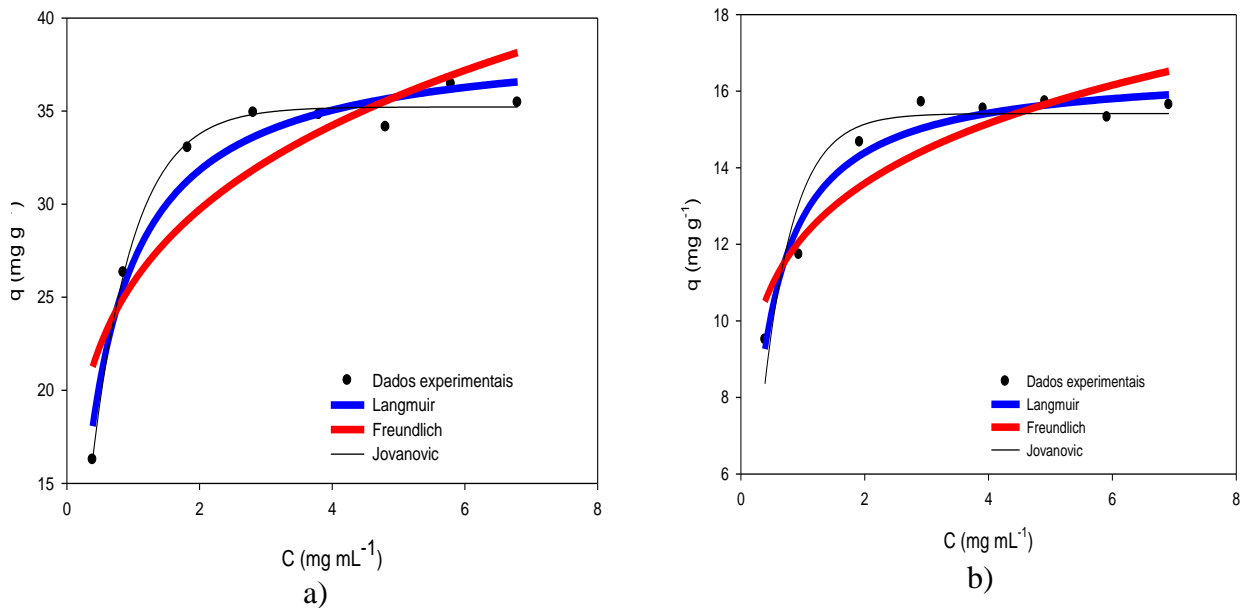


b)

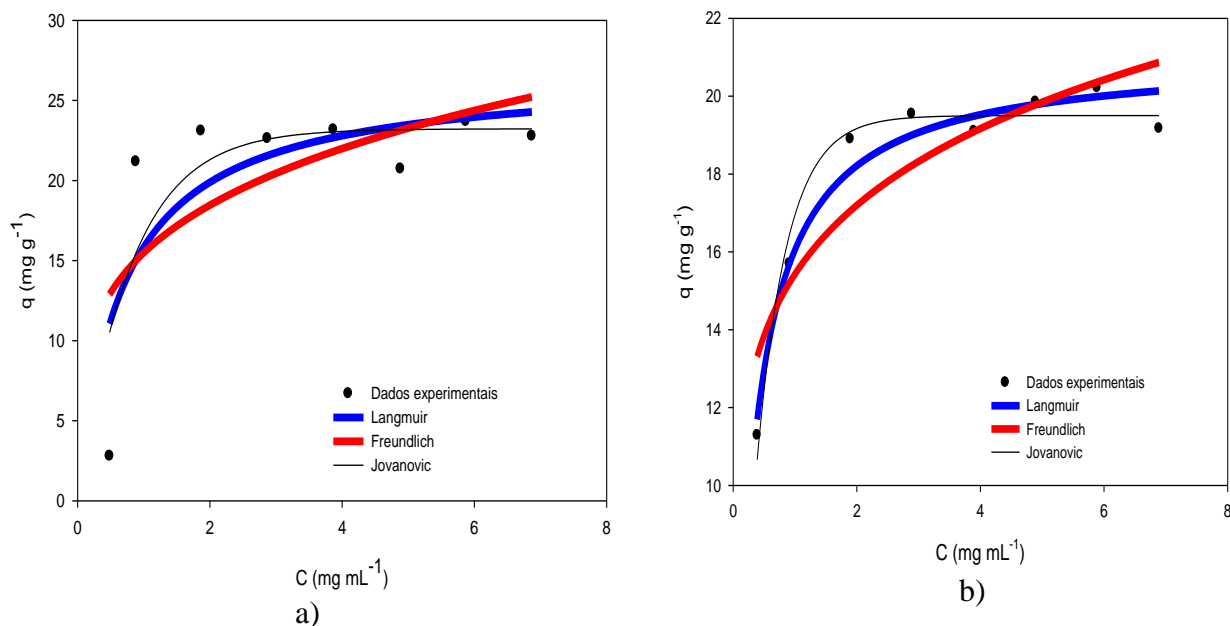
**Figura 16.** Isothermas de adsorção de BSA sobre a hidroxiapatita sintética em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais



**Figura 17.** Isothermas de adsorção de BSA sobre a hidroxiapatita sintética em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais



**Figura 18.** Isothermas de adsorção de BSA sobre o carvão ativo de babaçu em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais



**Figura 19.** Isothermas de adsorção de BSA sobre o carvão ativo de babaçu em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) a 25 °C para os ajustes dos modelo de Langmuir, Freundlich e Jovanovic. Os símbolos representam os dados experimentais

Na região de pH superior ao ponto isoelétrico, os adsorventes (HA, HAS e CAB) e as moléculas de BSA são carregadas negativamente, então, forças de repulsão eletrostática dos adsorventes e a molécula de BSA pode suprimir a adsorção da proteína. Os resultados experimentais mostraram a tendência semelhante para todos adsorventes estudados.

A variação de pH na solução possibilita a alteração da distribuição de carga líquida da molécula de BSA, assim, o comportamento de adsorção refletiu na natureza das interações físico-químicas da BSA e os sítios ativos das hidroxiapatita comercial e sintética.

Nos resultados encontrados, as cargas líquidas para a superfície da hidroxiapatita nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) foram negativas (Tabela 12), provavelmente em função dos íons fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) presentes. As quantidades adsorvidas, (q), de BSA sobre a hidroxiapatita, tanto da comercial quanto da sintética foram maiores no pH 4,0, sendo que a capacidade de ligação das hidroxiapatitas com a albumina apresentou uma diminuição importante com o aumento do pH em função das interações eletrostáticas entre o cátion ( $\text{Ca}^{+2}$ ) e o ânion ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) da HA com o ânion ( $\text{COO}^-$ ) e o cátion  $\text{NH}_4^+$  da BSA, sendo mais intensas em função das cargas positivas de BSA (LIGHTFOOT; MOSCARIELLO, 2004; CHANG, et al., 2007).

No estudo da análise da adsorção de BSA sobre Streamline-HST foi citado que em  $\text{pH} < \text{pI}$  (ponto isoelétrico), a molécula de BSA apresenta cargas positivas, facilitando a ligação carga-carga entre as interações iônicas e hidrofóbicas (CHANG, et al., 2007), resultando assim uma melhor capacidade de ligação, o que confirma o encontrado no pH 4,0.

No pH 5,0 a quantidade adsorvida encontrada pode estar relacionada a proximidade do ponto isoelétrico, influenciando assim sobre a carga líquida (LOPES, et al., 1997). Supõe-se que em alguns casos, a quantidade de proteína adsorvida decresce quando o pH diminui de acordo com Cheng, et al., (1987); Suzawa, et al., (1982), em função da expansão da molécula de BSA e a necessidade de um espaço maior para ligação com a superfície do adsorvente.

Para as soluções tampões com pH superiores a 5,0, ou seja, pH 6,0 e 7,0, a quantidade adsorvida de proteína foi menor em relação a solução tampão com pH 4,0. Esta observação é coerente com outras pesquisas onde a capacidade máxima de adsorção de proteínas em meio aquosos diminuem com incremento do pH (KOPAC, et al., 2008; Wrzosek e Polakovic, 2011). Para o pH 5,0 supõe-se que a proximidade do ponto isoelétrico influenciou essa retração. No pH 6,0 os resultados variaram entre 58,43 e 75,67 mg g<sup>-1</sup> para HAS e HA. Resultados obtidos por Mavropoulos, et al., (2011) corroboram com o encontrado neste trabalho, tendo valores próximos a 67,6 mg g<sup>-1</sup> em pH 6,0 a 37°C. Normalmente a hidroxiapatita apresenta cargas superficiais negativas e seu potencial zeta negativo aumenta com o incremento do pH (BOONSONGRIT, et al., 2008). Abaixo do ponto isoelétrico a BSA apresenta cargas positivas, portanto, a capacidade de adsorção de BSA melhora com o pH ácido devido à interação eletrostática das cargas negativas das hidroxiapatitas com as cargas positivas da BSA.

Para o pH 7,0, as Figuras 15 (b), 17 (b) e 19 (b) apresentam uma maior retração no processo de adsorção em função do aumento do pH para todos os adsorventes. Neste pH, os grupos carboxílicos estão mais dissociados resultando em um aumento de cargas negativas sobre o adsorvente, desta forma a molécula de BSA com cargas negativas (pH > pI) ocasionaram uma menor retenção nos sítios ativos da hidroxiapatita, o que justifica a diminuição na adsorção da BSA. Assim, uma força de repulsão eletrostática entre a hidroxiapatita e a BSA é gerada e reforçada à medida que o pH torna-se mais alcalino, com isso impede a adsorção de BSA na superfície da hidroxiapatita, sendo este comportamento também foi observado por Yang; Zhang, (2009).

Nas Tabelas 13 a 15 são mostrados os parâmetros obtidos para os três modelos estudados nos adsorventes (HA, HAS e CAB), onde: Capacidade máxima de adsorção  $q_m$  (mg g<sup>-1</sup>); constante de dissociação  $k_d$  (mg g<sup>-1</sup>) que descreve uma medida de afinidade; capacidade de saturação do adsorvente  $q_s$  (mg g<sup>-1</sup>);  $n$  é uma constante (adimensional), representa adsorção favorável quando apresenta valor inferior a 1, indicando a tendência do soluto em migrar para a fase sólida;  $q_s$  é a capacidade de saturação do adsorvente,  $b$  é uma constante de equilíbrio (também conhecida como energia de ligação entre o soluto e o adsorvente). Dados com as médias e desvios padrão para  $q_m$ ,  $k_d$ ,  $q_s$ ,  $n$  e  $b$ .

Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), o erro médio do quadrado do resíduo (RMSE), os respectivos desvios padrão são mostrados. Os modelos de Langmuir, Freundlich e Jovanovic apresentam um bom ajuste aos dados experimentais. De modo geral, os valores de RMSE do modelo de Langmuir foram menores (Tabelas 13, 14 e 15), indicando que este modelo explica melhor o comportamento dos dados experimentais.

**Tabela 13** - Parâmetros de isotermas de adsorção da hidroxiapatita comercial sobre a albumina de soro bovino (BSA) a 25 °C nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) conforme os modelos Langmuir, Freundlich e Jovanovic

Modelo	Parâmetros	pH			
		4,0	5,0	6,0	7,0
<i>Langmuir</i>	$q_m$	85,53 ± 0,73	61,72 ± 1,40	75,67 ± 1,03	55,21 ± 0,49
	$k_d$	0,04 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,22 ± 0,08
	$R^2$	0,9800	0,9921	0,9425	0,9740
	RMSE	1,41	0,86	3,03	1,56
<i>Freundlich</i>	$q_s$	78,14 ± 1,00	52,09 ± 0,83	64,63 ± 0,83	43,22 ± 3,08
	$n$	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,13 ± 0,03
	$R^2$	0,9153	0,9484	0,9956	0,8652
	RMSE	2,85	2,19	0,85	3,49
<i>Jovanovic</i>	$q_s$	84,46 ± 1,15	59,48 ± 0,49	72,55 ± 0,97	51,96 ± 1,15
	$b$	12,14 ± 0,12	4,91 ± 0,81	6,67 ± 0,27	2,85 ± 0,67
	$R^2$	0,9165	0,9139	0,8106	0,8106
	RMSE	2,83	2,81	5,31	0,96

Para os adsorventes, (HA, HAS e CAB), o modelo do Langmuir mostraram que as constantes de dissociação ( $k_d$ ) calculadas tiveram uma variação entre 0,02 e 0,62 mg mL<sup>-1</sup>. Os valores de constantes de dissociação ( $k_d$ ) mais baixos indicam que o fenômeno de adsorção foram mais favoráveis em pH 4,0 e 6,0, conseqüentemente, o equilíbrio é atingido de forma mais rápida, indicando também que o processo é espontâneo e reversível. Este fato mostra também que a recuperação da BSA após adsorção em hidroxiapatita (comercial e sintética) é mais favorável (GUIOCHON, 1994). Na literatura, valores próximos de  $k_d = 0,178$  a 0,210 mg mL<sup>-1</sup> foram obtidos para o pH 4,0 (KOPAC, et al., 2008).

**Tabela 14** - Parâmetros de isotermas de adsorção da hidroxiapatita sintética sobre a albumina de soro bovino (BSA) a 25 °C nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) conforme os modelos Langmuir, Freundlich e Jovanovic

Modelo	Parâmetros	pH			
		4,0	5,0	6,0	7,0
<i>Langmuir</i>	$q_m$	68,96± 0,84	41,36± 2,18	58,43± 5,94	51,90± 0,39
	$k_d$	0,02± 0,03	0,07± 0,03	0,09± 0,07	0,46± 0,03
	$R^2$	0,9886	0,9694	0,9425	0,9884
	RMSE	0,34	0,54	0,77	1,55
<i>Freundlich</i>	$q_s$	61,25± 5,39	37,63± 0,0,65	52,37± 3,01	36,34± 0,38
	$n$	0,010±0,03	0,07± 0,02	0,07± 0,04	0,22± 0,01
	$R^2$	0,9408	0,9593	0,9922	0,9612
	RMSE	0,72	1,10	1,09	2,82
<i>Jovanovic</i>	$q_s$	68,26± 7,32	41,15± 1,85	56,82± 4,46	50,37± 0,14
	$b$	5,58± 1,97	5,08 ± 0,81	5,94± 2,29	1,54± 0,67
	$R^2$	0,9964	0,8875	0,7622	0,9551
	RMSE	0,25	1,80	5,68	3,06

No modelo de Freundlich, a capacidade de saturação ( $q_s$ ) das hidroxiapatitas (HA e HAS) foram também maiores em pH 4,0, sendo que a tendência de migração de BSA para o soluto apresentou uma variação entre  $n = 0,010$  e  $0,22$ , confirmando o favorecimento da adsorção. Os resultados obtidos de  $q_s = 36,34$  a  $78,14$  mg g<sup>-1</sup> confirmam no geral esta relação com os  $n$  obtidos, quanto mais baixos, maior é o  $q_s$  obtido. Resultados obtidos encontrados por Kopac, et al., (2008) na faixa  $n = 0,046$  e  $0,057$  corroboram com o trabalho. O modelo de Jovanovic apresentaram ajustes satisfatórios, o que representa uma superfície homogênea sólida do adsorvente, assim como Langmuir. Na literatura são encontrados resultados semelhantes (FONTAN, et al., 2013).

Para o carvão ativo de babaçu (CAB), conforme mostrado na Tabela 15, a quantidade de BSA adsorvida sobre CAB foram inferiores em relação aos adsorventes (HA e HAS) nos respectivos pH estudados. O CAB no geral apresentou cargas negativas líquidas (Tabela 12) sobre a faixa de pH nos experimentos realizados, uma vez que, geralmente têm vários grupos funcionais carregados negativamente, tais como grupos carboxílicos, oxigênio (OLIVEIRA, et al., 2015). Supõe-se que em função destes grupos funcionais da superfície do CAB, a adsorção de BSA tenha sido mais afetada em função dos mesmos.

**Tabela 15** - Parâmetros de isotermas de adsorção do carvão ativo de babaçu sobre a albumina de soro bovino (BSA) a 25 °C nos pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) conforme os modelos Langmuir, Freundlich e Jovanovic

Modelo	Parâmetros	pH			
		4,0	5,0	6,0	7,0
<i>Langmuir</i>	$q_m$	36,18 ± 5,55	17,17 ± 1,23	28,09 ± 1,52	27,37 ± 5,48
	$k_d$	0,38 ± 0,11	0,39 ± 0,09	0,62 ± 0,10	0,12 ± 0,16
	$R^2$	0,9811	0,9792	0,7906	0,9039
	RMSE	1,43	0,51	4,64	2,31
<i>Freundlich</i>	$q_s$	25,04 ± 1,32	11,85 ± 1,32	16,97 ± 1,32	22,31 ± 6,74
	$n$	0,18 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,11 ± 0,07
	$R^2$	0,9021	0,9217	0,6834	0,7773
	RMSE	3,20	0,97	5,54	3,40
<i>Jovanovic</i>	$q_s$	33,02 ± 4,52	15,68 ± 1,21	24,69 ± 1,34	25,95 ± 5,62
	$b$	1,07 ± 0,93	1,79 ± 0,27	1,79 ± 0,27	3,84 ± 3,16
	$R^2$	0,9165	0,9517	0,8378	0,9599
	RMSE	0,69	0,77	4,15	1,52

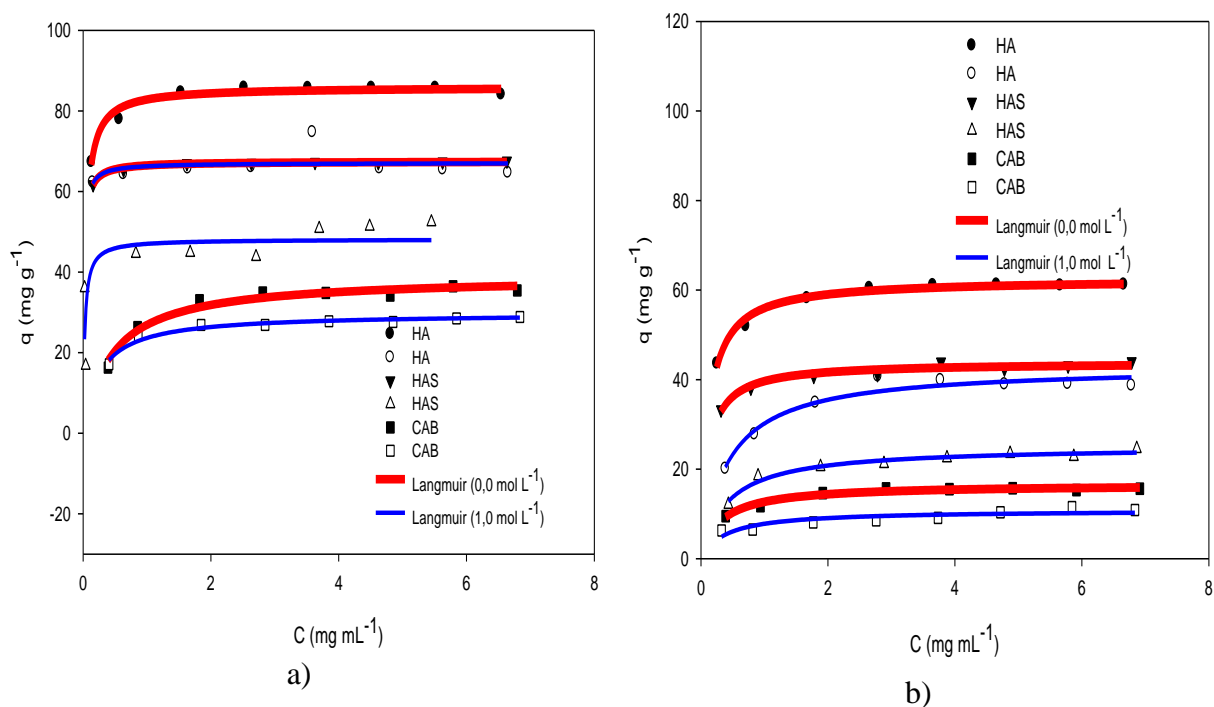
Os grupos funcionais presentes tiveram um papel importante na baixa adsorção. A força de repulsão eletrostática também influenciou a adsorção da proteína no carvão ativo de babaçu. Este comportamento também foi observado por Oliveira, et al., (2015) em pH (3,0, 5,0 e 7,0), tendo encontrado valores (8,1; 26,2 e 25,4 mg g<sup>-1</sup>) respectivamente, na adsorção de BSA em carvão ativo de cajá. Pereira, et al., (2014) e colaboradores estudaram a adsorção de BSA sobre carvão ativo produzidos com casca e sementes de seriguela tendo encontrado valores entre (41,02 e 188,29 mg g<sup>-1</sup>). El'tekova, et al., (2013) avaliando carbono ativos mesoporosos em pH 7,0 obtiveram valores de adsorção próximos a 15 mg g<sup>-1</sup> e concluiu que a natureza química e a estrutura do adsorvente afetou a adsorção da BSA, o que confirma os resultados encontrados nesta pesquisa.

Algumas resinas comerciais utilizadas em estudos com metodologias semelhantes foram obtidos resultados próximos. Andrade, et al., (2011), determinaram a isoterma de adsorção de BSA sobre resina aniônica Sapharose Q Fast Flow em pH 7,4 e 40 °C, obtiveram capacidade máxima de adsorção de 33,50 mg g<sup>-1</sup> para o modelo de Langmuir. Silva, et al., (2011) estudaram a isoterma de adsorção de BSA sobre resinas de troca iônica Streamline SP-XL em pH 3,0 a 20 °C, e encontraram capacidade máxima de adsorção de 22,78 mg g<sup>-1</sup>, também pelo modelo de Langmuir.



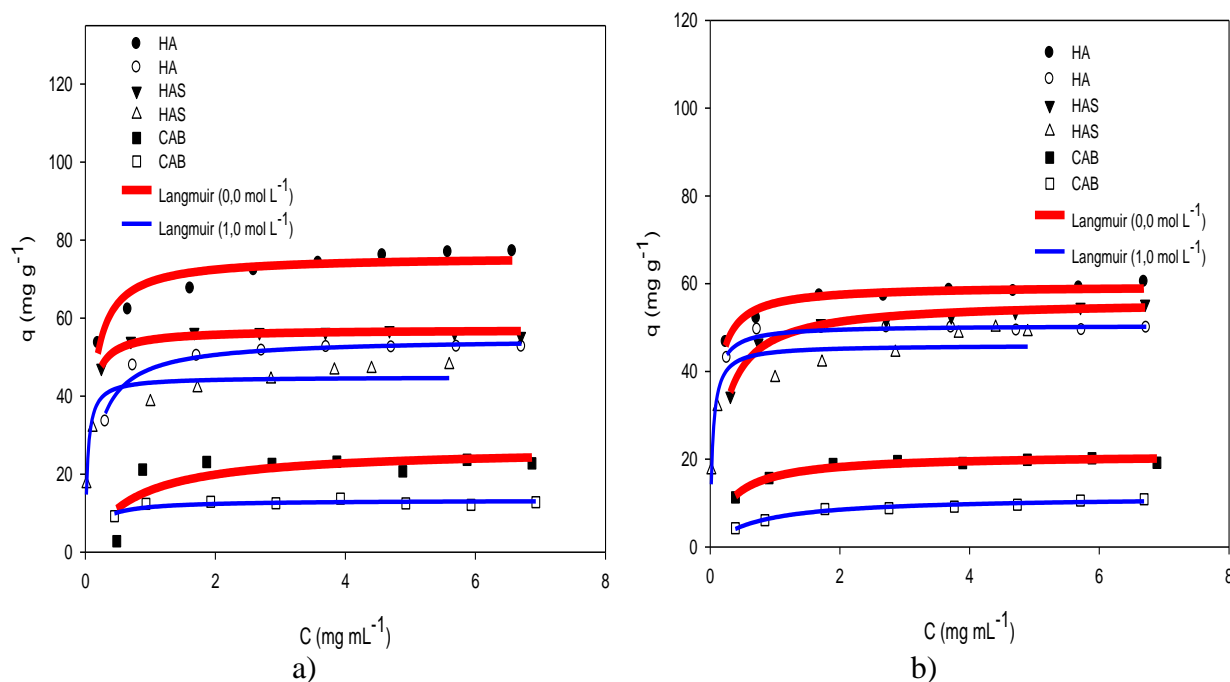
### 5.4.2 Efeito da concentração de NaCl

As isotermas de adsorção da proteína (BSA) sobre os três adsorventes foram obtidos a partir de ensaios em bateladas e estão apresentadas nas Figuras 20 (a),(b) e 21 (a),(b). O equilíbrio de adsorção dos dados foi ajustado para o modelo de Langmuir, que foi obtido no geral melhores ajustes dos parâmetros nos pH estudados anteriormente.



**Figura 20.** Isotermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) em pH 4,0 (a) e pH 5,0 (b) na ausência e presença de NaCl a 25 °C para os ajustes do modelo de Langmuir. Os símbolos representam os dados experimentais.

Observa-se que a capacidade de adsorção da proteína nos três adsorventes na faixa de pH 4,0 a 7,0 obtidas em solução tampão contendo 1,0 mol L<sup>-1</sup> de NaCl foram menores em comparação com os resultados obtidos sem NaCl. Como esperado, a presença de 1,0 mol.L<sup>-1</sup> do sal (NaCl) teve um efeito considerado para os valores de pH mais elevados, onde a força eletrostática em geral é mais fraca (WRZOSEK; POLAKOVIC, 2011). Supõe-se que a capacidade de adsorção da BSA foi influenciada em função da competição por sítios de ligação entre a proteína e íons de sal, tanto para a hidroxiapatita comercial e sintética quanto para o carvão ativo de babaçu, devido à área superficial contendo vários grupos funcionais deste último. Além disso, observa-se de acordo com os resultados encontrados, que houve competição das moléculas de proteína em solução e os eletrólitos Cl<sup>-</sup> da adição de NaCl com os contra-íons de troca.



**Figura 21.** Isotermas de adsorção de BSA sobre hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) em pH 6,0 (a) e pH 7,0 (b) na ausência e presença de NaCl a 25 °C para os ajustes do modelo de Langmuir. Os símbolos representam os dados experimentais.

No geral, a capacidade de adsorção de BSA encontradas em soluções com presença de NaCl foram mais baixas nas faixas de pH estudados em relação as soluções com ausência de NaCl. Em todas as soluções com NaCl, os efeitos das interações da proteína-adsorventes são muito fortes, sendo o efeito sal mais evidente. Sousa, (2010) confirma que o efeito da concentração de NaCl no equilíbrio de adsorção se apresenta quando há uma elevação na densidade de cargas de interação eletrostática das moléculas envolvidas no processo, e ocorre um fenômeno de repulsão entre a proteína e os adsorventes na dupla camada elétrica e a elevação da concentração de NaCl não favorece a adsorção, favorecendo a força de repulsão eletrostática entre os adsorventes utilizados e a BSA.

Wrzosek; Polakovic, (2011), em estudo do efeito do pH e concentração de NaCl sob o mecanismo de adsorção de proteínas em um trocador iônico, também observaram efeito semelhante devido à variação da concentração de NaCl. Lin; Yan (2013) avaliando a adsorção de BSA em trocadores iônicos também verificou que houve influência da concentração de sal na adsorção da proteína.

Os parâmetros de isotermas de adsorção para pH (4,0, 5,0, 6,0 e 7,0) e duas concentrações de sal ( $0,0 \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ ) para os adsorventes (hidroxiapatita comercial, hidroxiapatita sintética e carvão ativo de babaçu) estão resumidos nas Tabelas 16 a 19.

**Tabela 16** - Coeficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) em pH 4,0 na ausência e presença de NaCl.

Adsorventes	pH	Langmuir			
		NaCl (mol L <sup>-1</sup> )	q <sub>m</sub> (mg g <sup>-1</sup> )	Kd (mg mL <sup>-1</sup> )	RMSE
HA	4,0	0,0	85,53 ± 0,73 <sup>a</sup>	0,04± 0,01	1,41
		1,0	65,51± 3,07 <sup>A</sup>	0,05±0,04	3,52
HAS	4,0	0,0	68,96±0,84 <sup>b</sup>	0,02±0,03	0,34
		1,0	47,12±1,54 <sup>B</sup>	0,04±0,03	7,64
CAB	4,0	0,0	36,18±5,55 <sup>c</sup>	0,38±0,11	1,43
		1,0	29,46±0,52 <sup>C</sup>	0,41±0,13	0,83

Legenda: Para cada adsorvente analisado (HA, HAS, CAB), as letras “a, b, c” e “A, B, C” sendo diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05).

**Tabela 17** - Coeficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) em pH 5,0 na ausência e presença de NaCl.

Adsorventes	pH	Langmuir			
		NaCl (mol L <sup>-1</sup> )	q <sub>m</sub> (mg g <sup>-1</sup> )	Kd (mg mL <sup>-1</sup> )	RMSE
HA	5,0	0,0	61,72± 1,40 <sup>a</sup>	0,11± 0,02	0,86
		1,0	44,50± 1,22 <sup>A</sup>	0,40± 0,04	1,75
HAS	5,0	0,0	41,36±2,18 <sup>b</sup>	0,07±0,03	0,54
		1,0	25,96±0,86 <sup>B</sup>	0,35±0,06	0,82
CAB	5,0	0,0	17,17±1,23 <sup>c</sup>	0,39±0,09	0,51
		1,0	11,63±0,63 <sup>C</sup>	0,44±0,07	1,07

Legenda: Para cada adsorvente analisado (HA, HAS, CAB), as letras “a, b, c” e “A, B, C” sendo diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05).

**Tabela 18** - Coeficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) em pH 6,0 na ausência e presença de NaCl.

Adsorventes	pH	Langmuir			
		NaCl (mol L <sup>-1</sup> )	q <sub>m</sub> (mg g <sup>-1</sup> )	Kd (mg mL <sup>-1</sup> )	RMSE
HA	6,0	0,0	75,67± 1,03 <sup>A</sup>	0,09±0,01	3,03
		1,0	55,41±1,75 <sup>a</sup>	0,18±1,54	1,64
HAS	6,0	0,0	58,43±5,94 <sup>B</sup>	0,09±0,07	0,77
		1,0	44,52±2,04 <sup>b</sup>	0,07±1,54	0,03
CAB	6,0	0,0	28,09±1,52 <sup>C</sup>	0,62±0,10	4,64
		1,0	15,05±1,54 <sup>c</sup>	0,72±0,18	0,76

Legenda: Para cada adsorvente analisado (HA, HAS, CAB), as letras “a, b, c” e “A, B, C” sendo diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05).

**Tabela 19** - Coeficientes ajustados do modelo de Langmuir para adsorção de BSA em Hidroxiapatita comercial (HA), hidroxiapatita sintética (HAS) e carvão ativo de babaçu (CAB) na ausência e presença de NaCl.

Adsorventes	pH	Langmuir			
		NaCl (mol L <sup>-1</sup> )	q <sub>m</sub> (mg g <sup>-1</sup> )	K <sub>d</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	RMSE
HA	7,0	0,0	55,21± 0,49 <sup>a</sup>	0,22± 0,08	1,56
		1,0	50,47±1,72 <sup>A</sup>	0,25± 0,04	0,89
HAS	7,0	0,0	51,90±0,39 <sup>a</sup>	0,46±0,03	1,55
		1,0	45,51±2,24 <sup>B</sup>	0,49±0,01	4,12
CAB	7,0	0,0	27,37±5,48 <sup>b</sup>	0,12±0,16	2,31
		1,0	11,72±0,23 <sup>C</sup>	0,70±0,24	0,42

Legenda: Para cada adsorvente analisado (HA, HAS, CAB), as letras “a, b, c” e “A, B, C” sendo diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05).

Em todas as faixas de pH (4,0, 5,0, 6,0 e 7,0) estudados na presença de 1,0 mol.L<sup>-1</sup> de NaCl e sem o sal, empregando os três adsorventes, a quantidade de BSA adsorvida foi mais alta na ausência deste sal. Observa-se também que o modelo de Langmuir apresentou um bom ajuste aos dados experimentais (RMSE), demonstrando que o comportamento dos dados experimentais foram adequados para todos os adsorventes tanto na ausência quanto na presença de NaCl. Ocorreu diferença significativa (P< 0,05) entre os tratamentos com o CAB e os adsorventes HA e HAS na ausência e presença de NaCl (1,0 mol L<sup>-1</sup>) em todos os pH estudados. Isto pode ser explicado pela sensibilidade que o modelo de Langmuir tem em relação à heterogeneidade da superfície do carvão ativo, em função da presença dos heteroátomos presentes na superfície, além disso, observa-se a possível competição entre as moléculas de proteína em solução e os eletrólitos Cl<sup>-</sup> da adição de NaCl com os contra-íons de troca. A hidroxiapatita comercial (HA) e a sintética (HAS), apesar de terem semelhanças moleculares, apresentaram diferenças estatísticas significativas (P<0,05). Supõe-se que forças eletrostáticas, ligação de íons de cloro (Cl<sup>-</sup>) e íons de cálcio, carregados positivamente na superfície da hidroxiapatita, foram importantes na alteração da carga líquida na superfície da proteína, aumentando a densidade de cargas negativas, e assim, favorecendo a adsorção da albumina de soro bovino (BSA) na superfície da hidroxiapatita, tanto a comercial quanto a sintética.

Os resultados mostram também, que no geral a capacidade máxima de adsorção (q<sub>m</sub>) aumenta enquanto que a constante de dissociação (k<sub>d</sub>) diminui. Observa-se que o aumento da concentração de NaCl promoveu uma diminuição no valor de (q<sub>m</sub>), indicando que a presença do sal aumentou a reação de dessorção. Os valores para constantes de dissociação (k<sub>d</sub>) mais baixos indicam que o fenômeno de adsorção foram mais favoráveis em pH 4,0 e 6,0,

consequentemente, o equilíbrio é atingido de forma mais rápida, indicando também que o processo é espontâneo e reversível. Este fato mostra também que a recuperação da BSA após adsorção nos adsorventes é possível segundo Guiochon, et al., (1994). Na literatura, valores próximos de  $k_d = 0,178$  a  $0,210 \text{ mg mL}^{-1}$  foram obtidos para o pH 4,0 (KOPAC, et al., 2008).

## 6. CONCLUSÕES

A análise cinética foi melhor representada no modelo de Pseudo segunda-ordem com características de quimissorção;

A hidroxiapatita comercial foi mais eficiente em relação à hidroxiapatita sintética e o carvão ativo de babaçu;

O potencial zeta mostrou variação entre as cargas líquidas para os adsorventes, principalmente para o carvão ativo de babaçu em relação à hidroxiapatita (comercial e sintética), a superfície heterogênea do carvão influenciou esta variação;

No geral, o estudo do modelo de Langmuir apresentou resultado mais satisfatório, indicando uma maior homogeneidade dos adsorventes. Em relação à adsorção da BSA, a hidroxiapatita comercial apresentou uma maior capacidade de adsorção comparando-se com a hidroxiapatita sintética e o carvão ativo de babaçu. Observa-se que ocorreu saturação da quantidade adsorvida de forma significativa devido ao pH e a concentração de sal (NaCl) em solução, além das características de superfície, principalmente do CAB.

## 7. SUGESTÕES

Os resultados obtidos neste estudo mostram as contribuições dadas ao cenário de separação da proteína do soro de leite bovino. Entretanto, ainda há muito a fazer na contribuição deste cenário, assim apresentado na sequencia algumas sugestões de trabalhos futuros.

- Realizar procedimentos específicos de purificação da proteína obtida com os adsorventes trabalhados;
- Validar os procedimentos utilizados de purificação da proteína obtida com os adsorventes trabalhados;

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M. P.; MOREIRA, R. O.; RODRIGUES JUNIOR, P. H.; MARTINS, M. C. F. PERRONE, Í. T.; CARVALHO, A. F. SORO DE LEITE: TECNOLOGIAS PARA O PROCESSAMENTO DE COPRODUTOS. Revisão: Whey: Technologies for coproducts production. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, 69, 3, 212-226, 2014.

ADAPEC. Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins (Palmas, TO). **Ação Conjunta de combate à produção e comercialização irregular de queijos**, 2009.

ALBREHT, A.; VOVK, I. Applicability of analytical and preparative monolithic columns to the separation and isolation of major whey proteins. **Journal of Chromatography A**, 1227, 210-218, 2012.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K. W. P. **Fundamentos da Biologia Celular**. 2 ed. Porto Alegre, Artmed, 2005.

ALMQVIST, N.; THONSON, N.H.; SMITH, B.L. Methods for fabricating and characterizing a new generation of biomimetic materials. **Materials Science & Engineering**, 7; 34- 43, 1999.

ANDRADE, D. M.; PEREIRA, R. G.; FONTAN, R. C. I. **Determinação de isoterma de adsorção da proteína BSA em resina aniônica**, in: G. Seabra, I. Mendon (Eds.), Educ. Ambient. Responsab. Para a Conserv. Da Sociobiodiversidade, v. 1, Editora Universitária da UFPB, João Pessoa, 133–138p, 2011.

ANTILA P.; PAAKKARI, I.; JÄRVINEN A.; MATTILA, M.J.; LAUKKANEN, M.; PIHLANTO-LEPPÄLÄ A.; MÄNTSÄLÄ, P, HELLMAN, J. Opioid peptides derived from in vitro proteolysis of bovine whey proteins. **International Dairy Journal**; 1, 215-229, 1991.

BALLERSTEIN, M.; MICHAELS, D.; SEIDEL-MORGENSTERN, A.; WEISMANTEL, R. A theoretical study of continuous counter-current chromatography for adsorption isotherms with inflection points. **Computers and Chemical Engineering**, 34, 447-459, 2010.



BANKSTON, T. E.; STONE, M. C.; CARTA, G. Theory and applications of refractive index-based optical microscopy to measure protein mass transfer in spherical adsorbent particles. **Journal of Chromatography A**, 1188, 242–254, 2008.

BARNTHIP N, NOH H, LEIBNER E, VOGLER EA. Volumetric interpretation of protein adsorption: kinetic consequences of a slowly-concentrating interphase. **Biomaterials**, 29, 3062-74, 2008.

BARNTHIP N, PARHI P, GOLAS A, VOGLER EA. Volumetric interpretation of protein adsorption: kinetics of protein-adsorption competition from binary solution. **Biomaterials**, 30, 6495-513, 2009.

BARNTHIP N.; VOGLER, E.A. Protein adsorption kinetics from single- and binary-solution. **Applied Surface Science**, 262, 19-23, 2012.

BARRAL, S.; VILLA-GARCÍA, M.A.; RENDUELES, M.; DIAZ, M. Interactions between whey proteins and kaolinite surfaces. **Acta Materialia**, 56, 2784-2790, 2008.

BECKER, J.S.; THOMAS, O.R.T.; FRANZREB, M. Protein separation with magnetic adsorbents in micellar aqueous two-phase systems. **Separation and Purification Technology**, 65, 46-53, 2009.

BESSELINK, T.; JANSSEN, A. E. M.; BOOM, R. M. Isolation of bovine serum albumin from whey using affinity Chromatography. **International Dairy Journal**, 41, 32-37, 2015.

BINAZADEH, M.; ZENG, H.; UNSWORTH, L.D. Effect of peptide secondary structure on adsorption and adsorbed film properties. **Acta Biomaterialia**, 9, 6403-6413, 2013.

BLASCHKE, T.; WERNER, A.; HASSE, H. Microcalorimetric study of the adsorption of native and mono-PEGylated bovine serum albumin on anion-exchangers. **Journal of Chromatography A**, 1277, 58-6, 2013.

BOONSONGRIT Y.; ABE, H.; SATO, K.; NAITO, M.; YOSHIMURA, M.; ICHIKAWA, H.; FUKUMORI, Y. Controlled release of bovine serum albumin from hydroxyapatite microspheres for protein delivery system. **Materials Science and Engineering: B**, 148, 1-3, 162-165, 2008.

BRAGA, R. M. **Uso de argilominerais e diatomita como adsorvente de fenóis em águas produzidas na indústria de petróleo.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Petróleo). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2008.

BREMER, M.G.E.G.; DUVAL, J.; NORDE, W.; LYKLEMA, J. Electrostatic interactions between immunoglobulin (IgG) molecules and a charged sorbent. **Colloids and Surfaces A**, 250, 29-42, 2004.

BRUNAUER, S.; EMMET, T.H.; TELLER, F. Adsorption of gases in multimolecular layers. In: **Journal of the American Chemists Society**, 60, 2, 309-319, 1938.

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M. T. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F. L. Recuperação das proteínas do soro do leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 40, 11, 1123-1128, 2005.

CAO, M.; LI, Z.; WANG, J.; GE, W.; YUE, T.; LI, R.; COLVIN, V. L.; W. Y. W. Food related applications of magnetic iron oxide nanoparticles: Enzyme immobilization, protein purification, and food analysis. **Trends in Food Science & Technology**, 27, 47-56, 2012.

CARRAZZA, L. R.; CRUZ, J. C. A.; SILVA, M. L. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Babaçu (*Attalea spp.*)**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

CARRIJO, L. C. A bioquímica de Proteínas In. BARACAT-PEREIRA, M. C. **Bioquímica de proteínas. Fundamentos estruturais e funcionais**. Viçosa, MG.: Ed. UFV, 19-40p. 2014.

CARVALHO, A. F.; PERRONE, I.T.; CORREIA, L. F. M. (2013). **Cadeia de Produtos: Tendências e Perspectivas**. Revista Laticínios. Disponível em: <<http://revistalaticinios.com.br/wp-content/uploads/2013/01/16-33-Materia-de-Capa-99.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

CASA, E. J.; GUADIX, A.; IBANEZ, R.; GUADIX, E. M. Influence of pH and salt concentration on the cross-flow microfiltration of BSA through a ceramic membrane. **Biochemical Engineering Journal**, 333, 110-115, 2007.

CHEN, S. F.; LI, L. Y.; ZHAO, C.; ZHENG, J. Surface hydration: principles and applications toward low-fouling/nonfouling biomaterials. **Polymer**, 23, 51, 5283-93, 2010.

CHENG, Y. L.; DARST, S. A.; ROBERTSON, C. **Journal of Colloid and Interface Science**, 118, 1987.

COHEN, Y.; PETERS, R. W. Novel Adsorbents and their Environmental Applications, **American Institute of Chemical Engineers**, 1:10, New York, 1995.

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C. V.; LIRA, H. L. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, 4, 3, 29-38, 2009.

COTTET L. **Modificação da argila montmorilonita e do carvão de coco de babaçu ativo com óxido de ferro: caracterização e aplicação na adsorção do azul de metileno**. Dissertação (Mestrado em Química aplicada). Universidade Estadual do Paraná, Brazil, 2009.

COULSON, J. M.; RICHARDSON, J. F. “**Chemical Engineering**”, Vol. III, Pergamon Press, 1985.

COULSON, J. M.; RICHARDSON, J. F. **Chemical Engineering - Particle technology and separation processes**, 4 ed. Butterworth-Heinemann, Oxford, vol. 2, 979p. 1996.

CRINI, G.; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. **Progress in Polymer Science**, 33, 399-447, 2008.

CUNHA, L. **BRF anuncia joint venture para processamento de proteínas de soro de leite**, 2012. In: MilkPoint, Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/brf-anuncia-joint-venture-para-processamento-de-proteinas-de-soro-de-leite-81301n.aspx>>. Acesso em: 15 out. 2015.

DABROWSKI, A.; PODKOŚCIELNY, P.; HUBICKI Z.; BARCZAK, M. Adsorption of phenolic compounds by activated carbon. A critical review, **Chemosphere**, 58, 1049–1070, 2005.

DARTON, N.J.; REIS, N.M.; MACKLEY, M.R.; SLATER, N.K.H. Fast cation-exchange separation of proteins in a plastic microcapillary disc. **Journal of Chromatography A**, 1218, 1409-1415, 2011.

DELIGIANNI, D. D.; KATSALA, N.; LADAS, S.; SOTIROPOULOU, D.; AMEDEE, J.; MISSIRLIS, Y. F. Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption. **Biomaterials**, 22, 11, 1241-51, 2001.

DE MOURA, C. S.; BARBOZA LOLLO, P. C.; MORATO, P. N.; CARNEIRO, E. M.; AMAYAN-FARFAN, J. Whey protein hydrolysate enhances the exercise-induced heat shock protein (HSP70) response in rats. **Food Chemistry**, 136, 3-4, 1350-1357, 2013.

DUCHEYNE P., QIU Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. **Biomaterials** 20, 2287–2303, 1999.

DE Wit, J. N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **Journal of Dairy Science**, 81, 597-608, 1998.

EANES, E. D. **Program Crystal Growth Characteristics**, 1980.vol. 3, p. 3-15.

ELGERSMA, A. V.; ZSOM, R. L. J.; LYKLEMA, J.; NORDE, W. Kinetics of single and competitive protein adsorption studied by reflectometry and streaming potential measurements. **Colloids Surfaces**, 65, 1, 17-28, 1992.

EL'TEKOVA, N. A.; SOKOLOVA, N. P.; GORBUNOV, A. M.; EL'TEKOV. A. YU. Interaction of Albumin with Silica and Carbon Adsorbent Surfaces. **Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces**, 49, 4, 421–425, 2013.

FELSOVALYI F, MANGIAGALLI P, BUREAU C, KUMAR SK, BANTA S. **Langmuir**, 27, 11873-82, 2011.

FENOGLIO, I.; FUBINI, B., GHIBAUDI, E.M.; TURCI, F. Multiple aspects of the interaction of biomacromolecules with inorganic surfaces. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 63, 1186–1209, 2011.

FERREIRA, R. C. **Separação de  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina de proteínas de soro de leite por adsorção em colunas de leito fixo**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2001.

FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C.B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo: USP, 44, 3, 361- 375, 2008.

FONTAN, R. C. I.; MINIM, L. A.; BONOMO, R. C. F.; DA SILVA, L. H. M.; MININ, V. P. R. Adsorption isotherms and thermodynamics of  $\alpha$ -lactalbumin on an anionic exchanger. **Fluid Phase Equilibria**, 348, 39-44, 2013.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H; Milk Proteins. **Dairy Chemistry and Biochemistry**, Ireland: Blackie Academic & Professional, 478p. 1998.

FRANZREB, M., SIEMANN-HERZBERG, M., HOBLEY, T. J.; THOMAS, O. R. T. Protein purification using magnetic adsorbent particles. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 70, 505-516, 2006.

GAO, D.; LIN, D. Q.; YAO, S. J. Patch controlled protein adsorption in mixed-mode chromatography with benzylamine as functional ligand. **Biochemical Engineering Journal**, 38, 355-361, 2008.

GAO D, LIN DQ, YAO SJ, Measurement and Correlation of Protein Adsorption with Mixed-mode Adsorbents Taking into Account the Influences of Salt Concentration and pH, **Journal of Chemical Engineering Data**, 51, 4, 1205-1211, 2006.

GAO, L., ZHANG, X.; MCCARTHY, T. J. Wetting and superhydrophobicity. **Langmuir**, 5, 14100-14104, 2009.

GARLAND, A.; SHEN, L.; ZHU. X. Review - Mobile precursor mediated protein adsorption on solid surfaces. **Progress in Surface Science** 87, 1-22, 2012.

GAVARA, P. R.; CABRERA, R.; VENNAPUSA, R. R.; GRASSELLI, M.; FERNANDEZ-LAHOURE, M. Preparation, characterization, and process performance of composite fibrous adsorbents as cation exchangers for high throughput and high capacity bioseparations. **Journal of Chromatography B**, 903, 14-22, 2012.

GILES, C. H.; MACEWAN, T. H.; NAKHWA, S. N.; SMITH, D. **Journal of the American Chemical Society**, 3973, 1960.

GILES, C. H.; SMITH, D.; HUITSON, A. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. **Journal of Colloid Interface Science**, 47, 755-65, 1974.

GILL, H. S.; CROSS, M. L. Anticancer properties of bovine milk. **British Journal of Nutrition, Supplements**, 84, 1, 161-166, 2000.

GIRALDO-ZUÑIGA, A. D.; COIMBRA, J. S. R.; GOMES, J. C., MINIM, L. A.; ROJAS, E. E. G.; GADE, A. D. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de leite, **Dairy Journal Bimonthly The Cândido Tostes Dairy Institute**, 59, 53-66, 2004.

GONZÁLEZ-ORTEGA, O.; PORATHA, J.; GUZMÁN, R. Adsorption of peptides and small proteins with control access polymer permeation to affinity binding sites. Part II: Polymer permeation-ion exchange separation adsorbents with polyethylene glycol and strong anion exchange groups. **Journal of Chromatography A**, 1227, 126-137, 2012.

GORGULHO, H. F.; MESQUITA, J. P.; GONÇALVES, F.; PEREIRA, M. F. R.; FIGUEIREDO, J. L. Characterization of the surface chemistry of carbon materials by potentiometric titrations and temperature-programmed desorption. **Carbon**, Oxford, 46, 12, 1544-1555, 2008.

GRITTI, F.; GOTMAR, G.; STANLEY, B. J.; GUIOCHON, G. **Journal of Chromatography A**, 988, 185-203, 2003.

GUIOCHON, G.; SHIRAZI, S. G.; KATTI, A.M. **Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography**, Academic Press, New York, 700p, 1994.

HARTMANN, R.; MEISEL, H.; Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. **Current Opinion in Biotechnology**, 18, 163-169, 2007.

HAQUE, M. A.; BARMAN, D. N.; KANG, T. H.; KIM, M. K.; KIM, J.; KIM, H.; YUN, H. D. Effect of dilute alkali pretreatment on structural features and enhanced enzymatic hydrolysis of *Miscanthus sinensis* at boiling temperature with low residence time, **Biosystems Engineering**, 114, 3, 294-305, 2013.

HUNTER R. J. **Zeta Potential in Colloid Science Principles and Applications**, *Academic Press*, New York, 1981.

IMAFIDON, G. I.; FARKYE, N.Y.; SPANIER, A. M. Isolation, purification and alteration of some functional groups of major milk proteins: a review. **Critical Reviews in Food Science**, 37, 663-689, 1997.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. Aspectos das Importações de Soro de Leite no Brasil. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, 8, 7, 2013.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). **Handbook**. Columbus, 54, 2201, 1982.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC) -. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984), **Pure & Applied Chemistry**, 57, 603-619, 1985.

JACOBSON, J.; FRENZ, J.; HORVÁTH, C. Measurement of competitive adsorption isotherms by frontal chromatography. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, 26, 43-50, 1987.

JAHANSHAH, M.; PARTIDA-MARTINEZ, L.; HAJIZADEH, S. Preparation and evaluation of polymer-coated adsorbents for the expanded bed recovery of protein products from particulate feedstocks. **Journal of Chromatography A**, 1203, 13-20, 2008.

JANKOWSKA, H., SWIATKOWSKI, A.; CHOMA, J. **Active Carbon**. Ellis Harwood, New York, NY, 1991.

JIN, L.; HE, D.; LI, Z.; WEI, M. Protein adsorption on gold nanoparticles supported by a layered double hydroxide. **Materials Letters**, 77, 67-70, 2012.

JOVANOVIĆ, D.S. Physical adsorption of gases I: isotherms for monolayer and multilayer adsorption. **Colloid Polymer Science**, 235, 1203-1214, 1969.

KADI, E.N.; TAULIER, N.; LE HUÉROU, J. Y.; GINDRE, M.; URBACH, W.; NWIGWE, I.; KAHN, P. C.; WAKS, M. Unfolding and Refolding of Bovine Serum Albumin at Acid pH: Ultrasound and Structural Studies, **Biophysical Journal**, 91, 3397–3404, 2006.

KANDORI, K.; OKETANI, M.; WAKAMURA, M. Effects of Ti(IV) substitution on protein adsorption behaviors of calcium hydroxyapatite particles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 101, 68-73, 2013.

KAPPEL, F. I.; BALBINOT, N. S.; SCHNEIDER, R. C. S.; RODRIGUEZ, A. L.; MÄHLMANN, C. M.; BERGONZI, R. Avaliação da produção de carvão ativo a partir da

torta residual do processo de extração de óleo de girassol. **17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**. 2006.

KARAJANAGI, S. S., VERTEGEL, A. A., KANE, R. S., DORDICK, J. S., Structure and Function of Enzymes Adsorbed onto Single-Walled Carbon Nanotubes, **Langmuir**, 20, 26, 11594–11599, 2004.

KAY, M. I. Crystal Structure of Hydroxyapatite. **Nature**, 204, 1050-1055, 1964.

KOPACIEWICZ, W.; ROUNDS, M. A.; FAUSNAUGH, J.; REGNIER, F. E. Retention model for high-performance ion-exchange chromatography. **Journal of Chromatography**, 266, 3-21, 1983.

KOPAC, T.; BOZGEYIK, K.; YENER, J. Effect of pH and temperature on the adsorption of bovine serum albumin onto titanium dioxide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 322, 19-28, 2008.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases in a plane surfaces of glass, mica and platinum. In: **Journal of the American Chemistry Society**, 46, 1361-1403, 1918.

LIGHTFOOT, E. N.; MOSCARIELLO, J. S. Bioseparations. **BIOTECHNOLOGY. BIOENGINEERING**, 87, 259-273, 2004.

LI, J.; LI, X. P.; ZHANG, Qi-XIAN; SHI, B.; LI, Xue-PIN, ZHANG, Qi-XIAN, SHI, B. Adsorption and separation of proteins by collagen fiber adsorbent. **Journal of Chromatography B**, 928,131-138, 2013.

LIN, S.; BLANCO, R.; KARGER, B.L. Adsorption-desorption isotherm hysteresis of  $\beta$ -lactoglobulin A with a weakly hydrophobic surface. **Journal of Chromatography**, 557, 369-382, 1991.

LIN, L.; Y.; YAN, S. Protein adsorption to poly(ethylenimine)-modified Sepharose FF: II. Effect of ionic strength. **Journal of Chromatography A**, 1305, 85– 93, 2013.

LIRA, R. A.; MINIM, A.; BONOMO, R. C.F.; MINIM, V.P.R.; SILVA. L.H.M.; SILVA., M. C.H. Microcalorimetric study of adsorption of glycomacropptide on anion-exchange chromatography adsorbent. **Journal of Chromatography A**, 1216, 4440-4444, 2009.



LOPES, M. A.; MONTEIRO, F. J.; SANTOS, J. D.; SERRO, A. P.; SARAMAGO, B. Hydrophobicity, surface tension, and zeta potential measurements of glass-reinforced hydroxyapatite composites. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, 45, 4, 370-375, 1999.

LOUGHNEY, J. W.; LANCASTER, C.; RUSTANDI, R.R. residual bovine serum albumin (BSA) quantitation in vaccines using automated capillary western technology. **Analytical Biochemistry**, 15, 461-49-56, 2014.

LOZANO, J. M.; GIRALDO, G. I.; ROMERO, C. M. An improved method for isolation of  $\beta$ -lactoglobulin. **International Dairy Journal**, 18, 55-63, 2008.

LUNDQVIST, M.; SETHSON, I.; JONSSON, B. H. Protein adsorption onto silica nanoparticles: conformational changes depend on the particles' curvature and the protein stability, **Langmuir**, 20, 10639-10647, 2004.

MADUREIRA, A.R.; TAVARES, T.; GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Invited review: Physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. **Journal of Dairy Science**, 93, 437-455, 2010.

MALVERN INSTRUMENTS LTD. **Zetasizer Nano Series, User Manual**, 2004. Disponível em: <[http://www.biophysics.bioc.cam.ac.uk/files/Zetasizer\\_Nano\\_user\\_manual\\_Man0317-1.1.pdf](http://www.biophysics.bioc.cam.ac.uk/files/Zetasizer_Nano_user_manual_Man0317-1.1.pdf)>. Acesso em: 01 dez. 2014.

MANTELL, C.L, **Adsorption**, 2 ed. New York: McGraw-Hill Book Company, Inc., 1951.

MARKLAND, P, ZHANG Y, AMIDON GL, YANG VC. A pH- and ionic strength responsive polypeptide hydrogel: synthesis, characterization, and preliminary protein release studies. **Journal of Biomedical Materials Research**, 47, 4, 595-602, 1999.

MAVROPOULOS, E.; COSTA, A.; COSTA, L.T.; ACHETE, C.A.; MELLO, A.; GRANJEIRO, J.M.; ROSSI, A. M. Adsorption and bioactivity studies of albumin onto hydroxyapatite surface. **Colloids and Surfaces B: iointerfaces**, 83, 1-9, 2011.

MAY, P.; Veiga Neto, F.C.; Cheves Pozo, O.V. 2000. **Valoração econômica da biodiversidade**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. 90p

MEDER, F.; BRANDES, C.; TRECCANI, L.; REZWAN, K. Controlling protein–particle adsorption by surface tailoring colloidal alumina particles with sulfonate groups. **Acta Biomaterialia**, 9, 5780-5787, 2013.

MEDER, F.; DABERKOW, T.; TRECCANI, L.; WILHELM, M.; SCHOWALTER, M.; ROSENAUER, A. Protein adsorption on colloidal alumina particles functionalized with amino, carboxyl, sulfonate and phosphate groups. **Acta Biomaterialia**, 8, 3, 1221-9, 2012.

MEISEL, H.; FITZGERALD, R. J. Opioid peptides encrypted in milk proteins. **Journal of Nutrition**, 84, 27-31, 2000.

MEISEL, H.; SCHLIMME, E. Bioactive peptides derived from milk proteins: ingredients for functional foods? **Kieler Milchwirtschaftliche und Forschungsberichte**, 48, 343-357, 1996.

MIHELČIĆ, I.; PODGORNIK, A.; KOLOINI T. Temperature influence on the dynamic binding capacity of a monolithic ion-exchange column. **Journal of Chromatography A**, 987, 159- 168, 2003.

MIZUBUTI, I. Y. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. **Seminário: Ciências Agrárias**, 15, 1, p. 80-94, 1994.

MORR, C. V.; HA, E. Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 33, 431-476, 1993.

NABET, P.; LINDEN, G. Constituants bioactifs in lait, nutrition et santé. Paris: **Tec. & Doc**, 169-87, 2001.

NAGAOKA, S.; FUTAMURA, Y.; MIWA, K.; AWANO, T.; YAMAUCHI, K.; KANAMARU, Y.; KOJIMA, T.; KUWATA, T. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk  $\beta$ -lactoglobulin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 281, 11-17, 2001.

NAKANISHI, K.; SAKIYAMA, T.; IMAMURA, D. K. On the adsorption of proteins on solid surfaces, a common but very complicated phenomenon. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 91, 233-244, 2001.

NATH N, HYUN J, MA H, CHILKOTI A. Surface Engineering Strategies for Control of Protein and Cell Interactions. **Surface Science**, 570, 98-110, 2004.

NFOR, B. K.; NOVERRAZ, M.; CHILAMKURTHI, S.; D.E.M. VERHAERT, P. D. E. M.; WIELEN, V. D.; OTTENS, M. High-throughput isotherm determination and thermodynamic modeling of protein adsorption on mixed mode adsorbents. **Journal of Chromatography A**, 1217, 6829-6850, 2010.

NOISUWAN, A.; HEMAR, Y.; WILKINSON B., BRONLUND, J.E. Adsorption of milk proteins onto rice starch granules. **Carbohydrate Polymers**, 84, 247-254, 2011.

NOH H, VOGLER EA. Volumetric interpretation of protein adsorption: competition from mixtures and the vroman effect. **Biomaterials**, 28, 405-22, 2007.

NOH, H.; YOHE, S. T.; VOGLER, E. A. Volumetric interpretation of protein adsorption: Ion-exchange adsorbent capacity, protein, and interaction energetics. **Biomaterials**, 29, 2033-2048, 2008.

NORDE W. My voyage of discovery to proteins in flatland and beyond, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 61, 1-9, 2008.

NORDE W, LYKLEMA J. The adsorption of human plasma albumin and bovine pancreas ribonuclease at negatively charged polystyrene surfaces: I. Adsorption isotherms. Effects of charge, ionic strength, and temperature. **Journal of Colloid Interface Science**, 66, 2, 257-65, 1978.

OLIVEIRA, T. P.; BORGES, J. F.; MONTEIRO, K. A.; BRITO, M. J. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, T. B. (2015). Adsorption of bovine serum albumin (BSA) in activated carbon obtained from the core of cajá, In: **Annals do XXXVII Brazilian Congress of Particulate Systems - ENEMP 2015 [Blucher Engineering Proceedings]**. São Paulo: Blucher, 2015. São Paulo: Blucher, 2015. 1253-1258.

OSTUNI, E.; CHAPMAN, R. G.; HOLMLIN, R. E.; TAKAYAMA, S.; WHITESIDES, G. M. A survey of structure-property relationships of surfaces that resist the adsorption of protein. **Langmuir**, 17, 18, 5605-20, 2001.

PARHI P, GOLAS A, BARNTHIP N, VOGLER EA. Volumetric interpretation of protein adsorption: capacity scaling with adsorbate molecular weight and adsorbent surface energy. **Biomaterials**, 30, 6814-24, 2009.

PAVLAK, M.C. M.; ZUNIGA, A. D. G.; LIMA, T. L. A.; PINEDO, A. A. CARREIRO, S. C.; FLEURY, C. S.; SILVA, D. L. Aproveitamento da farinha do mesocarpo do babaçu (*Orbignya martiana*) para obtenção de etanol. Evidência, **Joaçaba**, 7, 1, 7-24, jan./jun. 2007.

PEREIRA, R. G.; VELOSO, C. M.; SILVA, N. M., SOUSA, L. F.; BONOMO, R. C.F.; SOUZA, A. O.; SOUZA, M. O. G.; FONTAN, R. C. I. Preparation of activated carbons from cocoa shells and siriguela seeds using H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> and ZnCl<sub>2</sub> as activating agents for BSA and  $\alpha$ -lactalbumin adsorption. **Fuel Processing Technology**, 126, 476-486, 2014.

PETERS, T. JR., Serum Albumin, **Advances in Protein Chemistry**, 37, 161-245, 1985.

RABE, M.; VERDES, D.; SEEGER, S. Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**. 162, 87-106, 2011.

RCSB-PDB - **Proteins Data Bank**. Image from the RCSB PDB (www.rcsb.org) of PDB ID 1BNA (H.R. Drew, R.M. Wing, T. Takano, C. Broka. Disponível em: <<http://www.pdb.org/pdb/explore/images.do?structureId=4LUF>>. Acesso em: 12 dez 2014.

RICHARDS F. M. Areas, volumes, packing and protein structure. **Annual Review of Biophysics and Bioengineering Journal**, 6, 151-76, 1977.

ROSA, L.; CABRAL, L.; MELLINGER, C. **Pesquisadores identificam composto benéfico para a saúde em soro de leite**, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/-/noticia/4989705/pesquisadores-identificam-composto-benefico-para-a-saude-em-soro-de-leite> Acesso em: jan 2016

ROSSANO, R.; D'ELIA, A.; RICCIO, P. – One-Step Separation from Lactose: Recovery and Purification of Major Cheese-Whey Proteins by Hydroxyapatite – A flexible Procedure Suitable for Small-and Medium-Scale Preparations, **Protein Expression**, 21, 165-169, 2001.

ROUQUEROL, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K. **Adsorption by powders and porous solids. Principles, methodology and application**. London: Published Academic Press, 1999.

RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption processes**. New York: Wiley, 1984.

SAFARIK, I.; SAFARIKOVA, M. Magnetic techniques for the isolation and purification of proteins and peptides. **BioMagnetic Research and Technology**, 2, 1-17, 2004.

SANTOS, M. J.; TEIXEIRA, J. A.; RODRIGUES, L. R. Fractionation of the major whey proteins and isolation of b-Lactoglobulin variants by anion exchange chromatography. **Separation and Purification Technology**, 90, 133-139, 2012.

SEIGEL, R. R.; HARDER, P.; DAHINT, R.; GRUNZE, M.; JOSSE, F.; MRKSICH, M. On-linedetection of nonspecific protein adsorption at artificial surfaces. **Analytical Biochemistry**, 69, 3321-8, 1997.

SEKARAN, G.; MARIAPPAN, M.; RAGHAVAN K.V., Adsorption of Bovine Serum Albumin from salt solution onto activated carbon, **Bioprocess Engineering**, 15, 165–169, 1996.

SGARBIERI, V.C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, 17, 4, 397-409, 2004.

SHEN, J. W.; WU, T.; WANG, Q.; PAN, H. H. Molecular simulation of protein adsorption and desorption on hydroxyapatite surfaces. **Biomaterials**, 29, 513-532, 2008.

SILVA, N. M.; ARAÚJO, R.V.; BICALHO, S. F Determinação de relações de equilíbrio de adsorção da proteína BSA em resina catiônica, In:\_\_\_ G. Seabra, I. Mendon (Eds.), Educ. Ambient. Responsab, Para a Conserv. Da Sociobiodiversidade, v. 2, Ed.Universitária da UFPB, 850–856p, 2011.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins e from ‘gutter-to-gold’. **International Dairy Journal**, 18, 695-704, 2008.

SMITHERS, G. W., BALLARD, J.B., COPELAND, A.D., KIRTHI, J.A., DIONYSIUS, D.A., FRANCIS, G.L., GODDARD, C., GRIEVE, P.A., McINTOSH, G.H., MITCHELL, I.R., PEARCE, R.J., REGESTER, G.O. Symposium: advances in dairy foods processing and engineering; new opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. **Journal of Dairy Science**, 79, 7, 1454-1459, 1996.

SOUSA, R. C. S. **Adsorção de  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin e glycomacropeptideo usando adsorventes alternativos**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2010.

SOUSA, R. C. S.; COIMBRA, J. S. R.; XAVIER, A. L. L.; REIS, L. S.T. Adsorption of alpha-lactalbumin from milk whey on hydroxyapatite: effect of pH and temperature and thermodynamic analysis. **Quimica Nova**, 37, 6, 950-955, 2014.

SVENSSON, M.; HAKANSSON, A.; MOSSBERG, A.K.; LINSE, S.; SVANBORG, C. Conversion of  $\alpha$ -lactalbumin to a protein inducing apoptosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, 97, 4221-4226, 2002.

SWAIN, S. K.; SARKAR, D. Study of BSA protein adsorption/release on hydroxyapatite nanoparticles. **Applied Surface Science**, 286, 99-103, 2013.

SUZUKI, M. **Adsorption Engineering**. Amsterdam: 1<sup>a</sup> ed., Amsterdam, 295p. 1990.

TANI, F.; SHIOTA, CHIBA, H.; YOSHIKAWA, M. **Serophin an opioid peptide derived from bovine serum albumin**. In: Brantl V. (ed.)  $\beta$ -Casomorphins and relate peptides: recent developments. Weinheim, Germany: VCH-Verlag; 1993.49-53.

SUZAWA, T., SHIRAHAMA, H.; HUIJIMOTO, T. **Journal of Colloid and Interface Science**, 86, 144, 1982.

TARDIOLI, P. W.; PEDROCHE, J; GIORDANO, R. L. C.; FERNANDEZ-LA FUENTE, R.; GUIBAN, J. M. Hidrolysis of proteins by immobilized-stabilized alcalase-glyoxyl agarose. **Biotechnology Progress**, 19, 352-360, 2003.

TAVARES T.G.; MALCATA F. X. Whey Proteins as Source of Bioactive Peptides Against Hypertension. **Bioactive Food Peptides in Health and Disease** (2013). Disponível em: <<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/42430.pdf>> Acesso em: 20 Fev. 2015.

TAVARES, T. G.; SEVILLA, M. A.; MONTERO, M. J.; CARRÓN, R.; MALCATA, F. X. Acute effects of whey peptides upon blood pressure of hypertensive rats, and relationship with their angiotensin-converting enzyme inhibitory activity. **Molecular Nutrition and Food Research**, 2011. doi: 10.1002/mnfr.201100381

TECHNIVEST, **Estudo de mercado do soro lacteo em Portugal**, 2000. Disponível em: <[https://www.google.com.br/?gws\\_rd=ssl#q=TECHNIVEST%2C+Estudo+de+mercado+do+soro+lacteo+em+Portugal%2C+2000](https://www.google.com.br/?gws_rd=ssl#q=TECHNIVEST%2C+Estudo+de+mercado+do+soro+lacteo+em+Portugal%2C+2000)>. Acesso em: 19 mar. 2014.

TERCINIER, L. A.; YE AIQIAN, A.; ANEMA, S.; SINGH, A.; SINGH, H. Adsorption of milk proteins on to calcium phosphate particles. **Journal of Colloid and Interface Science**, 394, 458-466, 2013.

TOBASA BIOINDUSTRIAL de BABAÇU S.A. Disponível em: <[http://www.tobasa.com.br/nossa\\_qualidade.html](http://www.tobasa.com.br/nossa_qualidade.html)> Acesso em jan 2016.

TOLKACH, A.; KULOZIK, U. Fractionation of whey proteins and caseinomacropptide by means of enzymatic crosslinking and membrane separation techniques. **Journal of Food Engineering**, 67, 13-20, 2005.

TONG, L. M.; SASAKI, S.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 1473-1478, 2000.

TRAN, A. T. T.; JAMES, B. J. A study the interaction forces between the bovine serum albumin protein and montmorillonite surface. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Engineering Aspects**, 414, 104-114, 2012.

TSAI, D. H.; DELRIO, F. W.; KEENE, A. M.; TYNER, K. M.; MACCUSPIE, R. I.; CHO, T. J.; ZACHARIAH, M. R.; HACKLEY, V. A. Adsorption and conformation of serum albumin protein on gold nanoparticles investigated using dimensional measurements and in situ spectroscopic methods. **Langmuir**, 27, 2464-2477, 2011.

VAINSENER, S. A. Babaçu. **Pesquisa Escolar Online**, Fundação Joaquim Nabuco, Recife (2008). Disponível em: <<http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar>>. Acesso em: 24 Jan, 2016.

VOGLER E. A. Protein adsorption in three dimensions. **Biomaterials**, 33, 1201-1237, 2012.

VOGT,S.; RUTH,F.-Comparison of anion-exchange and hydroxyapatite displacement chromatography for the isolation of whey proteins, **Journal of Chromatography A**, 760, 125- 137, 1997.

XU L, VADILLO-RODRIGUEZ V,LOGAN B. Residence Time, Loading Force, pH, and Ionic Strength Affect Adhesion Forces between Colloids and Biopolymer-Coated Surfaces. **Langmuir**, 21, 7491-7500, 2005.

WALKER J.M. **The Proteomics Protocols Handbook**. Swiss: Humana Press, 571-607p., 2005.

WELSCH, N.; LU, Y.; DZUBIELLA, J.; BALLAUFF, M. Adsorption of proteins to functional polymeric nanoparticles. **Polymer**, 54, 2835-2849, 2013.

WONG SY, HAN L, TIMACHOVA K, VESELINOVIC J, HYDER MN, Ortiz C, et al. Drastically lowered protein adsorption on microbicidal hydrophobic/ hydrophilic polyelectrolyte multilayers. **Biomacromolecules**, 13, 3, 719-26, 2012.

WRZOSEK, K.; POLAKOVI, M. Effect of pH on protein adsorption capacity of strong cation exchangers with grafted layer. **Journal of Chromatography A**, 1218, 6987-6994, 2011.

WU S.Y.; PÉREZ M. D.; PUYOL, P.; SAWYER, L.  $\beta$ -Lactoglobulin binds palmitate within its central cavity. **Journal of Biological Chemistry**, 274, 170-177, 1999.

WU, X., Y.; NARSIMHAN, G. Effect of surface concentration on secondary and tertiary conformational changes of lysozyme adsorbed on silica nanoparticles, **Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics**, 1784, 1694-1701, 2008.

YAN W. Q., OKA M., NAKAMURA T. Bone bonding in bioactive glass ceramics combined with bone matrix gelatin. **Journal Biomedical Materials Research**, 42, 258-265, 1998.

YANG, R.T. **Adsorbents: fundamentals and applications**. Michigan: John Wiley & Sons, Inc., 2003.

YANG, R. T. **Gas Separation by Adsorption Processes**. London: Butterworth, reprinted by Imperial College Press, 1987.

YANG Q.; KAUL C.; ULBRICHT M. Anti-nonspecific protein adsorption properties of biomimetic glycocalyx-like glycopolymer layers: effects of glycopolymer chain density and protein size. **Langmuir**, 26, 8, 5746-52, 2010.

YANG, J.; QIU, K. Development of high surface area mesoporous activated carbons from herb residues. **Chemical Engineering Journal**, 167, 148-154, 2011.



YANG, Y.H.; WU, T.W.; SUEN, S. Y.; LIN, S. C. Equilibrium adsorption of poly (His)-tagged proteins on immobilized metal affinity chromatographic adsorbents. **Biochemical Engineering Journal**, 54, 1-9, 2011.

YANG, Z.; ZHANG, C. Adsorption/desorption behavior of protein on nanosized hydroxyapatite coatings: A quartz crystal microbalance study. **Applied Surface Science**, 255, 4569-4574, 2009.

YAO, Y.; XU, F.; CHEN, M.; XU, Z.; ZHU, Z., Adsorption behavior of methylene blue on carbon nanotubes, **Bioresource Technology**, 101, 3040-3046, 2010.

YIN, G.; LIU, Z.; ZHAN, J.; DING, F.; YAN, N. Impacts of the surface charge property on proteins adsorption on hydroxyapatite. **Chemical Engineering of Journal**, 87, 181-186, 2002.

ZHANG, W.; SUN, C.; YUE ZHAO, XUEMEI LU. One-pot synthesis and characterization of cross-linked quaternized chitosan microspheres as protein adsorbent. **International Journal of Biological Macromolecules**, 49, 688-692, 2011.

ZHAO, J.; YAO, S.; LIN, D. Adsorbents for Expanded Bed Adsorption: Preparation and Functionalization. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, 17, 4, 678-687, 2009.

ZHIVOTOVSKY B. A.; ORRENIUS, S.; SABHARWAL, H.; SVANBORG, C.. Apoptosis induced by a human milk protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, 92, 8064-8068, 1995.

ZHU X. D., FAN H. S., XIAO Y. M., LI D. X., ZHANG H. J., LUXBACHER T., ZHANG X. D. Effect of surface structure on protein adsorption to biphasic calcium-phosphate ceramics in vitro and in vivo. **Acta Biomaterialia**, 5, 1311-1318, 2009.

ZYLBERSZTAJN, D.; MARQUES, C. A. S.; NASSAR, A. M.; PINHEIRO, C. M.; MARTINELLI, D. P.; ADEODATO S. NETO, J.; MARINO, M. K.; NUNES, R. 2000. **Reorganização do agronegócio do babaçu no estado do Maranhão. Relatório técnico.** Grupo Pensa-USP, São Paulo. 120pp.

**ANEXOS**



SERVÍCIO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
NÚCLEO DE INOVAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA

### DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que a professora **MÁRCIA REGINA RIBEIRO ALVES**, possui depósito de patente registrado no INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial intitulado: **-SEPARAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE BOVINO COM A APLICAÇÃO DO BABAÇU** com registro de número: **BR 10 2016 006987-4**

  
Marco Antonio Balceiro Alves  
Diretor  
Núcleo de Inovação Tecnológica  
41110 FT

Marco Antonio Balceiro Alves  
Mat. 1524462



Secretaria Geral do  
PPG-BIONORTE  
Palmas-TO

Marco  
10/10/2016  
16/10/16

## Research Article

# The Process of Separating Bovine Serum Albumin Using Hydroxyapatite and Active Babassu Coal (*Orbignya martiana*)

Márcia Regina Ribeiro Alves,<sup>1</sup> Abraham Damian Giraldo-Zuñiga,<sup>1</sup> Rita de Cássia Superbi de Sousa,<sup>2</sup> and Carmelita Zacchi Scolforo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biodiversity Network and Biotechnology Legal-Bionorte Amazon, Federal University of Tocantins, 109 Norte Avenida NS-15, ALCNO-14, Plan Director North, 77001-090, TO, Brazil

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Federal University of Viçosa, Avenida PH Holfs, 36570-000 Viçosa, MG, Brazil

<sup>3</sup>Department of Nutrition, Federal University of Espírito Santo, Avenida Fernando Ferrari, No. 514, Goiabeiras, 29075-010 Vitória, ES, Brazil

Correspondence should be addressed to Márcia Regina Ribeiro Alves; marcia.ribeiro@uft.edu.br

Received 6 February 2016; Accepted 20 April 2016

Academic Editor: Faik Nuzhet Oktar

Copyright © Márcia Regina Ribeiro Alves et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Bovine serum albumin is one of the major serum proteins; it plays an important role as a result of its functional and nutritional properties which have bioactive peptides. Adsorption method was used to separate protein, which involves hydroxyapatite, synthetic hydroxyapatite, and active babassu coal. Initially, characterization was carried out using the zeta potential of the adsorbents. Kinetic **pseudo-first- and pseudo-second-order models** were applied. For isotherms, equilibrium data studies were carried out using the Langmuir and Freundlich models, in addition to determining the efficiency of adsorptive process. The results of the zeta potential showed loads ranging from +6.9 to -42.8 mV. The kinetic data were better represented in the **pseudo-second-order model** with chemisorption characteristics. The adsorption capacity of the adsorbents decreased as pH increased, indicating that the electrostatic bonds and some functional groups of active babassu coal contributed to the reduction of adsorption, especially oxygen linked to carbon atoms. The value of pH 4.0 showed the best results of adsorption, being obtained as the maximum adsorption capacity ( $q_m$ ) and yield (%) (where  $q_m = 87.95 \text{ mg g}^{-1}$  and 74.2%;  $68.26 \text{ mg g}^{-1}$  and 68.6%; and  $36.18 \text{ mg g}^{-1}$ , 37.4%) of hydroxyapatite, synthetic hydroxyapatite, and active babassu coal, respectively.

## 1. Introduction

The world production of whey was estimated at 190 million tonnes per annum. Whey proteins generated approximately US\$ 3.8 billion annually [1, 2]. Studies have been conducted with the aim of using serum with high added value. Nevertheless, whey is still considered a by-product of the dairy industry, despite being regarded as an important source of proteins with high nutritional value and biotechnological importance [3]. Unfortunately, it has a low economic value due to its misuse [4]. This by-product can be recovered for use in various industries [5, 6].

Bovine serum albumin (BSA) is one of the major serum proteins; it plays an important role as a result of its functional and nutritional properties which have bioactive peptides [7].

Its low cost compared to other proteins, wide availability, its structure, and functional similarity to human serum albumin enable its various biotechnological applications [8]. Based on these aspects, the separation of BSA is extremely important in biotechnology as it has contributed enough for use in adsorption studies of various surfaces [9]. The growth in this area resulted in an increase in large-scale surveys of protein purification process using various adsorbents. It is estimated that more than 60% of the total bioprocess is due to recovery and purification [10]. **Two of the major challenges in the separation of whey proteins are the low concentration and the complexity of the serum.** The use of alternative materials, such as hydroxyapatite and activated carbon, has been widely encouraged [10–13].

Hydroxyapatite (HA) is an adsorbent which has the formula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  and is considered a bioceramic widely used in the separation of biomolecules [9]. It is known as a synthetic alkaline calcium phosphate, stable at a wide pH and temperature range. It is the major mineral constituent of bone and teeth (~70%) in animals [9]. This adsorbent has a high affinity for proteins and has been used for the separation and purification processes of several proteins [14, 15].

Coal babassu (*Orbignya martiana*) is derived from a native palm of Northern Brazil, occupying large tracts of land with forest cover; it has a renewable resource of immense energy potential [16]. It is a carbonaceous porous material structure and has a small amount of heteroatoms, especially oxygen linked to carbon atoms. The active carbons are materials well known for their complex pore structure, high internal surface area, and good chemical stability and may have various functional groups containing oxygen on the surface [17].

In the separation process, some aspects influence the adsorption of proteins such as concentration, solution pH, interactions between molecules, and functional groups; therefore various studies have been made in recent years in order to examine the effect of such experimental conditions on protein adsorption [13]. Adsorption studies and bioactivity of BSA on hydroxyapatite were reported [11]. In this paper, characteristics such as concentration and different pH solutions and buffers were observed and the influence of BSA on the precipitation of calcium phosphate phases (CP) from simulated body fluid (SBF) was evaluated when the protein was previously bounded to HA surface. Swain and Sarkar [15] studied the adsorption of BSA on hydroxyapatite nanoparticles at different pH and temperature. Studies evaluated the effect of pH and temperature of BSA on hydroxyapatite [10]. A research with active coal babassu reported that interactions between functional groups and adsorbents decreased the adsorption capacity [12, 13]. Multiple interactions studies of hydrophilic and hydrophobic surfaces and electrostatic groups of loads which are present in buffer solutions were carried out [11, 13, 15, 18]. Note a dynamic complexity of the interactions of the protein and the surface of the adsorbent [19].

In this research, the analysis of interactions between adsorbents and protein was carried out according to the pH of the solutions and the loads encountered in the adsorbents, and the possible implications of these dynamic interactions between the adsorbents and protein were verified. The BSA was chosen as a model protein because it has been well utilized in adsorption studies, showing good stability, availability, purity, and high solubility in water. Hydroxyapatite was used due to high affinity with protein and the purity and availability of the adsorbent material. The active babassu coal was also used because of its availability, ability to add value to a by-product, and its underusage. During the study, characterization was made by zeta potential where charges were observed on the surface of the adsorbents. In addition, the equilibrium rate and adsorption were investigated and the behavior was analyzed according to the loads of protein and adsorbents. Isotherms of Langmuir and Freundlich were applied to determine the behavior in adsorption equilibrium.

The adsorption was observed by kinetic model with nonlinear regression methods. The results obtained from the study will be used in further research of recovery of the whey proteins.

## 2. Materials and Methods

**2.1. Samples and Reagents.** Bovine serum albumin (BSA) and hydroxyapatite (HA), both with 98% purity, were purchased from Sigma Aldrich Chemical Co. The synthetic hydroxyapatite (HAS) was produced in the laboratory. The activated carbon babassu (CAB) with a particle size of 1 to 2 mm was obtained from the company Tobasa Bioindustrial of Babaçu SA. For the fluid phase of CAB, throughout the study, a syringe filter (PTFE), hydrophilic with 0.45  $\mu\text{m}$  pore size and 25 mm diameter (analytical), was used. 0.01 mol L<sup>-1</sup> sodium acetate and acetic acid of 0.01 mol L<sup>-1</sup> were used for the preparation of buffer solutions. Calcium chloride, anhydrous dibasic sodium phosphate, sodium chloride, and sodium hydroxide were used for the preparation of synthetic hydroxyapatite. The solutions were prepared using Milli-Q water (resistivity = 18.2 M $\Omega$  cm). The experiments were conducted in the Laboratory of the Department of Chemistry, Federal University of Viçosa (UFV), Viçosa, MG, in partnership with the Federal University of Tocantins (UFT), Palmas, TO.

**2.1.1. Synthetic Hydroxyapatite (HAS).** The synthetic hydroxyapatite was prepared in the laboratory according to Sousa [20]. 500 mL of 0.5 mol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> and 500 mL of 0.5 mol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> solution at a flow rate of 250 mL h<sup>-1</sup> were put in 1000 mL beaker containing 50 mL of NaCl of 1 mol L<sup>-1</sup> and agitated at 210 rpm. The formation of a milky precipitate which was decanted and washed twice with deionized water was obtained. Then 25 mL NaOH 40% (w/v) was added, heated to boiling point, and maintained under stirring at 100 rpm/h. The precipitate formed was again decanted and washed three times with deionized water. Approximately 80 g of synthetic hydroxyapatite was obtained.

**2.1.2. Activated Carbon Babassu (CAB).** The active babassu coal (CAB) obtained was crushed in a Wiley mill (Quimis/Q298A21) to obtain smaller particles, and sieves of 100-mesh size were used. The charcoal was washed with deionized water and then the material was dried at 70°C/24 h (FANEM® model: 502) to be used later in the experiment.

**2.2. Kinetics of Adsorption.** The adsorption kinetics were investigated at room temperature (25 ± 1°C) and pH 4.0 and pH 7.0 for the three adsorbents (HA, HAS, and CAB). Samples of 0.0100 ± 0.0005 g (TKS-FA2004C scale) were preweighed in Eppendorf tubes of 13 of 2.0 mL. To each tube was added 800  $\mu\text{L}$  of buffer prepared and left under agitation at 20 rpm (brand DragonLab, MX-RDPro model) ±1 h. Following this was the addition of 1000  $\mu\text{L}$  of protein solution (3.0 mg mL<sup>-1</sup>) BSA. At predetermined time intervals (0 to 1400 min), the tubes were removed, and the solid phase of the fluid phase was separated by centrifugation (Hanil-Brand Model Smart R17) at 7500 g/15 min. An aliquot of the supernatant containing the nonadsorbed protein was removed from each tube at certain

times for the quantification of BSA in fluid phase, using the spectrophotometric method of direct reading absorbance at 280 nm (PG Instruments Ltd., T80 + UV-VIS Spectrometer). Quantification of BSA was determined according to the calibration curve (1). In order to study the adsorption control mechanism of the process, such as mass transfer and chemical reaction, kinetic models were used to test experimental data according to (2), (3), and (4). The kinetic models (pseudo-first-order and pseudo-second-order) can be used where balance occurs [21, 22].

$$q = v \frac{(C_0 - C)}{m}, \quad (1)$$

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 (q_{eq} - q_t), \quad (2)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_{eq}^2} + \left( \frac{1}{q_{eq}} \right), \quad (3)$$

$$h = k_2 \cdot q_{eq}^2, \quad (4)$$

where  $q$  is the concentration of protein adsorbed on the solid phase ( $\text{g mg}^{-1}$ ),  $C_0$  and  $C$  represent the initial and equilibrium concentrations ( $\text{mg mL}^{-1}$ ),  $V$  is the solution volume (mL),  $m$  is the mass of the adsorbent material (g),  $k_1$  is the rate constant for pseudo-first-order model of adsorption ( $\text{min}^{-1}$ ), and  $q$  and  $q_{eq}$  denote the amounts of protein adsorbed and the equilibrium time  $t$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ), respectively.  $k_2$  ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) is the constant of pseudo-second-order rate in the adsorption process. The constant  $k_2$  is used to determine the initial adsorption rate  $h$  ( $\text{min}^{-1}$ ) for  $t \rightarrow 0$ .

**2.3. Quantification of Separation Efficiency (%) of Bovine Serum Albumin.** The same procedure of adsorption kinetics was used for the three adsorbents prepared with initial concentration of  $3.0 \text{ mg mL}^{-1}/24 \text{ h}$  period. The supernatant was removed in the experiment for direct reading in spectrophotometer. From the absorbance values of the solutions read at the spectrophotometer from the calibration curve, the adsorption capacity of each adsorbent was determined using (5). The separation efficiency of the adsorption process (Efic) was obtained from  $C_0$  which is the initial concentration ( $\text{mg mL}^{-1}$ );  $C$  is the final concentration ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) in equilibrium, and  $V$  is the solution volume (mL):

$$\text{Efic (\%)} = \frac{VC_0 - VC}{VC_0} \times 100. \quad (5)$$

**2.4. Zeta Potential ( $Z_p$ ).** The zeta potential study was used to quantify the loading surface of the adsorbents (HA, HAS, and CAB) at a concentration of  $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$  and  $25^\circ\text{C}$  for each of the pH buffer. The values of the zeta potential adsorbents were quantified using (6) of Smoluchowski [23]. This was done by applying the integrated computational procedure through the Zeta Sizer Nano series equipment ZS from Malvern 3600 Instruments®. The electrophoretic mobility of

the particles being measured was evaluated and converted into zeta potential values expressed in mV based on the pH:

$$Z_p = \frac{4 \cdot \pi \cdot v_t}{D_t} \times E_m, \quad (6)$$

where  $\mu$  is electrophoretic mobility;  $\eta$  is suspending liquid viscosity (poise) at room temperature;  $D_t$  is dielectric constant;  $Z_p$  is voltage (mV).

**2.5. Adsorption Isotherms.** In this study, two models of adsorption, Langmuir and Freundlich, were used to describe the BSA adsorption equilibrium of the adsorbents, as this interaction. In this case, the adsorption isotherms were obtained by soaking samples ( $0.0100 \pm 0.0005 \text{ g}$ ) of adsorbents hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB) in  $1800 \mu\text{L}$  BSA in different concentrations. Batches were obtained by testing, as described [10]. To samples containing adsorbents  $800 \mu\text{L}$  of the buffer solution (pH 4.0 and pH 7.0) was added followed by stirring for  $1 \text{ h} \pm 25^\circ\text{C}$ . Immediately various volumes of protein solution at different concentrations ( $0.5$  to  $7.0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) were added to complete the total volume of  $1800 \mu\text{L}$ , making each tube to have a different concentration, with a concentration gradient of BSA. The tubes containing the adsorbent and albumin were kept in a flurry of  $20 \text{ rpm}/3 \text{ h}$  at  $25^\circ\text{C}$ . After this time, they were removed and centrifuged at  $7500 \text{ g}/15 \text{ min}$ . An aliquot of the supernatant was taken for quantitation of protein in the fluid phase for direct reading at a wavelength of  $280 \text{ nm}$  (PG Instruments Ltd., T80 + UV-VIS Spectrometer). From the calibration curve previously determined, we found the concentration of protein adsorbed for mass of adsorbent by applying (1). The isotherms were adjusted in accordance with the models of Langmuir and Freundlich, as shown in the following, respectively:

$$q = \frac{q_m \cdot C}{K_d + C}, \quad (7)$$

$$q_s = KC \frac{1}{n}, \quad (8)$$

where  $q$  is the concentration of protein adsorbed on the solid phase ( $\text{g mg}^{-1}$ ),  $C_0$  and  $C$  represent the initial and equilibrium concentrations ( $\text{mg mL}^{-1}$ ),  $V$  is the solution volume (mL), and  $m$  is the mass of the adsorbent material (g).  $K_d$  ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) is the dissociation constant describing a measure of affinity or selectivity of the adsorbent for the protein balance of the adsorption reaction,  $q_m$  is the maximum adsorption capacity ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $q_s$  is the ability of adsorbent saturation, and  $K$  is the Freundlich constant [ $(\text{mg g}^{-1}) (\text{mg L}^{-1})^{-n}$ ]. The exponent  $n$  is favorable if adsorption has value less than 1, indicating the tendency of the solute to migrate to the solid phase.

The Langmuir isotherm is a binding model which requires a dynamic balance between molecules and among those absorbed into the surrounding solution [24, 25]. The Freundlich model shows that the amount adsorbed in the process indefinitely increases with increase in concentration and has been characterized empirically as applicable to different systems [26].

### 3. Statistical Analysis

Performed in triplicate, with three repetitions, nonlinear models were fitted into the experimental data and kinetic adsorption isotherms, using the Gauss-Newton method. Adsorption data were fitted using two different models (Langmuir and Freundlich). The curves of the models were fitted into the experimental data using *SigmaPlot* 11.0. The models were evaluated according to the coefficient of determination ( $R^2$ ) and the mean square error (RMSE) was calculated with

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (\bar{Y} - Y)^2}{N}}, \quad (9)$$

where  $\bar{Y}$  is the variable predicted by the model,  $Y$  is the variable experimentally obtained, and  $N$  is the number of observations.

### 4. Results and Discussion

**4.1. Kinetics of Adsorption.** Figures 1(a) and 1(b) show the influence of time on the albumin adsorption of adsorbents (HA, HAS, and CAB) at pH 4.0 and pH 7.0. From the  $C_{\infty}$  curves versus time (min), there is the retraction of the BSA concentration in the liquid phase with time.

It can be seen graphically that the time at which the adsorption capacity remains constant is close to 150 min for the HA and HAS in Figures 1(a) and 1(b); however for babassu saturation it is faster due to the presence of various functional groups at pH 4.0 and pH 7.0. Similar observation was reported in the literature for different adsorption process [12, 13].

As illustrated in Figures 2(a) and 2(b), the kinetic pseudo-first-order and pseudo-second-order models are shown. Satisfactory adjustment of the models tested was obtained for the adsorbents in Table 1. From these results, it was found that the Pseudo second-order model fits best, based on average values of lower error residue of the square (RMSE) and the coefficients of determination ( $R^2$ ) obtained.

The mass transfer rate in the adsorption process was slower for the CAB ( $h = 10.89$  and  $31.14 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ). This could be due to the high molecular weight (69 kDa) protein of existing BSA and various functional groups in the active babassu coal, thus experiencing a rapid saturation of the pores. Regarding the HA and HAS, the process is faster possibly due to the existence of a high number of sites available for initial connections.

Table 1 shows the values of Lagergren [22] constants;  $q_{e1}$ ,  $k_1$ ,  $k_2$ , and  $q_{e2}$  were calculated from (1), (2), and (3) of these models. Depending on the results found, the kinetic pseudo-second-order model presents chemisorption characteristics. The coefficients of determination ( $R^2$ ) for the pseudo-first-order and pseudo-second-order models were high, and values were obtained as 0.8824 to 0.9813.

The balances in pH 4.0 and pH 7.0 of adsorbents (HA, HAS, and CAB) ranged from  $q_{e,exp} = 15.78$  to  $75.49 \text{ mg g}^{-1}$ . Yin et al. [18] evaluated the BSA adsorption kinetics of HA 18.5°C at pH 5.82 and 30°C at pH 7.0 with search results as  $q_{e,exp} = 59.06$  and  $41.49 \text{ mg g}^{-1}$ ; values were similar

to those found in this work. Swain and Sarkar [15] studied BSA adsorption on hydroxyapatite at pH 7.4 and 37°C, having found values as  $q_{exp} = 28 \text{ mg g}^{-1}$ . A study with BSA on asset siriguela charcoal found values as  $q_{e,exp} = 29.35$  to  $58.26 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $h = 28.74/\text{min}$  to pH = 7.0; and temperatures between 20 and 40°C [12]. Studies with BSA have been conducted and the results obtained for the parameters  $k_1$  and  $k_2$  corroborate those found in this study. Kopac et al. [27] also reported  $k_1$  values close to those found in this work, being pH 4,  $k_1 = 0.018$ , and  $0.019/\text{min}$  at 20 and 40°C, respectively. The highest values of the rate constants,  $k_1$ , pH 4.0, and pH 7.0, may be due to a change of the sites of the adsorbent [27]. From the results in this process, it is assumed that surface exchange reactions occurred until the sites were fully occupied, mainly by HA and HAS to the CAB which was difficult due to the presence of functional groups in the structure [28]. Pseudo-first-order and pseudo-second-order models showed a good fit to the experimental data. Generally the RMSE values of the Pseudo second-order model were lower, indicating that this model best explains the behavior of experimental data.

**4.2. Quantification of Separation Efficiency (%) of Bovine Serum Albumin.** The average results obtained for repetition of adsorption of bovine serum albumin in the test adsorbents tension and CAB at pH 4.0 and pH 7.0 and 25°C after 24 h are shown in Table 2.

In addition, the adsorption capacities ( $q$ ) and the adsorption efficiency (Efic) for all adsorbents were obtained. It is observed that higher amounts of adsorption capacity and efficiency were obtained for the higher purity with hydroxyapatite (HA) and (HAS), synthetic at pH 4.0. This suggests that these adsorbents and pH are the most suitable for testing. It can be seen from the results that the various functional groups present on the activated carbon adsorption capacity are influenced. Similar observation was reported in the literature [13]. The values were higher than those obtained by Oliveira et al. [13]. Obtained values of 8.1, 26.2, and  $25.4 \text{ mg g}^{-1}$  and efficiency of 8.1, 26.1, and 25.5% at pH 3, pH 5, and pH 7, respectively, represented the adsorption of BSA on activated carbon from hog plum pits. We studied the adsorption of BSA on activated carbon produced from bark and hog plum seeds and obtained values of 41.02 and  $188.29 \text{ mg g}^{-1}$  and efficiency between 21, 25, and 92.29% [12].

**4.3. Zeta Potential ( $Z_p$ ).** The zeta potential measurements obtained for the adsorbents are shown in Figure 3. The results varied between  $-6.6$  and  $-42.8 \text{ mV}$ . It was observed that there was a greater increase (module) in pH 7.0. The values obtained for HA ( $-6.6$  and  $-21.8 \text{ mV}$ ) and HAS ( $-11.4$  and  $-26.9 \text{ mV}$ ) at pH 4.0 and pH 7.0 were justified in terms of the heterogeneous surface and multiple binding sites. In addition, the surface morphology and the degree of crystallinity were influenced in the production process by Norton et al. [29]. Similar results were obtained by Tercinier et al. [25], where  $Z_p$  values were found to be hydroxyapatite ( $-11$  and  $-28 \text{ mV}$ ) at pH 7.1. These results are due to the aqueous solution being rich in calcium ions ( $\text{Ca}^+$ ) and phosphate ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) of hydroxyapatite, which

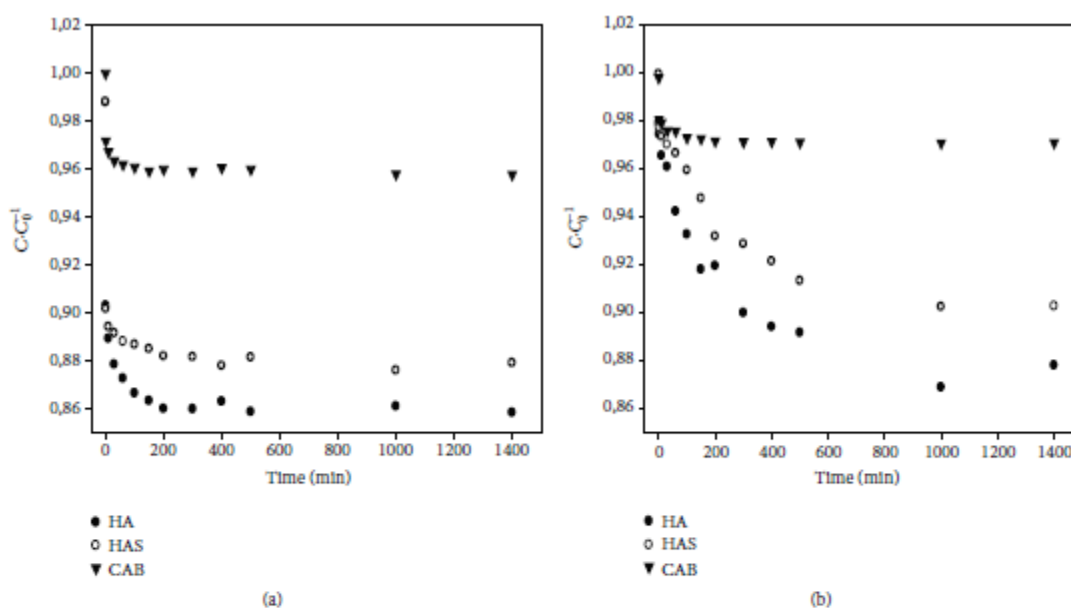


FIGURE 1: Kinetics of BSA adsorption on the surface of hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB) at pH 4.0 (a) and pH 7.0 (b) at 25°C/24 h, with final concentration ( $C$ ) and initial concentration ( $C_0$ ).

TABLE 1: Kinetic parameters of BSA adsorption on hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB) at pH 4.0 and pH 7.0 at 25°C.

Model	Parameter	pH						
		HA	4.0	HAS	CAB	7.0	HA	HAS
Pseudo-first-order	$q_{e,exp}$	75.49	65.96	22.55	22.55	66.02	53.72	15.78
	$q_{e,calc}$	66.75	60.97	20.59	20.59	61.56	50.70	14.83
	$k_1$	0.0431	0.0659	0.5278	0.5278	0.0090	0.0060	1.3026
	$R^2$	0.8824	0.9399	0.9571	0.9571	0.9198	0.9404	0.9477
	RMSE	5.86	7.00	1.93	1.93	8.20	6.05	1.35
Pseudo-second-order	$q_{e,exp}$	75.49	65.96	22.55	22.55	66.02	53.72	15.78
	$q_{e,calc}$	71.09	64.13	21.26	21.26	68.73	57.85	15.00
	$k_2$	0.0010	0.0016	0.0241	0.0241	0.0002	0.0001	0.1384
	$h$	5.05	6.58	10.89	10.89	0.94	0.33	31.14
	$R^2$	0.9310	0.9708	0.9813	0.9813	0.9457	0.9546	0.9594
	RMSE	4.42	4.91	1.29	1.29	6.78	5.30	1.20

Quantity of BSA adsorbed on the calculated equilibrium:  $q_{e,calc}$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ); BSA adsorbed amount at equilibrium experimentally obtained:  $q_{e,exp}$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ); rate constants  $k_1$  and  $k_2$ /min; time:  $h$ /min; average error of the residue of the square (RMSE).

leads to the increase of electrostatic forces. This indicates the presence of adsorption acetate ions ( $\text{Ac}^-$ ) on the surface of HA and HAS. The diffusion of sodium ions ( $\text{Na}^+$ ) present in sodium acetate ( $\text{NaAc}$ ) occurred as being dissolved, thereby binding to the surfaces by hypertension.

The literature presents various studies with hydroxyapatite. Osório [30] found  $Z_p$  values of pH 3.0, pH 4.0, and pH 7.0; HA (0.0 mV; -10.0 mV and -30.0 mV) was obtained at pH 3.0, pH 4.0, and pH 7.0, respectively. In a study of carbon nanotubes and hydroxyapatite, values close to those

were found in this work. Osório [30] analyzed the  $Z_p$  of hydroxyapatite at pH 7.2 and found values in the range of -18.1 to -28.7 mV. The values supported this research. For the active babassu coal (CAB), Figure 3 showed values of +6.9 and -42.8 mV at pH 4.0 and pH 7.0, respectively. Studies show that the surface characteristics of coal (pore size and surface area) influenced the characteristics of loads [13]. The active carbon chemical structure, functional groups, such as heteroatoms, oxygen, and hydrogen plus inorganic components influence the adsorption [28]. These components influence the overall



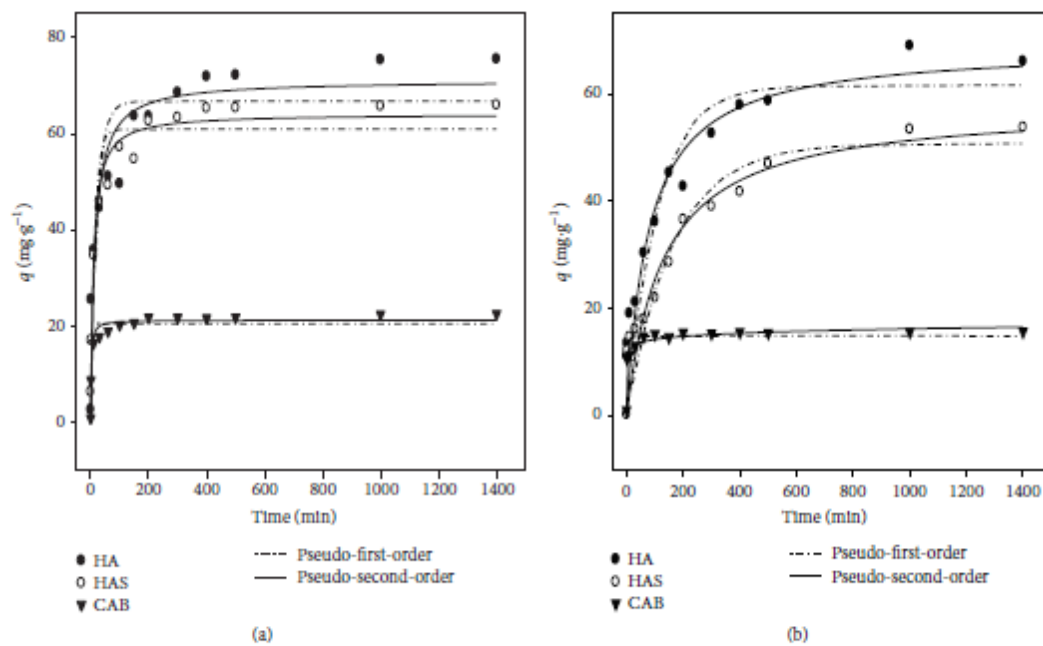


FIGURE 2: Kinetic pseudo-first-order and pseudo-second-order models for the adsorption of BSA on the surface of hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB) at pH 4.0 (a) and pH 7.0 (b) and 25°C/24 h.

TABLE 2: Concentration of the solution ( $C$ ) adsorption capacity ( $q$ ) and adsorption efficiency (efficiency) of bovine serum albumin (BSA) after 24 h at room temperature in pH (4.0 and 7.0).

Sample	pH	$C$ (mg/mL)	BSA	
			$q$ (mg/g)	Effic (%)
HA	4	0.774	67.5	74.2
HAS	4	0.942	61.8	68.6
CAB	4	1.878	32.9	37.4
HA	7	1.224	54.3	59.2
HAS	7	1.476	46.6	50.8
CAB	7	2.064	27.6	31.2

Hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB).

behavior of the surface charges, justifying the variation of the zeta potential. The same effect was observed by Valencia [31] who found +3 to -48 mV and Cottet [32] obtained +4 mV at pH 4 and -25 mV at pH 7 for active babassu coal.

**4.4. Adsorption Isotherms.** Adsorption isotherms were determined for the BSA protein in HA adsorbent, HAS, and CAB with pH 4.0 and pH 7.0. Experimental data were fitted with nonlinear model of Langmuir and Freundlich at 25°C. The plots show  $q$ , amount of protein adsorbed on the adsorbent (mg g<sup>-1</sup>) versus  $C$ , balance in protein concentration in the liquid phase (mg mL<sup>-1</sup>) in different adsorbents (HA, HAS, and CAB) with pH 4.0 to 7.0. The data of the isotherms

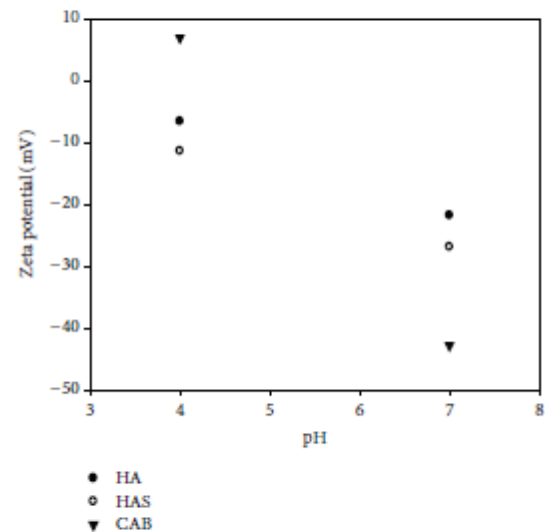


FIGURE 3: Zeta potential ( $Z_p$ ) obtained for the adsorbents hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB) at pH 4.0 and pH 7.0 and 25°C.

showed that, from the tested concentrations, the obtained settings followed a similar result to the adsorption isotherm model in monolayers, indicating that the adsorption process

TABLE 3: Parameters of adsorption isotherms of bovine serum albumin on the adsorbent hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB) at 25°C in pH 4.0 and pH 7.0 for the Langmuir and Freundlich models.

Model	Parameter	pH × adsorbents					
		4.0		7.0			
		HA	HAS	CAB	HA	HAS	CAB
Langmuir	$q_m$	87.95	68.26	36.18	57.82	55.90	30.90
	$k_d$	0.030	0.017	0.034	0.031	0.462	0.382
	$R^2$	0.9832	0.9886	0.9811	0.9915	0.9884	0.9937
	RMSE	1.34	0.34	1.43	1.03	1.55	0.12
Freundlich	$q_s$	81.55	65.84	25.04	42.16	36.34	28.81
	$n$	0.055	0.023	0.027	0.165	0.217	0.181
	$R^2$	0.9331	0.8449	0.9021	0.9043	0.9612	0.963
	RMSE	2.63	1.21	3.20	3.38	2.82	0.27

$q_m$  is maximum adsorption capacity ( $\text{mg g}^{-1}$ ); dissociation constant is  $K_d$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) is depicting an affinity measurement. It is favorable if adsorption has value less than 1, indicating the tendency of the solute to migrate to the solid phase ( $n$ ) dimensionless coefficient; the saturation capacity of the adsorbent is  $q_s$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ); average error of the residue of the square (RMSE).

occurred easily in active sites distributed uniformly on the surface of HA and HAS. For CAB adsorption, it was slower due to various functional groups [13].

Figures 4(a) and 4(b) represent the BSA adsorption isotherms of the adsorbents hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS), and active babassu coal (CAB) at pH 4.0 and pH 7.0.

All values of coefficient of determination ( $R^2$ ) and RMSE were satisfactory; however the model of Langmuir  $R^2$  presented higher and lower RMSE values for the three adsorbents in relation to the Freundlich model. It was observed that as the errors decreased (RMSE), the highest pH  $R^2$  for each adsorbent was obtained. The values of Langmuir model indicate that this model best explains the behavior of experimental data. The Langmuir model is what best represents the adsorption of protein molecules in the adsorbents. This can be explained by the sensitivity of the Langmuir model in relation to the surface of the adsorbents. In the adsorption, the pH is an important parameter influencing the binding capacity for protein adsorption. The change in pH changes the charge distribution, net charge of BSA molecule, and the group in the contact regions beyond the molecular structure. Thus, the adsorption behavior reflects the nature of the physicochemical interactions of BSA and the active sites of the hydroxyapatite. The parameter settings of the isotherms were obtained from the correlation of experimental data. The Langmuir model showed better fits of the isotherms for the data in this study with  $q_m$  function,  $R^2$ , and RMSE (Table 3).

The pH values above 4.0 studied in this work showed the presence of negative charges (Figure 3). The binding capacity of hydroxyapatite with albumin showed a significant decrease with increasing pH. It is observed that at pH 4.0 the adsorbents have maximum adsorption capacity between  $q_m = 25.04$  and  $87.95 \text{ mg g}^{-1}$  and pH between 7.0  $q_m = 28.81$  and  $57.82 \text{ mg g}^{-1}$  for the proposed models. This results in the BSA molecules becoming more compact, thus facilitating the adsorption process. There are electrostatic interactions between the cations ( $\text{Ca}^{2+}$ ) and anion ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) of HA with the

anion ( $-\text{COO}^-$ ) and BSA  $\text{NH}_4^+$  cation, thus changing loads [15].

At pH 7.0, the carboxyl groups dissociated more, resulting in increased negative charges on the adsorbent; so the BSA molecule with negative charge ( $\text{pH} > \text{IP}$ ) led to lower retention in the active sites of hypertension. This explains the decrease in **the adsorption of BSA for these adsorbents**. The electrostatic repulsive force of HA, HAS, and BSA is generated and enhanced as the pH becomes more alkaline; it prevents the adsorption of BSA on the surface of HA and HAS.

The adsorption of BSA protein reaches equilibrium quickly at relatively low values of adsorption capacity ( $q_m$ ), about  $25.04\text{--}36.18 \text{ mg g}^{-1}$  for the CAB. This is due to the rapid saturation of active sites (pores) of coal. The functional groups present had an important role in low adsorption. They led to a lower retention in the active sites of hypertension, which explains the decrease in the adsorption of BSA for these adsorbents. This behavior was also observed by **Oliveira et al.** [13] for CAB, in a work performed with pH 3.0, pH 5.0, and pH 7.0. It demonstrates the behavior of functional groups present, which was found as  $q = 16.2 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $19.1 \text{ mg g}^{-1}$ , and  $26.2 \text{ mg g}^{-1}$ , respectively.

The BSA-HA and BSA-CAB complex Langmuir model shows dissociation constants ( $K_d$ ) estimated variation between  $0.017$  and  $0.462 \text{ mg mL}^{-1}$ . These low values  $K_d < 1$  indicate that the adsorption phenomenon was more favorable at pH 4.0, and balance was reached quickly. In the literature, values close to  $K_d 0.178 = 0.210 \text{ mg mL}^{-1}$  were obtained for pH 4.0 [27]. In the Freundlich model, saturation capacity ( $q_s$ ) was higher at pH 4.0, with BSA migration tendency for the solute between  $n$  which showed  $0.023$  and  $0.217$ . This indicates that the degree of heterogeneity of the adsorbent was better at **pH 4.0**. Similar results found by **Kopac et al.** [27] in the range  $n = 0.046$  and  $0.057$  corroborate the job.

## 5. Conclusion

The kinetic analysis was best represented in the pseudo-second-order model with chemisorption characteristics. It

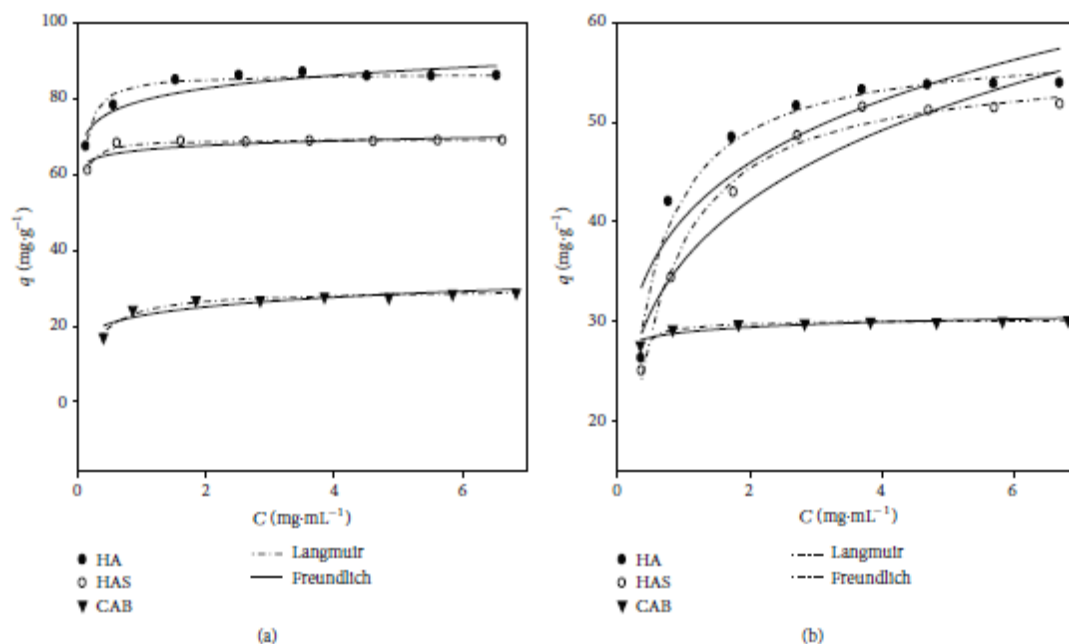


FIGURE 4: BSA adsorption isotherms on hydroxyapatite (HA), synthetic hydroxyapatite (HAS) and active coal babassu (CAB) at pH 4.0 (a) and 7.0 (b) at 25°C for adjustment of the Langmuir and Freundlich models. The symbols represent experimental data.

was observed that the adsorption capacity of the adsorbent diminishes as the pH increases, indicating electrostatic linkages and functional groups contributing to this in order to reduce the adsorption of BSA. The Langmuir model showed better results, indicating greater homogeneity for HA and HAS. For the active babassu coal, the surface was more heterogeneous, especially oxygen linked to carbon atoms. The adsorbents HA and hypertension were more efficient in the separation of albumin process. Finally, it can be concluded that the separation of whey of bovine serum albumin is possible; however, there is still much to do in the contribution of this scenario, as shown in sequence some suggestions for future work:

- (i) FTIR and NMR studies should be carried out after the synthesis of synthetic hydroxyapatite.
- (ii) Carry out specific purification procedures of protein obtained with worked adsorbents.
- (iii) Validate used purification procedures of protein obtained with worked adsorbents.

### Competing Interests

The authors declare that there are no competing interests regarding the publication of this paper.

### Acknowledgments

The staff of Tocantins Central Laboratory (LACEN-TO) are appreciated for their contribution during the preparation of the research.

### References

- [1] G. C. Tavares, *Concentration of whey protein using polymeric gel thermosensitive Poly (N-isopropylacrylamide) [M.S. dissertation]*, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, 2011 (Portuguese).
- [2] A. F. Carvalho, I. T. Perrone, and L. F. M. Correia, "Chain products: trends and prospects," in *Revista de Laticínios*, 2013, <http://revistalaticinios.com.br/wp-content/uploads/2013/01/16-33-Materia-de-Capa-99.pdf>.
- [3] T. Besselink, A. E. M. Janssen, and R. M. Boom, "Isolation of bovine serum albumin from whey using affinity chromatography," *International Dairy Journal*, vol. 41, pp. 32–37, 2015.
- [4] A. Albrecht and I. Vovk, "Applicability of analytical and preparative monolithic columns to the separation and isolation of major whey proteins," *Journal of Chromatography A*, vol. 1227, pp. 210–218, 2012.
- [5] M. Cao, Z. Li, J. Wang et al., "Food related applications of magnetic iron oxide nanoparticles: enzyme immobilization, protein purification, and food analysis," *Trends in Food Science and Technology*, vol. 27, no. 1, pp. 47–56, 2012.
- [6] G. W. Smithers, "Whey and whey proteins-From 'gutter-to-gold,'" *International Dairy Journal*, vol. 18, no. 7, pp. 695–704, 2008.

- [7] A. D. Giraldo-Zuñiga, J. S. R. Coimbra, J. C. Gomes, L. A. Minim, E. E. G. Rojas, and A. D. Gade, "Technologies applied to whey processing," *Dairy Journal Bimonthly: The Cândido Tostes Dairy Institute*, vol. 59, pp. 53–66, 2004.
- [8] D.-H. Tsai, F. W. Delrio, A. M. Keene et al., "Adsorption and conformation of serum albumin protein on gold nanoparticles investigated using dimensional measurements and in situ spectroscopic methods," *Langmuir*, vol. 27, no. 6, pp. 2464–2477, 2011.
- [9] J. Zhao, S. Yao, and D. Lin, "Adsorbents for expanded bed adsorption: preparation and functionalization," *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol. 17, no. 4, pp. 678–687, 2009.
- [10] R. D. C. S. De Sousa, J. S. Dos Reis Coimbra, L. D. L. X. Augusto, L. Samuel, and T. Reis, "Adsorption of alpha-lactalbumin from milk whey on hydroxyapatite: effect of pH and temperature and thermodynamic analysis," *Quimica Nova*, vol. 37, no. 6, pp. 950–955, 2014 (Portuguese).
- [11] E. Mavropoulos, A. M. Costa, L. T. Costa et al., "Adsorption and bioactivity studies of albumin onto hydroxyapatite surface," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 83, no. 1, pp. 1–9, 2011.
- [12] R. G. Pereira, C. M. Veloso, N. M. Da Silva et al., "Preparation of activated carbons from cocoa shells and siriguela seeds using  $H_2PO_4$  and  $ZnCl_2$  as activating agents for BSA and  $\alpha$ -lactalbumin adsorption," *Fuel Processing Technology*, vol. 126, pp. 476–486, 2014.
- [13] T. P. Oliveira, J. F. Borges, K. A. Monteiro, M. J. P. Brito, C. M. Veloso, and T. B. Silva, "Adsorption of bovine serum albumin (BSA) in activated carbon obtained from the core of cajá," in *Proceedings of the Annals do XXXVII Brazilian Congress of Particulate Systems (ENEMP '15)*, Blucher Engineering Proceedings, pp. 1253–1258, Blucher, São Paulo, Brazil, 2015.
- [14] J.-W. Shen, T. Wu, Q. Wang, and H.-H. Pan, "Molecular simulation of protein adsorption and desorption on hydroxyapatite surfaces," *Biomaterials*, vol. 29, no. 5, pp. 513–532, 2008.
- [15] S. K. Swain and D. Sarkar, "Study of BSA protein adsorption/release on hydroxyapatite nanoparticles," *Applied Surface Science*, vol. 286, pp. 99–103, 2013.
- [16] TOBASA, *Tobasa Bioindustrial de Babaçu Ltda*, The Babaçu, Tocantins, Brazil, 2014, [http://tobasa.com.br/quem\\_somos.html](http://tobasa.com.br/quem_somos.html).
- [17] J. Yang and K. Qiu, "Development of high surface area mesoporous activated carbons from herb residues," *Chemical Engineering Journal*, vol. 167, no. 1, pp. 148–154, 2011.
- [18] G. Yin, Z. Liu, J. Zhan, F. Ding, and N. Yuan, "Impacts of the surface charge property on protein adsorption on hydroxyapatite," *Chemical Engineering Journal*, vol. 87, no. 2, pp. 181–186, 2002.
- [19] R. C. I. Fontan, L. A. Minim, R. C. F. Bonomo, L. H. M. da Silva, and V. P. R. Minim, "Adsorption isotherms and thermodynamics of  $\alpha$ -lactalbumin on an anionic exchanger," *Fluid Phase Equilibria*, vol. 348, pp. 39–44, 2013.
- [20] R. C. S. Sousa, *Adsorption  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin and glycomacropéptide using alternative adsorbents [Ph.D. thesis]*, Federal University of Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2010 (Portuguese).
- [21] A. Garland, L. Shen, and X. Zhu, "Mobile precursor mediated protein adsorption on solid surfaces," *Progress in Surface Science*, vol. 87, no. 1–4, pp. 1–22, 2012.
- [22] S. Lagergren, "About the theory of so-called adsorption of soluble substances," *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, vol. 24, no. 4, pp. 1–39, 1898.
- [23] R. J. Hunter, *Zeta Potential in Colloid Science Principles and Applications*, Academic Press, New York, NY, USA, 1981.
- [24] F. Felsovalyi, P. Mangiagalli, C. Bureau, S. K. Kumar, and S. Banta, "Reversibility of the adsorption of lysozyme on silica," *Langmuir*, vol. 27, no. 19, pp. 11873–11882, 2011.
- [25] L. A. Tercinier, A. Ye, S. Anema, A. Singh, and H. Singh, "Adsorption of milk proteins on to calcium phosphate particles," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 394, no. 1, pp. 458–466, 2013.
- [26] G. Guiochon, S. G. Shirazi, and A. M. Katti, *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Boston, Mass, USA, 1994.
- [27] T. Kopac, K. Bozgeyik, and J. Yener, "Effect of pH and temperature on the adsorption of bovine serum albumin onto titanium dioxide," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 322, no. 1–3, pp. 19–28, 2008.
- [28] K. László, P. Podkościelny, and A. Dabrowski, "Heterogeneity of activated carbons with different surface chemistry in adsorption of phenol from aqueous solutions," *Applied Surface Science*, vol. 252, no. 16, pp. 5752–5762, 2006.
- [29] J. Norton, K. R. Malik, J. A. Darr, and I. U. Rehman, "Recent developments in processing and surface modification of hydroxyapatite," *Advances in Applied Ceramics*, vol. 105, no. 3, pp. 113–139, 2006.
- [30] A. G. Osório, *Functionalization of carbon nanotubes and their use as reinforcement in matrix hydroxyapatite [M.S. dissertation]*, Federal University of Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil, 2008 (Portuguese).
- [31] C. A. V. Valencia, *Adsorption applying activated carbon and other materials carbonaceous the treatment of water contaminated with pesticides for use in agriculture [M.S. dissertation]*, Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, (Portuguese).
- [32] L. Cottet, *Modification of clay and montmorillonite the babassu coconut on coal with iron oxide: characteristics and application in blue adsorption methylene [M.S. dissertation]*, State University Midwest, Paraná, Brazil, 2009 (Portuguese).