UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO pH NA ADSORÇÃO DE PROTEÍNAS DO LEITE EM BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

MURILO GUIMARÃES MORIMOTO

Uberlândia – MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO pH NA ADSORÇÃO DE PROTEÍNAS DO LEITE EM BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

MURILO GUIMARÃES MORIMOTO

Monografia submetida à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para conclusão da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química.

Orientadora: Profª. Dra. Lucienne Lobato Romanielo

Uberlândia – MG

2019

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA MONOGRAFIA DA DISCIPLINA PROJETO DE GRADUAÇÃO DE MURILO GUIMARÃES MORIMOTO APRESENTADA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, EM 18/01/2019

BANCA EXAMINADORA:

_____

Profª. Dra. Lucienne Lobato Romanielo

Orientadora – FEQUI/UFU

_____

Profª. Dra. Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros

FEQUI/UFU

_____

Dra. Sarah Arvelos

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer em primeiro lugar à Deus por prover paciência e força frente às dificuldades encontradas durante o caminho percorrido na graduação.

Agradeço também, à minha família que sempre me incentivou e motivou.

Aos meus pais e irmã, que além de me apoiarem em minhas escolhas sempre estiveram presentes.

À minha avó Maria Perpétua Guimarães, a pessoa mais gentil e amorosa com os seus netos.

Aos professores da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) agradeço pela dedicação e ensinamentos durante o período acadêmico.

À minha orientadora, Lucienne Lobato Romanielo, pelo auxílio e atenção durante a realização deste trabalho.

Aos meus amigos Rafael Oliveira Goulart e Leandro Faustino e minhas amigas Taynara Rodrigues, Letícia Prata e Lorrayne Martins, agradeço por sempre estarmos juntos, seja nos momentos difíceis, seja nos momentos mais tranquilos.

SUMÁRIO

Lista de figuras i

Lista de tabelas.....ii

Lista de símbolos e abreviaturas.....iii

Resumo.....iv

Abstract.....v

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....1

CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....2

2.1 - ADSORÇÃO.....2

2.1.1 - Adsorção física e adsorção química.....2

2.1.2 - Adsorção em fase líquida.....3

2.2 - ISOTERMAS DE ADSORÇÃO.....3

2.3 - PARÂMETROS QUE AFETAM A ADSORÇÃO.....4

2.4 - ADSORVENTES.....4

2.5 - BIOADSORVENTES - BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....5

2.6 - SORO DO LEITE.....5

2.7 O ADSORVATO: PROTEÍNAS.....6

2.7.1 - Proteínas do soro do leite.....7

2.7.1.1 - β-Lactoglobulina.....7

2.7.1.2 α-Lactoalbumina.....8

2.7.1.3 Albumina do soro bovino.....8

2.8 -EFEITO DO PH NA ADSORÇÃO.....9

2.9 - ADSORÇÃO DE PROTEÍNAS.....9

CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS.....13

3.1 - MATERIAIS.....13

3.2 - PRÉ-TRATAMENTO.....14

3.3 - DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE ABSOLUTA.....15

3.4 - AVALIALÇÃO DA REGIÃO DE SOLUBILIDADE DO WHEY PROTEINA.....15

3.5 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL DE ADSORÇÃO.....16

3.6 – CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO DO WHEY PROTEIN.....16

3.7 - QUANTIFICAÇÃO.....17

3.8 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG).....17

3.9 - ANÁLISE DE ESPECTROSPOIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADE DE FOURIER.....17

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....18

4.1 - TESTES PRELIMINARES.....18

4.2 - ENSAIOS DE ADSORÇÃO - PARETE MEDULAR DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....21

4.3 - ENSAIOS DE ADSORÇÃO - PARTE FIBROSA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....23

4.4 - ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG).....24

4.4.1 - BAGAÇO DE CANA 24

4.4.2 - WHEY PROTEIN.....25

4.4.3 - ENSAIOS DE ADSORÇÃO.....26

4.5 - FTIR.....27

4.5.1 - BAGAÇO DE CANA: FIBRA E MEDULA IN NATURA.....26

4.5.2 - WHEY PROTEIN.....28

4.5.3 - REGIÃO MEDULAR DO BAGAÇO APÓS OS ENSAIOS DE ADSORÇÃO.....30

4.5.4 - REGIÃO FIBROSA DO BAGAÇO APÓS OS ENSAIOS DE ADSOÇÃO.....31

CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES 34

CAPÍTULO 6 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....35

ANEXO 1.....36

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação das isotermas classificadas por Giles.....3

Figura 2 - Curva isotérmica do processo de adsorção da α-lactoalbumina e β-lactoglobulina.....10

Figura 3 - Resultados da adsorção do BSA em filmes celulósicos puros e modificados. (a) quantificação por QCM-D, (b) quantificação por MP-SPR.....11

Figura 4 - Adsorção de proteínas do soro do leite em bagaço de cana usando como tampão uma solução de ácido acético com acetato de sódio em pH 4,5. Fonte: Ferreira A.F. (2018).....12

Figura 5 - Medula do bagaço de cana trata.....14

Figura 6 - Fibra do bagaço de cana tratado.....15

Figura 7 - Curva de calibração para o pH 4,0.....19

Figura 8 - Curva de calibração para o pH 4,5.....19

Figura 9 - Curva de calibração para o pH 5,0 20

Figura 10 - Curva de calibração para o pH 5,5.....20

Figura 11 - Curva gerada pela análise ATG do bagaço medular e fibroso..... 24

Figura 12 - Curva gerada pela análise ATG do Whey Protein 25

Figura 13 - Curva gerada pela análise ATG dos ensaios de adsorção utilizando a região medular do bagaço.....26

Figura 14 - Curva gerada pela análise ATG dos ensaios de adsorção utilizando a região fibrosa do bagaço.....27

Figura 15 - Curva gerada pela análise FTIR do bagaço medular e fibroso.....28

Figura 16 - Curva gerada pela análise FTIR do Whey Protein.....29

Figura 17 - Comparação do perfil FTIR do Whey Protein e da proteína β-Lactoglobulina.....30

Figura 18 - Curva gerada pela análise FTIR do bagaço medular antes e após os ensaios de adsorção para dois valores de pH diferentes.....31

Figura 19 - Curva gerada pela análise FTIR do bagaço fibroso in natura, antes e após a adsorção.....32

Figura 20 - Perfil gerado pelas análises FTIR dos matérias de estudo.....33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do leite e soros doce e ácido. Adaptado de Antunes.....6
Tabela 2 - Composição do soro do leite, mostrando as principais proteínas. Adaptado de Sgarbieri.....7
Tabela 3 - Pontos Isoelétrico das proteínas do soro do leite e bagaço da cana. Adaptado de Rodrigues (2001) e Oliveira (2016).....9
Tabela 4 - Massa de Whey solubilizada em 50 mL de solução tampão, indicando o pH antes e após a solubilização.....18
Tabela 5 - Resultados para os ensaios de adsorção utilizando a região medular do bagaço de cana.....21
Tabela 6 - Resultados para os experimentos com a ausência de proteínas.....22
Tabela 7 - Resultados para os experimentos com a ausência de bagaço..... 22
Tabela 8 - Resultados experimentais para os ensaios utilizando a fibra do bagaço de cana.....23
Tabela 9 - Decaimento de massa dos materiais estudados no ATG.....25
Tabela 10 - Relação entre banda e a característica do material. Adaptado de Rodrigues, 2012.....28
Tabela 11 - Relação entre banda, frequência e descrição.....29

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

C_e	Concentração de equilíbrio
C_o	Concentração Inicial
q	Quantidade adsorvida
V	Volume
M_{adse}	Massa de adsorvente
BSA	Albumina do Soro Bovino
α-La	Alfa Lactoalbumina
β-Lg	Beta Lactoglobulina

RESUMO

A adsorção é uma operação comum nas indústrias e tem como objetivo a separação e purificação de compostos químicos, sendo, portanto, um processo de transferência de massa. Desse modo, a adsorção é entendida como uma operação onde existe o enriquecimento de um determinado composto (adsorvato) na região superficial de um material (adsorvente). Pesquisas recentes mostram o crescente uso de resíduos vegetais como adsorventes. Dentre estes resíduos o bagaço da cana-de-açúcar, por apresentar grande disponibilidade e área superficial elevada se mostra um excelente candidato para as operações de adsorção. O tratamento do soro do leite é de interesse, pois essa mistura possui um potencial poluidor elevado e é rica em proteínas. Hoje, 50% do soro do leite é utilizado na indústria alimentícia, porém ainda há no Brasil o seu descarte como efluente. As principais proteínas presentes no soro do leite, conhecidas como homo proteínas, são o BSA (albumina do soro bovino), a alfa-lactoalbumina (α-La) e a beta-lactoglobulina (β-Lg). O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do pH da solução sobre a capacidade de adsorção destas proteínas em bagaço de cana. Soluções de Whey Protein – PROSTAR 100%, tamponadas com tampão a base de ácido cítrico e de citrato de sódio em diferentes valores de pH (4,0; 4,5; 5,0; 5,5) foram utilizados na construção das curvas de calibração. Os resultados demonstram que o pH da solução influencia a curva de calibração o que indica variação na conformação das proteínas. O pH da solução também se mostrou ser uma variável fundamental na adsorção das proteínas do leite em bagaço de cana de açúcar.

Palavras-chave: adsorção, soro do leite, bagaço de cana.

ABSTRACT

The adsorption is a common operation in the industries and has as objective the separation and purification of chemical compounds, being, therefore, a mass transfer process. Thus, adsorption is understood as an operation where there is the enrichment of a certain compound (adsorvate) in the surface region of a material (adsorbent). Recent research shows the increasing use of plant residues as adsorbents. Among these residues, sugarcane bagasse, due to its high availability and high surface area, is an excellent candidate for adsorption operations. The treatment of whey is of interest, as this mixture has a high polluting potential and is rich in proteins. Today, 50% of whey is used in the food industry, but there is still in Brazil its disposal as effluent. The main proteins present in the whey, known as homo proteins, are BSA (bovine serum albumin) and alpha-lactalbumin (α-La) and beta-lactoglobulin (β-Lg). The objective of this work is to evaluate the effect of pH of the solution on the adsorption capacity of these proteins in sugarcane bagasse. 100% Whey Protein solutions, buffered with citric acid and sodium citrate based buffer, at different pH (4.0, 4.5, 5.0, 5.5) were used to construct the curves of calibration. The results show that the pH of the solution influences the calibration curve which indicates variation in protein conformation. The pH of the solution was also shown to be a fundamental variable in the adsorption of milk proteins in sugar cane bagasse.

Keywords: adsorption, whey, sugarcane bagas

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

O processo de adsorção é uma operação comum nas indústrias, tendo como objetivo a purificação e separação de compostos químicos. É um método extremamente eficiente quando se tem interesse em remoção de partículas orgânicas e/ou inorgânicas poluidoras de um efluente. Segundo Ruthven (1984) a adsorção possui alta seletividade e baixo consumo energético. Hoje em dia, existe o interesse em buscar adsorventes baratos e que possam ser beneficiados com o processo de adsorção. Assim, a bisosorção se mostra uma operação inovadora e financeiramente viável para processos de remoção de contaminantes de efluentes aquosos.

O bagaço da cana-de-açúcar é um dos maiores subprodutos da agroindustriais brasileira. Em 2017 cerca de 208 milhões de toneladas de bagaço foram produzidas (IPEA, 2012). Parte desse resíduo é aproveitado como combustível em caldeiras para a produção de energia nas próprias usinas sucroalcooleiras (NOVA CANA, 2013).

Em 2000, Borges e colaboradores divulgaram um estudo mostrando que o excedente do bagaço poderia ser utilizado como um complemento alimentar na criação de ruminantes (Bovinos), pois o bagaço é um material fibroso. Carvalho *et. al*.(2005) complementaram o estudo divulgado por Borges *et. al*. (2000) observando que o bagaço é um material com baixos índices de proteínas, mas que poderia ser beneficiado se tratado em conjunto com outros suplementos alimentares.

Em 2018, Ferreira publicou estudos sobre a operação de adsorção de proteínas presentes no soro do leite utilizando como adsorvente o bagaço de cana-de-açúcar. O trabalho teve como finalidade estudar a potencialidade da adsorção e comparar diferentes técnicas utilizadas para quantificar a adsorção.

O presente estudo, seguindo os estudos iniciados por Ferreira (2018), tem como objetivo geral avaliar o efeito do pH de uma solução tampão de ácido cítrico nos valores de pH de 4 – 4,5 – 5 – 5,5 sobre a adsorção de proteínas em bagaço de cana. E como objetivo específico comparar a operação de adsorção quando são utilizadas diferentes regiões do bagaço de cana-de-açúcar.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Adsorção

Segundo Rouquerol (1999) o conhecimento teórico sobre adsorção foi postulado entre os anos de 1773 e 1881. Pesquisadores como Scheele, Priestley e Fontana, estudaram o comportamento de alguns gases na presença de carvão. Kayse em 1881 foi o primeiro a usar o termo "adsorção" e registrou as primeiras isotermas de adsorção da história.

A operação de adsorção além de ser utilizada como método para remoção de corpos poluidores presentes em corpos líquidos ou gasosos em baixas concentrações, é utilizado na recuperação de solventes ou de outros produtos de alto valor agregado (GUELF; SCHEER, 2007). A adsorção é uma operação onde existe transferência de massa entre componentes presentes em um fluido líquido ou gasoso para um sólido. Os componentes presentes no fluido irão se concentrar na interface sólida (GOMIDE, 1983). Segundo Rouquerol (1999) é interessante que os adsorventes possuam grandes áreas de superfície específica, grande quantidade de poros ou serem compostos de partículas finas.

2.1.1 – Adsorção Física e Adsorção Química

A adsorção física, também conhecida como fisissorção, existe quando ocorre atração eletrostática e forças de Van der Waals. Essas forças são responsáveis pela atração entre os corpos presentes na fase fluida e a superfície do sólido. Essa é uma operação reversível, uma vez que não existe a formação nem quebra de ligações químicas (SCHNEIDER, 2008).

Na adsorção química, também conhecida como quimissorção, há a existência de ligações químicas entre adsorvente e adsorvato (DI BERNARDO *et. al*., 2002). Esse tipo de adsorção ocorre nas regiões de sítio ativo do adsorvente e existe a transferência de elétrons entre adsorvente e adsorvato (PRAUSNITZ *et. al.*, 1986). Desse modo, as operações de adsorção química são irreversíveis ou o conjunto (adsorvente e adsorvato) se torna muito difícil de se separar.

2.1.2 – Adsorção em fase Líquida

Segundo Brandão (2006) a adsorção em fase líquida é o tipo mais comum de operação de adsorção e possui diversos objetivos tais como remoção de contaminantes, melhoria de propriedades físicas e químicas de corpos hídricos, remoção de determinados componentes. Ruthven (1984) informa outras utilidades da operação de adsorção tais como desidratação de líquidos orgânicos, descoloração de corantes nas indústrias têxteis e remoção de peróxidos em óleos.

2.2 – Isotermas de Adsorção

Um método de se analisar qualitativamente o processo de adsorção é através das isotermas. Para o entendimento do processo é necessário analisar o equilíbrio de adsorção. O equilíbrio da adsorção é regido pelo critério geral de equilíbrio de fases, ou seja, é obrigatório que exista a igualdade entre os potenciais químicos do soluto na fase fluida e adsorvida.

Segundo Giles *et al*. (1960) existe uma classificação das isotermas em fase líquida sendo quatro tipos principais, “S”, “L”, “H” e “C” com subdivisões em cada tipo. A Figura 1 mostra a classificação proposta por Giles et al. (1960). A caracterização é feita observando o tipo de curvatura da isoterma. O tipo “S” apresenta uma curvatura convexa para o eixo da concentração, o tipo “L” (Langmuir) é côncavo, o tipo “H” (High Affinity) apresenta um comportamento extremamente íngreme, e por fim o tipo “C” (Constant Partition) apresenta comportamento linear.

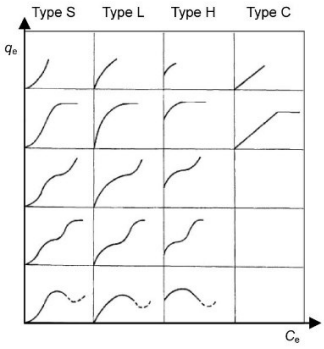

Figura 1: Classificação das isotermas classificadas por Giles et al. (1960)

A quantidade adsorvida pode ser calcula pela Equação 1 na qual q é a quantidade adsorvida, Co a concentração inicial do soluto, Ce a concentração de equilíbrio do soluto,

V o volume da solução e M_{adse} é a massa de adsorvente. Esse cálculo representa a chamada adsorção em excesso. Nesse caso, considera-se a simplificação de que o volume da solução é constante.

$$q = (Co - Ce) * V/m_{adse} \quad (1)$$

2.3 – Parâmetros que afetam a adsorção

O fenômeno de adsorção é regido por forças intermoleculares entre soluto e solvente. Essas forças além de dependerem do sistema sólido e fluido dependem também das condições operacionais que atuam sobre a operação. Além disso, depende de características particulares do adsorvente e adsorvato. Sobre o adsorvente podemos citar alguns fatores que influenciam o processo, como: área superficial, porosidade, estrutura interna dos poros, tamanho da partícula, porosidade, processo de ativação, grupos funcionais, energia de superfície e polaridade. Sobre o adsorvato: a composição, tamanho, grupo funcionais presentes, peso molecular e polaridade são fatores que influenciam a operação de adsorção. Os parâmetros externos que mais influenciam o processo são pH, composição do tampão, força iônica, agitação, tempo de contato e temperatura (HAGHSERESHT *et. al.*, 2002; RABE *et. al.*, 2011).

2.4 – Adsorventes

Os adsorventes podem ser naturais ou sintéticos, possuindo estrutura cristalina ou amorfa, podendo ter características hidrofóbicas ou hidrofílicas (LEVAN et al., 2008). Os compostos adsorventes de característica hidrofóbicas são empregados com o intuito de remover espécies menos polares. Esses adsorventes não possuem interação com moléculas de água, mas tem a capacidade de interagir seletivamente com moléculas orgânicas. Os adsorventes hidrofílicos possuem afinidade por moléculas polares, consequentemente esses adsorventes interagem com moléculas de água (STINGUEL, 2015).

Os principais adsorventes e os mais utilizados são os carbonos ativados (derivados de carvão e bioprodutos), adsorventes minerais (silicatos, argilas), resinas (adsorventes poliméricos hidrofílicos ou hidrofóbicos) e resíduos da agroindústria, como cinzas voláteis, lignina e matérias lignocelulósicos (POMPEU *et. al.*, 2010; SOTO *et. al.*, 2011).

2.5 – Bioadsorventes – Bagaço da cana-de-açúcar

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, produzindo em média cerca de 900 milhões de toneladas de cana (EMBRAPA, 2017). Desse modo, gerando grandes quantidades de resíduo agroindustrial como o bagaço e a palha. A grande disponibilidade aliado ao baixo custo fazem do bagaço um ótimo candidato a adsorvente. Além da alta disponibilidade do bagaço e de não possuir alto valor econômico, ele possui uma elevada área superficial (312 m^2/g SWAMINATHAN, *et. al.* (2005)), grandes poros e é um composto hidrofóbico (RUBIO, 2003). O bagaço é um material lignoceluléico, apresentando grupos funcionais como a hidroxila, carbonila e metoxilas. Esses grupos funcionais constituem sítios ativos, sendo eles responsáveis pelas cargas superfícias do adsorvente (MONTEIRO, 2010).

Segundo Borges *et. al.* (2000) o bagaço da cana-de-açúcar é um alimento que pode ser ingerido nas rações animais para a correção de uma alimentação pobre em fibras, entretanto Carvalho *et. al*. (2005) postula que o bagaço é um alimento extremamente filamentoso, com pouco valor energético e quantidade de proteínas irrisória. O processo de adsorção é uma alternativa para contornar esse problema, pois é possível a adsorção de proteínas presentes no soro do leite (outro subproduto da agroindústria) usando o bagaço da cana.

2.6 – Soro do Leite

Industrias especializadas em tratamento e beneficiamento do leite geram grandes quantidades de efluentes com carga orgânica elevada como açúcares e proteínas (FONTENELLE, 2006). Estima-se que para a fabricação do queijo 85-95% do volume do leite é retirado como soro. Dessa forma, a cada 100 litros de leite se produz entre 85 a 95 litros de soro. Quando a caseína é retirada em meio enzimático, o soro é chamado de soro doce, enquanto se a caseína é retirada em meio ácido o soro é denominado soro ácido. O soro é um efluente ainda rico em compostos orgânicos e, dependendo do queijo produzido, pode possuir cerca de 55% dos nutrientes presentes no leite (GONZÁLEZ SISO, 1996). A Tabela 1 apresenta a composição aproximada do leite e dos soros doce e ácido.

Tabela 1 - Composição do leite e soros doce e ácido. Adaptado de Antunes (2003)

	Leite (%)	Soro doce (%)	Soro ácido (%)
Água	87	93,6	93,8
Sólidos Totais	13	6,4	6,2
Proteína	3,6	0,8	0,75
Gordura	3,9	0,5	0,04
Lactose	4,6	4,6	4,2
Sais Minerais	0,8	0,5	0,8
Ácido Láctico	-	0,05	0,4

Alves Filho (2002) estima que 10 litros de leite resultam em um quilo de queijo e nove litros de soro, e que a partir desse soro é possível extrair 100 gramas de proteínas. Em 2002 foram produzidos pelo menos 100 bilhões de litros de soro (ALVES FILHO, 2002). Quando o soro do leite gerado a partir da produção do queijo não é tratado de maneira eficiente ele pode contribuir para a contaminação de corpos hídricos receptores aumentando a DBO (HOSSEINE et al., 2003). Segundo Mosquin *et. al*. (1999) o potencial poluidor do soro de leite é cerca de 100 vezes maior se comparado com o esgoto doméstico.

Em 2001, 50% do soro gerado na produção do queijo se encontrava industrializado. O subproduto é utilizado em aditivo de bebidas fermentadas, sucos, panificação e uma parcela do soro é desidrata e comercializada como pó, sendo essa uma fonte nutritiva e energética (ALMEIDA et al., 2001).

Segundo Antunes (2003), naquele ano o Brasil gerou aproximadamente 1,72 milhões de toneladas de soro, sendo 1,58 milhões de tonelada descartadas e isso resultou em uma perca considerável de proteínas. Desse modo o desenvolvimento de técnicas que aproveitem o valor proteico presente no soro é necessário.

2.7 – O adsorvato: Proteínas

Proteínas são polímeros sendo compostos por 20 monômeros possíveis, chamados esses de aminoácidos (ANDRADE et al., 1992). As proteínas são as biomoléculas mais comuns nos corpos dos seres vivos (LEHNINGER, et al., 1989). Essas moléculas estão ligadas a várias funções fundamentais para a boa manutenção do corpo humano, fazem parte na reparação celular, reguladoras de processos metabólicos importantes, prover e

regular energia ao corpo (ANTUNES, 2003). As proteínas também fazem parte de atividades hormonais e enzimáticas, funcionando como catalizadores (BOBBIO, 1989).

2.7.1 – Proteínas do Soro do Leite

O soro do leite apresenta um valor elevado de proteínas. Essas proteínas são utilizadas com frequência nas indústrias, como na aplicação de emulsões, géis, formação de filmes e capsulas protetoras (MOR-ROSENBERG et al., 2004; MODLER, 2000; WONG et al., 1996). Na Tabela 2 há a representação e as quantidades das proteínas mais relevantes presentes no soro do leite. As proteínas do soro do leite são conhecidas como homo proteínas (constituídas apenas por aminoácidos), são menores, compactas e com formato semelhante a um globo, solúveis em uma grande faixa de pH e não coaguláveis pela renina (KINEKAWA, KITABATAKE, 1996). Apresentando regiões polares e apolares, com os grupos hidrofílicos postos na face exterior do globo e com os grupos polares no interior do globo (SILVA *et. al*., 2005).

Tabela 2 - Composição do soro do leite, mostrando as principais proteínas. Adaptado de Sgarbieri (2005).

Proteínas do soro do leite (g/L)	
Proteínas totais	5,6
B-Lactoglubulina	3,2
A-Lactalbumina	1,2
BSA	0,4
Imunoglobinas	0,7
Lactoferrina	0,1
Lisozima	-

2.7.1.1 – β-Lactoglobulina

A β-lactoglobulina (β-Lg) é uma proteína globular com peso molecular de 18.362 kDa, a β-lg é a proteína mais abundante no leite bovino, caprino e ovino, sendo encontrada em quantidades ínfimas no leite humano, por esse motivo ela é alergênica e antigênica para algumas pessoas (SGARBIERI, 2005; ROUVINEN et al., 1999; SÉLO et al., 1999). Possui cerca de 162 aminoácidos sendo 25% deles ramificados. Os aminoácidos nessa proteína são arranjados em cadeias simples. A β-lg é uma proteína sensível a altas temperaturas (provoca a perda de solubilidade, desnaturação) e sensível ao pH ácido (SGARBIERI, 2005.)

As principais funções dos aminoácidos provenientes da β-lg são: anti-hipertensiva, antioxidante, antimicrobiana, imunoestimulante e hipocolesterolêmico (SGARBIERI, 2005).

2.7.1.2 – α-Lactoalbumina

A α-lactoalbumina (α-la) é a segunda proteína mais comum no soro do leite, é globular com peso de 14 kDa, formada por 123 resíduos de aminoácidos. A α-la é rica em aminoácidos essenciais, tais como o triptofano (precursor da serotonina), niacina, seus derivados possuem importantes funções dentro do metabolismo celular. É uma proteína tolerante a temperaturas elevadas, pois ela consegue se renaturar em baixas temperaturas (SGARBIERI, 2005).

A α-la é uma metalo-proteína, ela possui um átomo de cálcio em sua estrutura, esse metal faz com que ela seja capaz de formar ligações com outras proteínas, portanto, a α-la possui a capacidade de polimerizar (CHEFTEL, LORIENT, 1982; MULVIHILL, 1994). As principais atividades biológicas que a α-la está envolvida são: anticancerígenos e antimicrobiano (HARAGUCHI et al., 2006; SANTOS et al., 2011b).

2.7.1.3 – Albumina do Soro Bovino

A albumina do soro bovino (BSA) é a proteína que possui a maior cadeia simples de todas as proteínas presentes no soro do leite. Possui cerca de 582 aminoácidos, alto peso molecular, e também é uma proteína globular. A BSA apresenta uma solubilidade elevada em intervalos de pH entre 1,5-8,0. Essa proteína interage com ácidos graxos livres e determinados lipídeos, favorecendo o seu transporte na corrente sanguínea, desse modo a BSA tem papel importante nas atividades fisiológicas. Além disso a BSA é uma precursora da síntese da glutationa, que é interessante no tratamento de pessoas portadoras do HIV, além de ter atividades anticancerígenas (HARAGUCHI et al., 2006; KRISSANSEN, 2007; RENHE, 2008; SANTOS et al., 2011b).

2.8 – Efeito do pH na adsorção

O pH determina como as cargas elétricas das moléculas de proteína se encontram. Desse modo, o pH é um dos fatores responsáveis para a adsorção de proteínas. O ponto isoelétrico (pI), ou ponto de carga zero, é o ponto em que uma molécula se mostra com carga líquida neutra, nesse ponto as cargas negativas e positivas estão equilibradas. O pH afeta o processo de adsorção devido à influência no equilíbrio das cargas nas moléculas (GORGULHO et al., 2006). Por exemplo, quando o pH da solução se encontra abaixo do ponto isoelétrico, a superfície do adsorvente encontra-se carregada positivamente e para balancear essas cargas os ânions são preferencialmente adsorvidos. Por outro lado, quando o pH é maior que o ponto isoelétrico, a superfície do adsorvente encontra-se carregada negativamente, portanto, os cátions são adsorvidos.

É interessante que o pH da solução esteja entre os pontos isoelétricos do adsorvente e adsorvato, pois nesse cenário não haverá dominância das interações eletroestáticas entre adsorvente e adsorvato. Assim, a migração do adsorvato para a superfície do solido adsorvente é elevada. Estudos realizados por Oliveira (2016) revelam que o ponto isoelétrico do bagaço é de 4,6 e Rodrigues (2001) sugere que os pontos isoelétricos das proteínas estudas (α-la, β-lg, BSA) estão entre 4,2 e 5,2. Os pontos isolelétricos das proteínas e do bagaço de cana são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Pontos Isoelétrico das proteínas do soro do leite e bagaço da cana. Adaptado de Rodrigues (2001) e Oliveira (2016).

Composto	Ponto Isoelétrico
α-la	4,2 – 4,8
β-lg	5,2
BSA	4,7 – 4,9
Bagaço da cana	4,6

2.9 – Adsorção de Proteínas

Áreas da ciência como medicina, farmácia e biotecnologia possuem interesse na adsorção de proteínas em superfícies sólidas, pois esse fenômeno desempenha um papel fundamental em diversos processos naturais. Quando as proteínas se ligam ou se separam do adsorvato pode-se desencadear efeitos como reestruturações, agregação superficial e efeito de exclusão (RABE et al., 2011).

Existem na literatura diversos trabalhos abordando a adsorção de proteínas em superfícies sólidas, entretanto, poucos são sobre a α-lactoalbumina e β-lactoglobulina. Um estudo pioneiro foi realizado por Ferreira, em 2001. Nesse trabalho, foi estudado como a α-la e a β-lg são adsorvidas em colunas de leito fixo, utilizando um tipo de resina Accel Plus como meio adsorvente. Naquele trabalho o método para quantificar as proteínas foi o de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O autor estudou o efeito da solução tampão de Tris-HCl e da força iônica do tampão. Ferreira (2001) conclui que existe uma relação inversa entre quantidade de substância adsorvida e força iônica do tampão e que tal fato é explicado devido a competição entre proteínas e íons presentes na solução tampão com o sítio ativo do adsorvente. Naquele estudo foram determinadas as curvas isotérmicas do processo de adsorção da α-la e da β-lg na resina de estudo, as quais são apresentadas na Figura 2, com concentrações iniciais variando de 1,01 – 3,53 mg/mL e 2,07 – 7,94 mg/mL respectivamente. O estudo concluiu que a adsorção α-la é menor do que da β-lg. Essa diferença é devido ao fato da α-la ser mais hidrofóbica em comparação a β-lg.

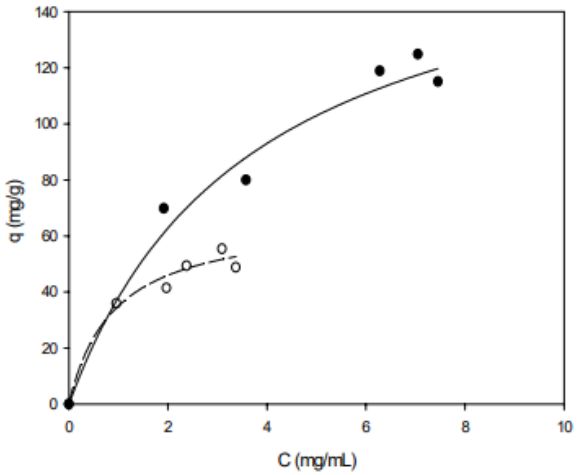

Figura 2: Curva isotérmica do processo de adsorção da α-lactoalbumina e β-lactoglobulina; • → β-lg. O → α-la. Fonte: Ferreira R.C. (2001)

Em 2014 um estudo foi feito por Mohan a fim de entender como a BSA era adsorvida em filmes de celulose não modificados e em filmes de celulose modificados catiônicamente. Os filmes modificados apresentavam soluções de cloretos de butirato (CMAB) com dois graus diferentes chamados de CMABCL/DS = 0,21 e CMABCH/DS = 0,675. Nesse estudo foram realizados experimentos em diferentes pH (5, 6 e 7) com concentração de 1 mg/mL. Foi concluído que o melhor pH para o fenômeno de adsorção

foi de 5 utilizando um tampão de acetato de sódio com ácido cítrico, tanto para os filmes sem e com modificação. A quantificação nesses experimentos foi feita por duas técnicas, micro balança de cristal de quartzo com monitoramento de dissipação, massa molhada (QCM-D) e por ressonância plasmática de superfície multi-parâmetro, massa seca (MP-SPR). Os dados concluídos são observados na Figura 3 (a) e (b) respectivamente. Concluiu-se que nos filmes de celulose modificada e pura, a adsorção de água é alta, pois a quantidade adsorvida usando o método com massa molhada é maior do que a quantidade adsorvida usando o método de massa seca.

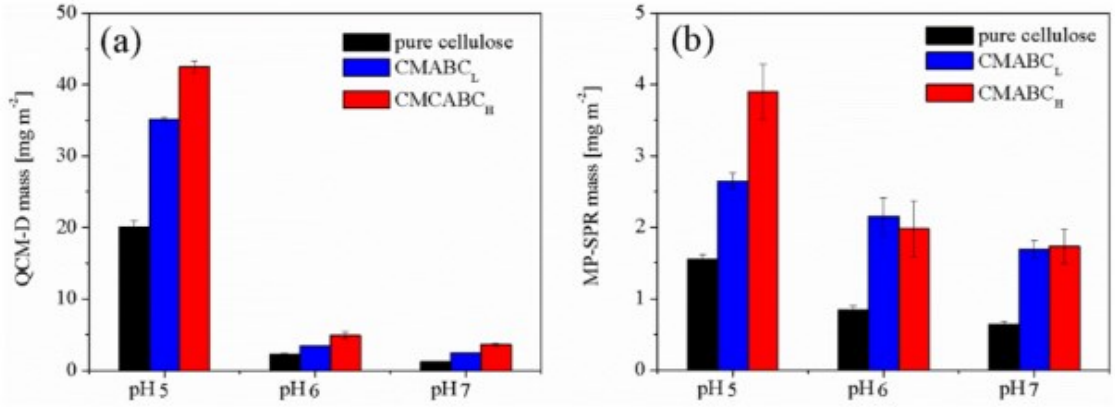

Figura 3: Resultados da adsorção do BSA em filmes celulósicos puros e modificados. (a) quantificação por QCM-D, (b) quantificação por MP-SPR. Fonte: Mohan et al. (2014)

Em 2015, Brito *et. al.* estudaram a adsorção da β-lg utilizando como adsorvente o carvão ativado (ponto isoelétrico 5,5). Foram realizados experimentos em tubos de ensaio onde foram depositados 10 mg de carvão juntamente com 5 mL de solução (concentração 0,5 mg/mL) e agitados por 24 horas em uma temperatura de 20ºC, naquele trabalho foi estudado o efeito do pH (3, 5 e 7). O método de quantificação foi feito por espectrofotometria a 280 nm e a quantidade adsorvida foi calculada seguindo a Equação 1. O autor reportou que o pH ótimo para o experimento foi de 5 onde obteve-se uma quantidade adsorvida de 64,9 mg/g, para outros pHs quase não foi observada a adsorção.

No ano de 2016, Centinkaya e Akkaya estudaram a adsorção seletiva da α-la em pequenas esferas de hidorxiapatita (HA) incorporadas em dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA). Esse estudo foi feito em batelada, utilizando 5 mL de solução de α-la a 2mg/mL, em temperatura ambiente, agitação em 150 rpm e por 2 horas em vários pHs e forças iônicas. Nesse estudo a capacidade de adsorção também foi mensurada pela

Equação 1 e a quantidade adsorvida foi avaliada por espectrofotometria em 280 nm. Nesse estudo foi concluído que a maior quantidade adsorvida foi obtida com a menor força iônica em pH de 7.

Em 2018, Ferreira estudou a adsorção de α-la, β-lg e BSA em bagaço. O estudo indicou que não houve adsorção no pH de 6, porém o bagaço de cana apresenta boa capacidade de adsorção. A Figura 4 mostra as quantidades adsorvidas para as proteínas no pH de 4,5 em tampão de ácido acético. A figura 4 informa que a β-lactoglobulina foi a proteína que mais adsorveu nas condições apresentadas no trabalho.

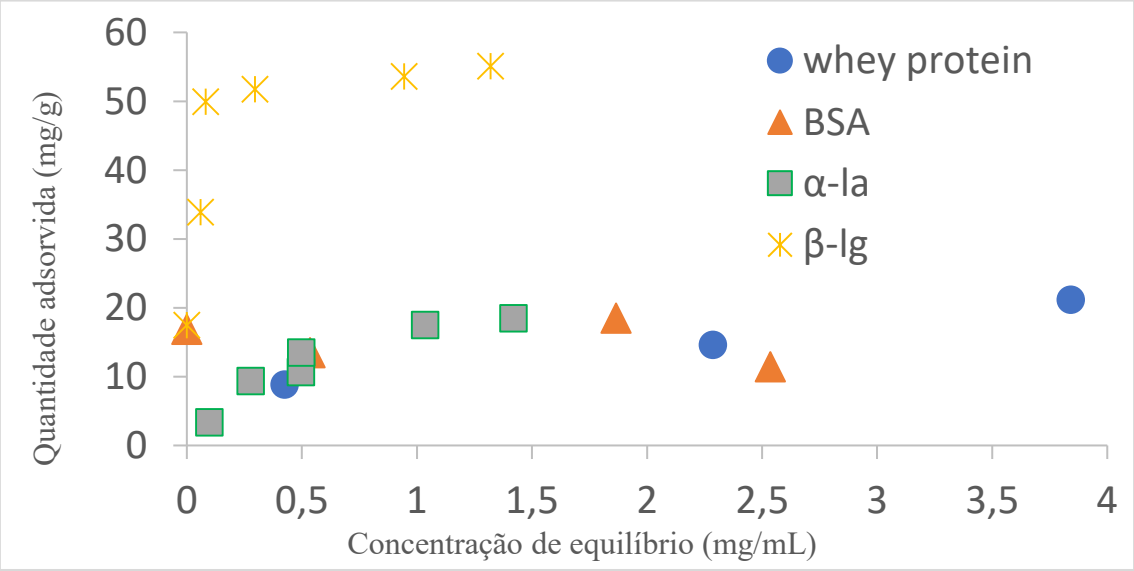

Figura 4: Resultados da operação de adsorção de proteínas do soro do leite em bagaço de cana usando como tampão uma solução de ácido acético com acetato de sódio em pH 4,5. Fonte: Ferreira (2018).

CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 –Materiais

Foram utilizados os seguintes materiais:

1. Bagaço de cana-de-açúcar obtido por doação com comerciante de garapa;
2. Whey Protein, produzido por Ultimate Nutrition;
3. Ácido cítrico da marca Vetec;
4. Citrato de sódio da marca CAAL;
5. Coomasie Brilliant Blue da marca Sigma-Aldrich;
6. Ácido fosfórico 85% da marca Orbital Química;
7. Etanol 95% da marca Orbital Química.

Adsorvente

O bagaço da cana foi obtido em estabelecimento de venda de garapa (suco de cana de açúcar), na região do Santa Mônica em Uberlândia, Minas Gerais.

Adsorvato

A solução proteica foi preparada a partir de Whey Protein de chocolate da marca PROSTAR 100%, produzido por Ultimate Nutrition (Informações nutricionais encontradas no Anexo 1).

Solução tampão

Para a confecção da solução tampão de ácido cítrico e citrato de sódio foi utilizado ácido cítrico anidro para análise da marca Vetec e acetato de sódio para análise da marca CAAL.

Confecção do reagente Bradford

Nos ensaios realizados nesse trabalho a quantificação de proteínas se dará pela metodologia proposta por Bradford (1976). Nessa metodologia, é necessário a utilização de um reagente denominado de “reagende de Bradford”, esse é o reagente que permite a quantificação de proteínas.

Para a confecção do reagente de Bradford é necessário dissolver 0,1 g de Coomassie Brilliant Blue G-250 em 50 mL de etanol 95%, enquanto a solução é agitada é necessário adicionar 100 mL de ácido fosfórico 85%. A solução resultante é deixada

agitar por 2 horas e então é completada até a marca de um litro. A solução é deixada agitar por 12 horas, e por fim a solução resultante é filtrada. É necessário que o pote que armazene o reagente de Bradford seja opaco e envolto por um material que evite que o reagente de Bradford tenha contato com a luz, isso é explicado pelo fato do reagente ser sensível à luz.

3.2 – Pré-Tratamento do Bagaço de Cana

Segundo os estudos realizados por Ferreira (2018) o bagaço deve ser lavado com água em abundância para que materiais indesejáveis sejam removidos. Depois de lavado o bagaço segue para uma estufa em 50ºC por 72 horas para secagem. Uma vez seco, o bagaço foi dividido manualmente de acordo com suas características morfológicas, em fibras e medula. Sendo a região medular a parte mais interna do bagaço (rica em celulose e hemicelulose). Sendo a região externa a região fibrosa do bagaço, uma região mais dura e com materiais semelhantes à fios. Após a divisão, parte do material foi triturado em liquidificador e para as análises de densidade o material passou ainda por uma etapa de moagem para se obter um bagaço de cana extremamente fino. A figura 5 mostra a medula do bagaço de cana tratada, enquanto a figura 6 mostra a parte fibrosa da cana tratada.

Figura 5: Medula do bagaço de cana tratado.

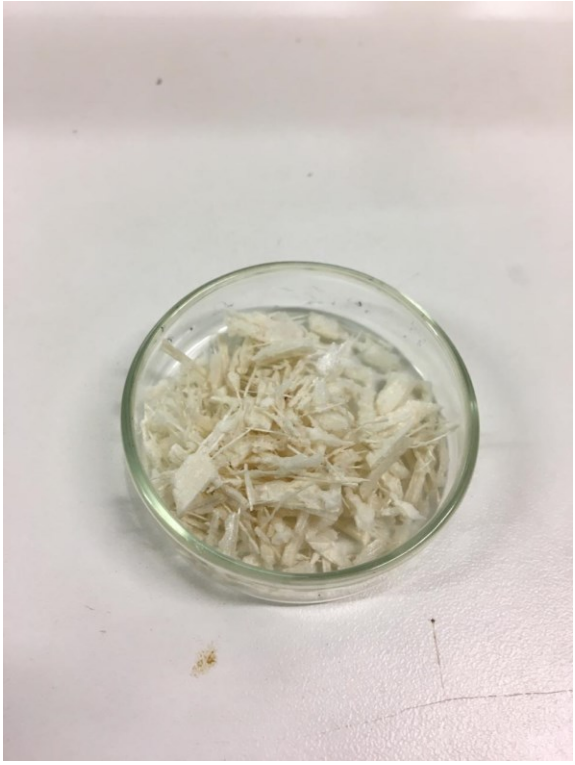

Figura 6: Fibra do bagaço de cana tratado.

3.3 – Determinação da densidade absoluta

A análise da densidade absoluta foi realizada com o equipamento Micrometrics AccuPyc 1330, gás pycnometer. Esse equipamento apresenta um recipiente cilíndrico onde se depositou uma massa conhecida de material (pó de bagaço de cana). Com o recipiente cilíndrico posto dentro do equipamento, o equipamento injeta uma quantidade de ar dentro do recipiente até que esse recipiente fique a uma determina pressão. Com o valor conhecido do recipiente cilíndrico e do volume de ar injetado é possível, por diferença, estimar o volume que o material ocupa dentro do cilíndrico, com essa informação e com a massa é possível calcular o valor da densidade do material.

3.4 – Avaliação da região de solubilidade do Whey Protein

Inicialmente, foi necessário definir qual é a quantidade máxima de Whey Protein que pode ser dissolvida nas soluções tampão de ácido cítrico e citrato de sódio em diferentes faixas de pH (4; 4,5; 5; 5,5) essas faixas foram escolhidas porque abrangem os pontos isoelétricos das moléculas de interesse. A importância desses ensaios se baseia no

fato de que é necessário garantir que as diferenças entre as medidas de concentração das proteínas em solução antes e após o processo de adsorção esteja relacionada unicamente ao processo e não a uma possível precipitação de proteínas insolúveis. Para a avaliação da solubilidade foi utilizado 50 ml do tampão de ácido cítrico com citrato de sódio nas faixas de pH mostradas anteriormente e foi adicionado cerca de 10 mg de Whey Protein. O sistema foi então agitado e posto em repouso por alguns minutos, se a mistura apresentasse corpo de fundo, ou se mostrasse translúcida concluía-se que a mistura havia atingido seu limite de solubilidade, caso contrário adicionava mais 10 mg de Whey Protein e se repetia o processo.

3.5 – Procedimento experimental dos experimentos de adsorção

Novamente, inspirando nos experimentos realizados por Ferreira (2018). Propomos que o experimento seja realizado em reator agitado. Foram realizados experimentos utilizando a parte fibrosa da cana e parte medular da cana. Incialmente, é necessário solubilizar 10 mg de Whey Protein em 20 mL de solução tampão e em seguida adicionar 300 mg de bagaço de cana. Após esse procedimento é necessário agitar o sistema por 6 horas em 400 rpm (Ferreira, 2018). Ao final do experimento, deve-se filtrar (utilizando um filtro de papel, à pressão ambiente) o sistema, a fase sólida deve ser guardada em estufa para análise posterior (FTIR e ATG) e com a fase líquida é possível realizar as aferições (em espectrofotômetro, segundo método de Bradford (1976)) utilizando a metodologia proposta por Bradford (1976) de quantidade adsorvida com auxílio da Equação 1.

3.6 – Construção de curvas de calibração de Whey Protein

O pH da solução é responsável por manter o equilíbrio de ionização dos grupos ácidos e básicos de uma proteína, assim, se houver uma mudança no valor do pH pode-se mudar a distribuição de cargas de uma proteína, tal fato pode fazer com que a proteína tenha sua forma alterada (FONSECA, 2006). A metodologia utilizada nesse trabalho para quantificar proteínas se utilizada da espectrofotometria, nessa metodologia a conformação das moléculas em solução é de grande importância, pois a interação da

proteína com a luz muda para cada forma que a proteína assumir. Assim, é necessária a Construção de curvas de calibração para cada um dos valores de pH de estudo.

As curvas de calibração foram confeccionas utilizando Whey Protein e as soluções tampão de pH em estudo. Inicialmente, foi montado uma solução mãe de concentração conhecida (1 mg/mL) utilizando o Whey protein junto com o tampão de interesse. Em seguida foram criadas soluções filhas diluindo alíquotas da solução mãe, gerando 4 soluções filhas. Com as soluções filhas foi possível construir as curvas de calibração se utilizando da metodologia proposta por Bradford (1976)

3.7 – Quantificação de proteínas

A metodologia para a quantificação dos ensaios de adsorção, utilizando a Equação 1, baseia-se na determinação de concentração do adsorvato antes após a operação de adsorção. Nesse trabalho as concentrações de adsorvato foram determinadas por espectrofotometria utilizando-se o método proposto por Bradford (1976).

A metodologia de quantificação é bastante simples. Inicialmente, é necessário pipetar 20 µL de amostra em um tubo Eppendorf e em seguida adicionar mais 1000 µL nesse mesmo tubo e então se agita o tubo por 5 segundos e se espera 10 minutos para a reação ocorrer. Após 10 minutos devem ser feitas as leituras em espectrofotômetro em comprimento de onda de 595 nm.

3.8 – Análise termogravimétrica (ATG)

Foram realizadas análises termogravimétricas das amostras de bagaço *in natura* (medula e fibra) antes e após ensaio de adsorção em pH 4,5, bem como da amostra de whey protein utilizado neste trabalho. Os ensaios foram realizados no laboratório de multiusuário, localizado na sala 1Z, utilizando um fluxo de 81 ml/min (9,7 mL/min de ar sintético e 72 mL/min de He) e uma rampa de aquecimento de 10ºC/min.

3.9 – Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas no espectrômetro Spectrum Two, da marca PerkinElmer do laboratório de análises do Núcleo de Processos Biotecnológicos em uma faixa de

comprimento de onda de 500 até 4000 cm^{-1}. As pastilhas de material usadas para a análise foram feitas com ajuda de uma prensa manual com massa de 0,026 g.

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – Testes Preliminares

Determinação da solubilidade do Whey Protein na solução tampão de ácido cítrico em diferentes faixas de pH

Inicialmente, foi necessário definir qual é a quantidade máxima de Whey Protein que pode ser dissolvida nas soluções tampão de ácido cítrico e citrato de sódio em diferentes faixas de pH (4; 4,5; 5; 5,5). A Tabela 4 mostra os ensaios realizados de solubilidade do Whey Protein em 100 mL de solução tampão 0,1M de ácido cítrico com citrato de sódio.

Tabela 4 – Massa de Whey solubilizada em 50 mL de solução tampão, indicando o pH antes e após a solubilização.

pH antes da solubilização	pH após a solubilização	Solubilidade (mg/mL)
4	4,07	4,16
4,5	4,66	3,928
5	5,09	4,168
5,5	5,57	4,16

Com a Tabela 4 podemos observar que o pH do meio não varia significativamente com a solubilização do Whey Protein, podemos aferir também que a solubilidade do Whey Protein gira em torno de 4,16 mg/mL. É interessante que os ensaios de adsorção ocorram numa região menor do que o limite de solubilidade pois isso garante que não haverá a precipitação de proteínas ao decorrer dos ensaios.

Determinação da densidade absoluta do bagaço

A determinação da massa específica do bagaço foi determinada por um método utilizando gás com o equipamento Micrometrics AccuPyC1330 – Gas Pycnometer (como explicado no item 3.3 deste trabalho). A massa específica foi determinada como 1,6353 g/cm^3.

Curvas de calibração do Whey Protein

As Figuras 7, 8, 9 e 10 mostram as curvas de calibração confeccionadas como metodologia é explicada no item 3.6.

A Figura 7 mostra a curva de calibração do Whey Protein para o pH 4,0.

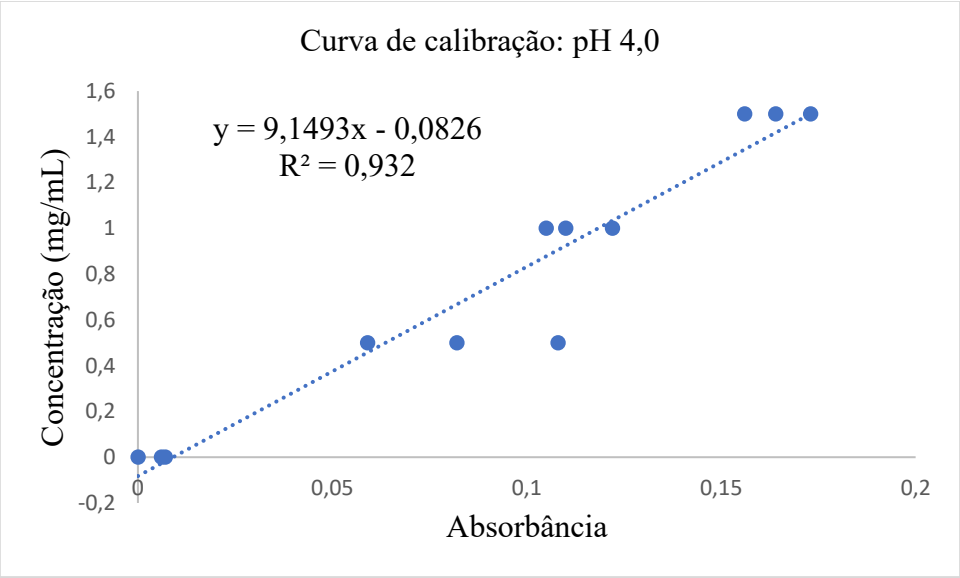

Figura 7: Curva de calibração para o pH 4,0.

A Figura 8 mostra a curva de calibração do Whey Protein para o pH 4,5.

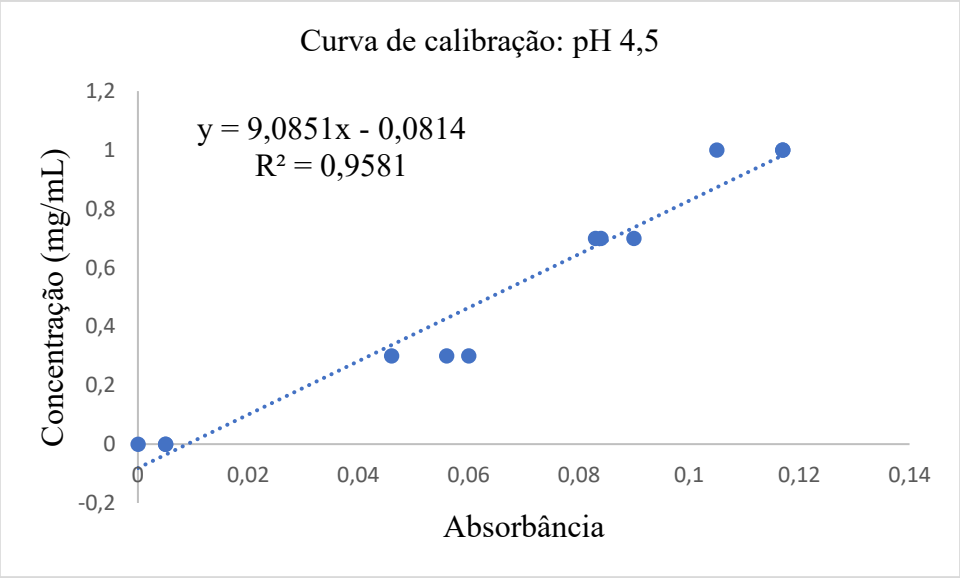

Figura 8: Curva de calibração para o pH 4,5.

A Figura 9 mostra a curva de calibração do Whey Protein para o pH 5,0.

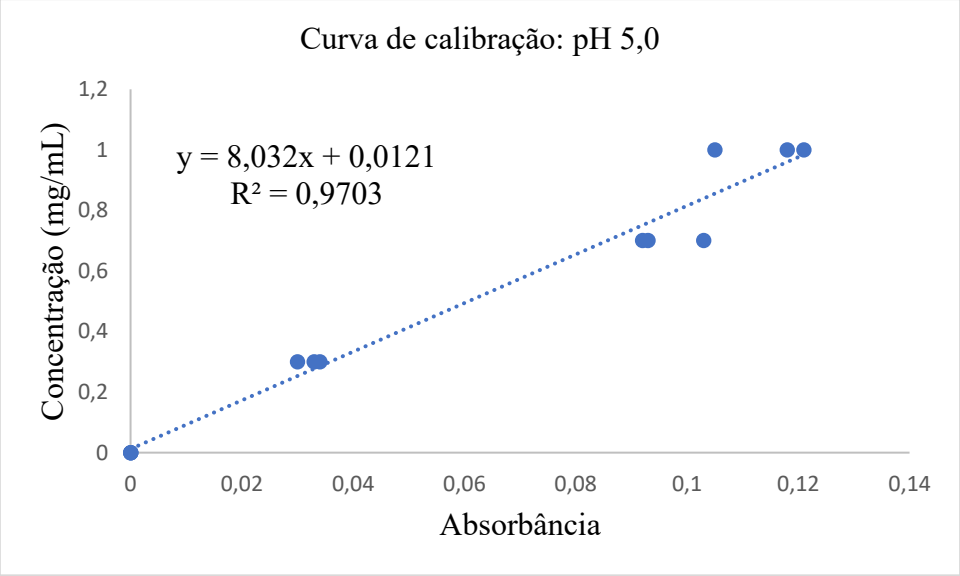

Figura 9: Curva de calibração para o pH 5,0

A Figura 10 mostra a curva de calibração do Whey Protein para o pH 5,5.

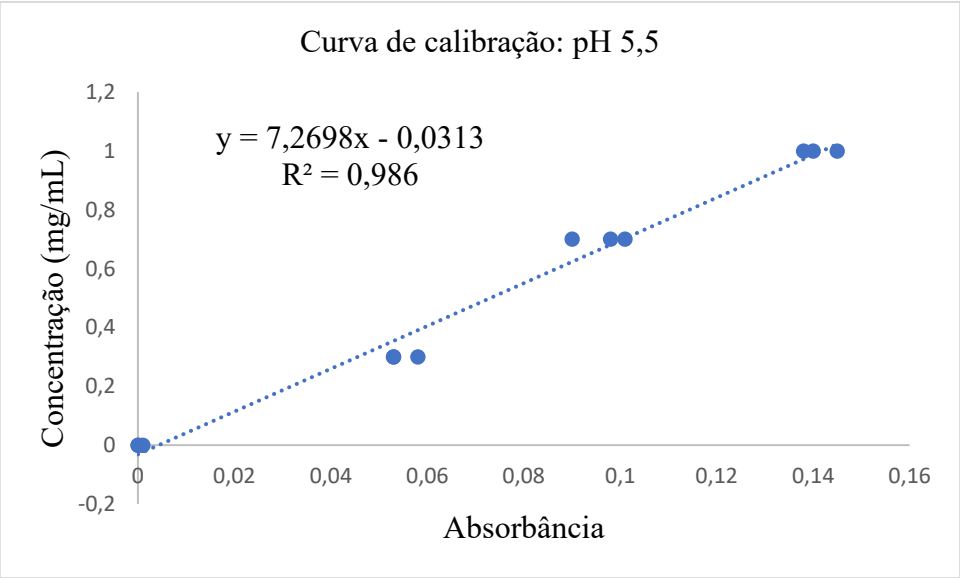

Figura 10: Curva de calibração para o pH 5,5.

Como pode ser observado nas Figuras de 7 até 10, houve a mudança na inclinação da reta, tal fato, mostra que o pH é uma variável importante quando se trata de quantificar proteínas. Por exemplo, uma absorbância lida no pH de 5,0 indica uma concentração de proteína de 0,4129 mg/mL, enquanto que no pH de 5,5 esta concentração corresponde a 0,3316 mg/mL. A mudança do valor associado à absorbância, provavelmente está associado às mudanças de conformação das proteínas presentes no Whey Protein em diferentes valores de pH. Observa-se também que existe uma variabilidade na medida,

uma vez que se obteve valores pouco semelhantes de absorbância relacionadas a um mesmo valor de concentração.

4.2 – Ensaios de Adsorção – Parte medular da cana-de-açúcar

Os resultados para os ensaios de adsorção são apresentados na Tabela 5. Nessa Tabela, existe a relação entre os valores de pH estudados (antes e após o ensaio de adsorção), absorbâncias medidas, concentrações iniciais e finais com a quantidade adsorvida.

Tabela 5 – Resultados para os ensaios de adsorção utilizando a região medular do bagaço de cana.

pH	Absorbância	Absorbância média	Concentração inicial (mg/mL)	Concentração final (mg/mL)	Quantidade adsorvida (mg/mg)	pH antes do ensaio	pH após o ensaio
4,0	0,060 0,064	0,062	0,4455	0,4818	-0,00242	4,15	4,11
4,5	0,038 0,030	0,034	0,6103	0,2274	0,02552	4,72	4,72
5,0	0,088 0,079	0,0835	0,5769	0,6827	-0,007053	5,17	5,22
5,5	0,091 0,087 0,087	0,083	0,4145	0,5720	-0,0105	5,70	5,67

Com exceção do ensaio de pH de valor 4,5, todos os ensaios tiveram suas concentrações finais aumentadas, isso é explicado pelo fato do bagaço de cana em sua forma medular estar adsorvendo água. Se o bagaço adsorve água, água é retirada do meio fazendo com que a concentração de proteínas aumente.

Com a finalidade de investigar se o bagaço de cana causaria algum tipo de interferências nas leituras no espectrofotômetro foram realizados ensaios semelhantes como os descritos no item 3.5, com a diferença de que nesses ensaios não foi colocado Whey Protein. A Tabela 6 mostra os resultados obtidos.

Tabela 6 – Resultados de absorbância para os experimentos com a ausência de proteínas.

pH	Absorbância	Absorbância média	pH antes o ensaio	pH após o ensaio
4,0	-0,005 0,006 0,002	0,001	4,15	4,11
4,5	-0,001 0 0,009	0,002667	4,72	4,72
5,0	-0,026 -0,003 0,003	-0,00867	5,17	5,22
5,5	-0,005 0 0,001	-0,00133	5,70	5,67

Com os resultados desses ensaios pode se concluir que o bagaço de cana não oferece interferência quando as medidas no espectrofotômetro são realizadas, isso é evidenciado pelo fato dos valores de absorbância serem baixos.

Por fim, foram realizados testes semelhantes ao descrito no item 3.5 com a diferença de que nesses testes não foi colocado bagaço de cana. O motivo desses experimentos é de conhecer os valores de concentração iniciais, os resultados são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados para os experimentos com a ausência de bagaço.

pH	Absorbância	Absorbância média
4,0	0,041 0,058	0,033
4,5	0,064 0,076 0,076	0,072
5,0	0,065 0,074 0,072	0,070333
5,5	0,068 0,061 0,055	0,061333

A partir da Tabela 7 é possível concluir que pelo fato das curvas de calibração apresentarem grande variabilidade as leituras de absorbância levam a valores de concentração inicial diferentes do que seria esperado. Por exemplo, no pH de 4,0 o valor de absorbância médio de 0,038 leva a uma concentração inicial de 0,2193 mg/mL, valor esse bem distante dos 0,4167 mg/mL esperado.

4.3 – Ensaios de Adsorção – Parte fibrosa da cana-de-açúcar

Nesse experimento foi utilizado 10 mg de Whey Protein solubilizados em 20 mL de solução tampão de ácido cítrico com citrato de sódio misturados com 300 mg de bagaço de cana triturado. Os resultados para esses ensaios são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultados experimentais para os ensaios utilizando a fibra do bagaço de cana.

pH	Absorbância	Absorbância média	Concentração inicial (mg/mL)	Concentração final (mg/mL)	Quantidade adsorvida
4	0,059 0,053 0,057	0,05633	0,4083	0,4327	-0,001627
4,5	0,064 0,035 0,036	0,0355	0,4042	0,2411	0,01087
5	0,064 0,038 0,066	0,065	0,425	0,5342	-0,00728
5,5	0,04 0,038 0,043	0,04033	0,4208	0,2618	0,0106

Pode-se observar que o para a fibra de cana houve menor quantidade de água adsorvida quando comparado com os experimentos utilizando a parte medular da cana, isso é evidenciado pelos valores de quantidade adsorvida serem em sua maior parte positivos.

4.4 Análises termogravimétricas (ATG)

4.4.1 Bagaço de cana

A Figura 11 apresenta os resultados obtidos para a análise termogravimétrica realizada para os dois tipos de bagaço utilizados: medula e fibra. Observa-se que os resultados estão de acordo com trabalhos de analise termogravimétrica de materiais lignocelulósicos (Ergüdenler *et. al.* 1994 e Ghetti *et al*, 1996), que sugerem que a perda de massa destes materiais ocorre em 3 faixas principais de temperatura. A primeira fixa até 100ºC está associada à evaporação de água, enquanto que a segunda (de 250 a 350ºC) e terceira (de 350 a 500ºC) estão associadas à combustão de celulose/hemicelulose e lignina, respectivamente.

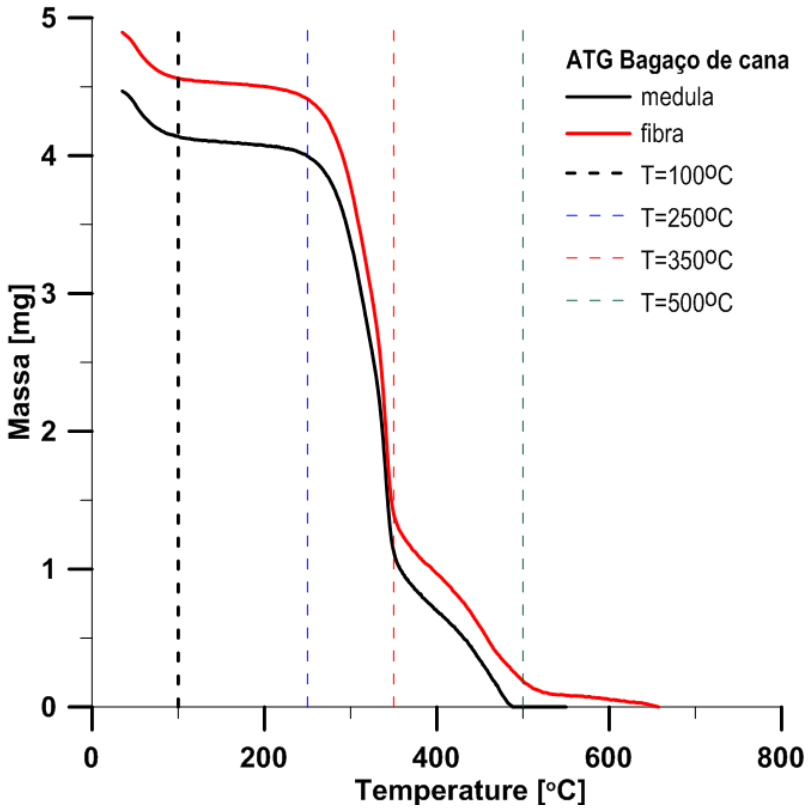

Figura 11: Curva gerada pela análise ATG do bagaço medular e fibroso.

A Tabela 9 apresenta a perda de massa percentual do bagaço nestas faixas. Observa-se que o teor de umidade nas duas amostras é bem próximo (~8%) enquanto que existe uma diferença de cerca de 4% nas duas últimas regiões, indicando que o bagaço na forma de medula é mais rico em celulose e hemicelulose, enquanto que o bagaço na forma de fibras contém mais lignina.

Tabela 9 – Decaimento de massa dos materiais estudados no ATG.

		Temperatura (ºC)				
		>100	250 - 350	350 - 500	500 - 610	<610
Materiais	Medula	7,6981	63,9482	25,121	-	-
	Fibra	7,5271	61,0602	28,3805	-	-
	Whey Protein	7,2888	31,1507	35,6531	19,5659	3,75973
	Medula após adosrção	5,1967	44,1605	10,0385	2,5531	20,2044
	Fibra após adsorçao	7,5108	44,4359	10,8381	2,2794	17,3074

4.4.2 – Whey Protein

A Figura 12 apresenta o resultado da análise termogravimétrica do Whey Protein.

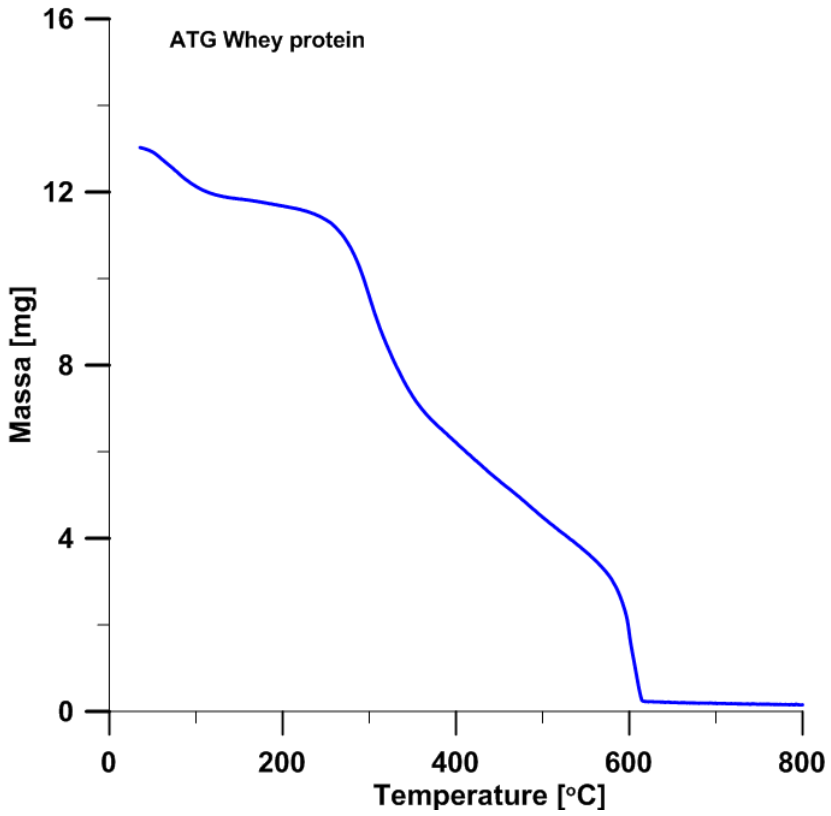

Figura 12: Curva gerada pela análise ATG do Whey Protein.

Como pode ser observado o Whey Protein apresenta 4 principais regiões de perda de massa. A primeira associada a evaporação de água (~100ºC), seguida de uma perda acentuada entre 250 e 350ºC, depois uma redução da inclinação na faixa de 350 a 590ºC,

e por última uma perda acentuada até 610ºC. Os valores percentuais são apresentados na Tabela 9.

4.4.3 ATG do bagaço após ensaio de adsorção

Os resultados das análises termogravimétricas (ATG) realizadas no bagaço de cana sobre a região medular e fibrosa, após ensaios de adsorção, realizados no pH de 4,5 com concentração inicial de proteína de 0,41 mg/mL, são apresentados nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

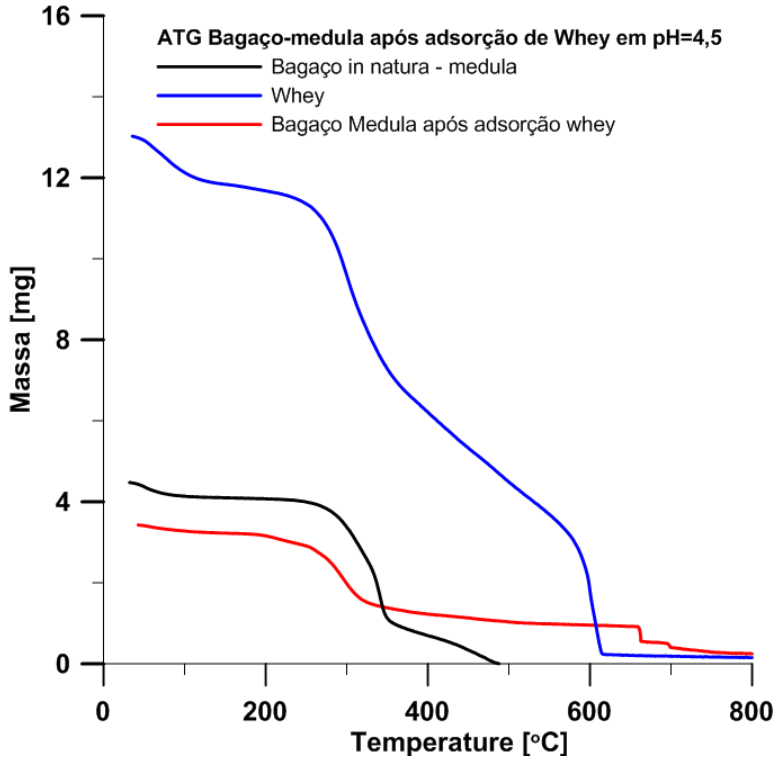

Figura 13: Curva gerada pela análise ATG dos ensaios de adsorção utilizando a região medular do bagaço.

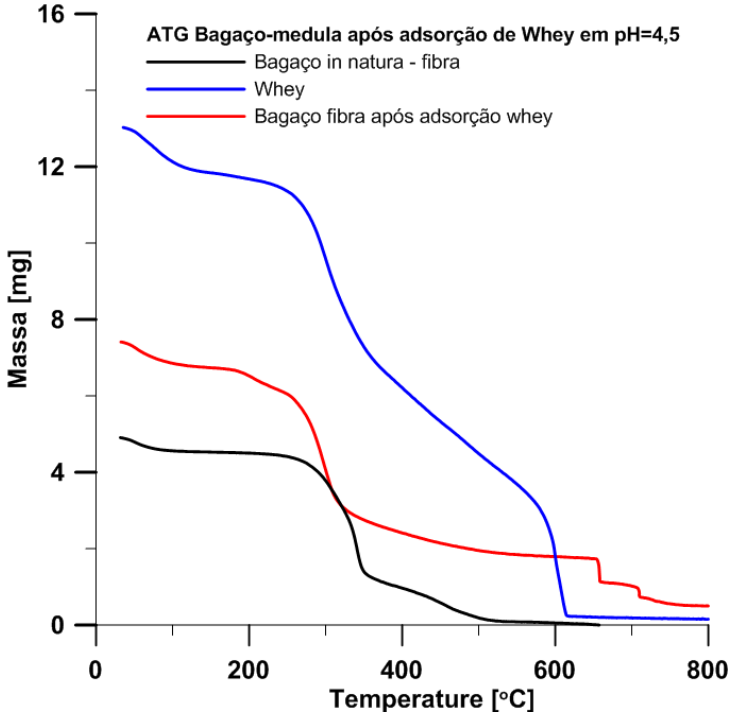

Figura 14: Curva gerada pela análise ATG dos ensaios de adsorção utilizando a região fibrosa do bagaço.

Observa-se nas Figuras 13 e 14, que houve uma significativa mudança no perfil de perda de massa do bagaço após a adsorção, indicando que houve de fato a adsorção durante o ensaio. Observa-se também que parte do bagaço de cana após adsorção só sofre combustão em temperatura superior a 600ºC, indicando que provavelmente as interações entre os sítios ativos do bagaço e da proteína são bastante fortes. Os resultados de perda de massa percentual nas diferentes faixas de temperatura são apresentados na Tabela 9.

4.5 – FTIR

4.5.1 – Bagaço de cana: Fibra e medula *in natura*.

Na Figura 15 podem ser observadas os picos característicos que identificam à celulose, hemicelulose e lignina. A Tabela 10 apresenta os picos característicos de cada fração, conforme Rodrigues (2012).

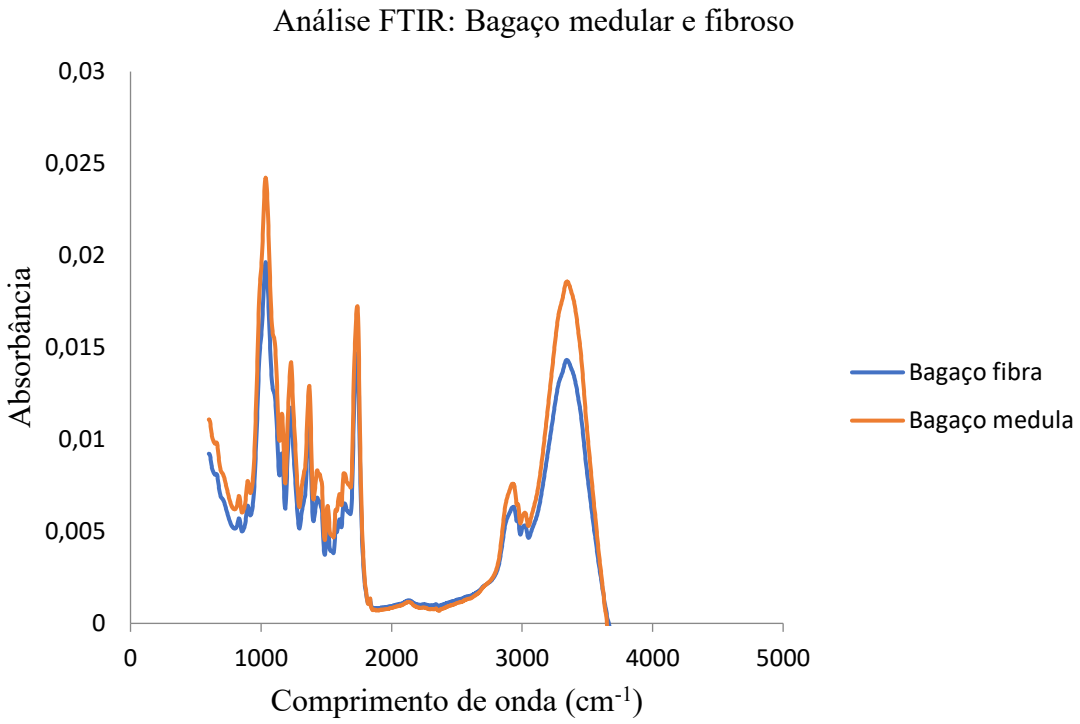

Figura 15: Curva gerada pela análise FTIR do bagaço medular e fibroso.

Tabela 10 – Relação entre banda e a característica do material. Adaptado de Rodrigues, 2012.

Banda (cm^{-1})	Fração característica do bagaço
890 – 1000	Celulose
1000 – 1200	Celulose e hemicelulose
1240 – 1250	Hemicelulose e lignina
1300 – 1430	Celulose Hemicelulose e Lignina
1500 – 1610	Lignina
1735	Hemicelulose
2850 – 2920	Celulose
3360 – 3400	Celulose cristalina

4.5.2 – Whey Protein

A Figura 16 apresenta o resultado da análise FTIR para o Whey Protein, segundo Kong e Yu (2007), as proteínas apresentam nove bandas características, as quais são apresentadas na Tabela 11. Podemos observar na Figura a presença da amida III em 1229 cm^{-1}, a amida II em 1546 cm^{-1}, amida I em 1742 cm^{-1}, amida A em 3292 cm^{-1} e amida B, em baixa intensidade, em 3100 cm^{-1}. Foram também observados um primeiro pico em 2932 cm^{-1} de grande intensidade e um segundo em 2896 cm^{-1} de baixa intensidade. O

pico de baixa intensidade é relativo ao alongamento CH e o pico de grande intensidade é relativa à lactose, DATABASE OF ATR – FT – IR Spectra of various materials material (http://lisa.chem.ut.ee/IR_spectra/paint/binders/lactose/). A Tabela 11 indica a relação entre bandas, frequências e as descrições de causa.

Tabela 11 – Relação entre banda, frequência e descrição.

Banda	Frequência (cm^{-1})	Descrição
Amida A	3300	Alongamento NH
Amida B	3100	Alongamento NH
Amida I	1600 – 1690	Alongamento C=O
Amida II	1480 -1577	Alongamento CN Flexão NH
Amida III	1229 - 1301	Alongamento CN Flexão NH
Amida IV	625 – 767	Flexão OCN
Amida V	640 - 800	Flexão NH fora do plano
Amida VI	537 – 606	Flexão C=O fora do plano
Amida VII	200	Torção da estrutura

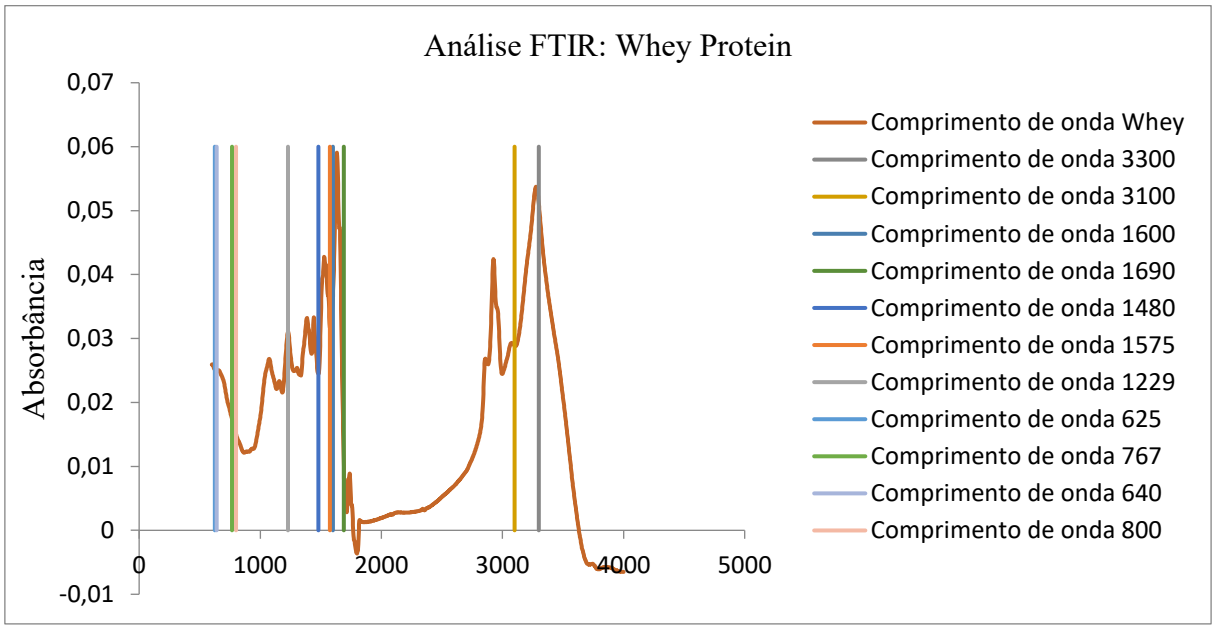

Figura 16: Curva gerada pela análise FTIR do Whey Protein.

A Figura 17 mostra a comparação entre o perfil gerado pelo FTIR do Whey Protein com o perfil FTIR da proteína pura β-Lactoglobulina. Como podemos observar, o perfil das duas é bastante semelhante, nos levando a concluir que o Whey Protein possui quantidade considerável dessa proteína em sua composição.

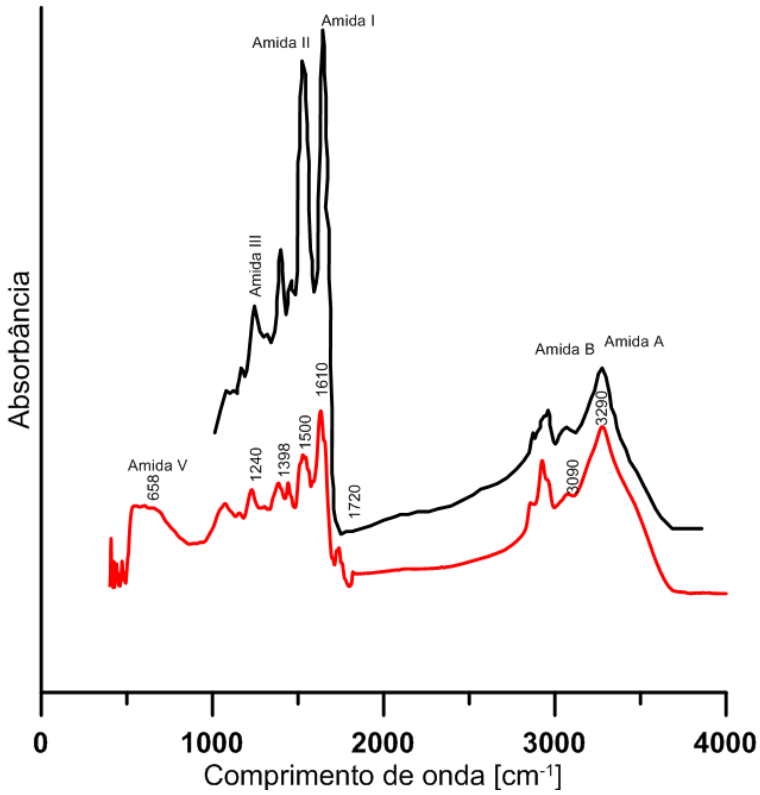

Figura 17. Comparação do perfil FTIR do Whey Protein e da proteína β-Lactoglobulina. Adaptado de Rafe *et. al.* 2015.

4.5.3 – Região medular do bagaço após os ensaios de adsorção

Observando a Figura 18 é possível observar que houve um aumento significativo nas bandas referentes às amidas II, I e A (observadas em 1950, 1700 e 3380 cm^{-1}) indicando que houve adsorção de proteínas presentes no Whey.

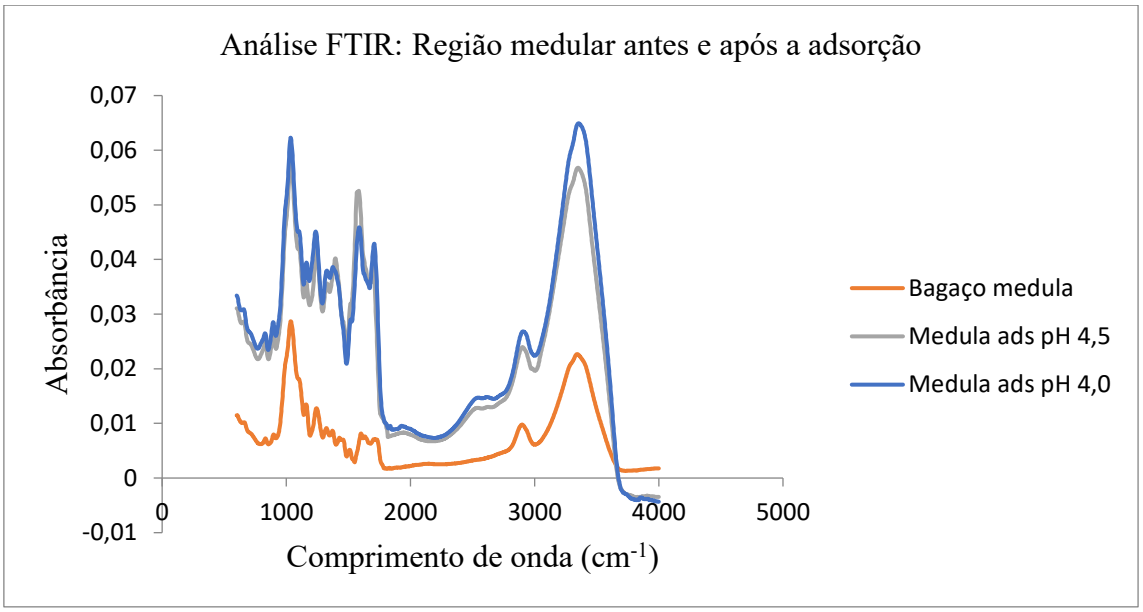

Figura 18: Curva gerada pela análise FTIR do bagaço medular antes e após os ensaios de adsorção para dois valores de pH diferentes.

4.5.4 – Região fibrosa do bagaço após os ensaios de adsorção

A Figura 19 apresenta os resultados da análise de FTIR do bagaço de cana *in natura*, antes e após os ensaios de adsorção nos pH de 4,5 e 5,5. Assim, como observado para o bagaço em sua forma medular, podemos constatar um aumento acentuado nas frequências relativas às amidas I, II e A no bagaço após a adsorção de Whey em ambos os pHs. Comparando os espectros do bagaço após a adsorção nos pHs 4,5 e 5,5 observamos que as intensidades das amidas I e II no pH 5,5 são superiores aos do pH 4,5. Este resultado está em concordância com as análises de concentração que indicaram que adsorção do whey foi maior no pH 5,5 (Tabela 8).

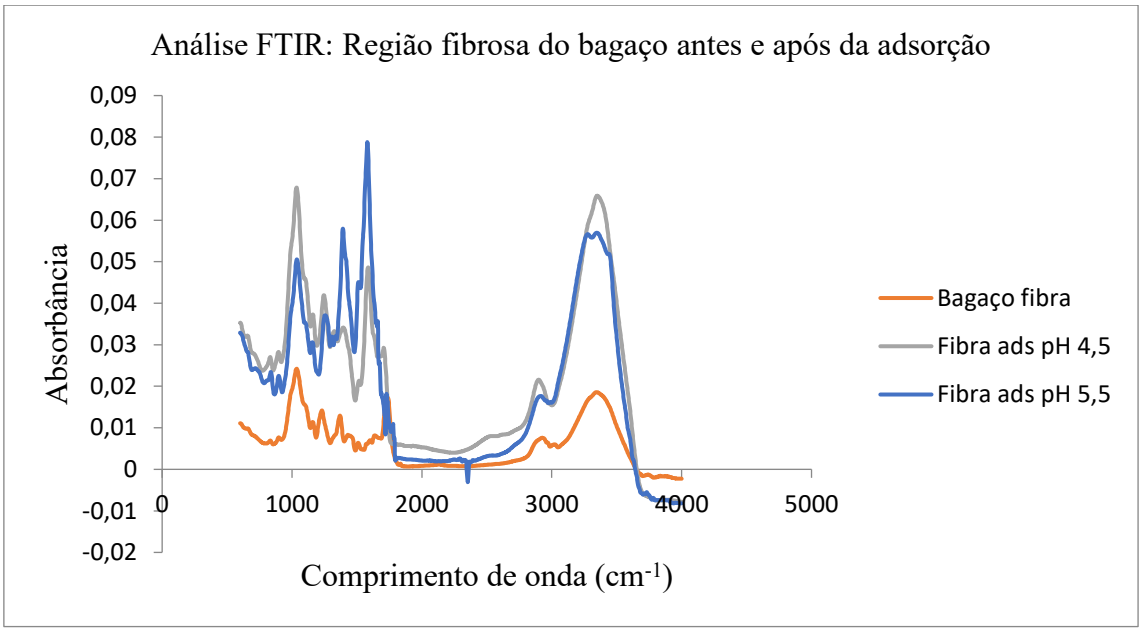

Figura 19: Curva gerada pela análise FTIR do bagaço fibroso in natura, antes e após a adsorção.

4.5.5 – Região fibrosa, medular antes e após a adsorção e Whey Protein

A Figura 20 mostra os ensaios de adsorção utilizando a região medular e fibrosa antes e após a adsorção para o pH de 4,5. A Figura também mostra o perfil do Whey Protein.

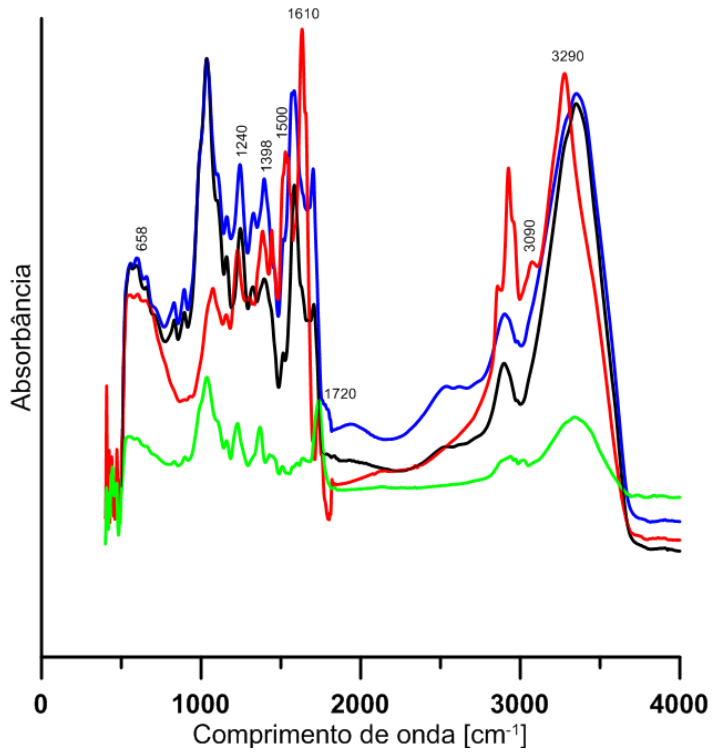

Figura 20. Perfil gerado pelas análises FTIR dos matérias de estudo.

Podemos aferir a partir da Figura 19 que de fato houve adsorção, isso é evidenciado pelo fato de que os picos referentes às amidas das proteínas do Whey Protein se mostram presentes nos perfis FTIR do bagaço (tanto medular quanto fibroso) após a adsorção.

CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados podemos concluir que a técnica de medir a adsorção por diferença de concentração apresenta grande incerteza. Este fato está associado à adsorção de água pelo adsorvente à variabilidade da medida de absorbância como discutido e devido a uma pobre confiabilidade na curva de calibração. Também foi possível observar que o pH da solução tem grande influência sobre a conformação das proteínas e consequentemente sobre sua adsorção. As técnicas de FTIR e ATG indicam que o bagaço de cana é capaz de adsorver proteínas presentes no Whey Protein em pHs entre 4 e 5,5. No entanto, maiores estudos são necessários para quantificar a adsorção de modo mais efetivo.

CAPÍTULO 6 – SUGESTÕES PARA TRABLAHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros, pode ser sugerido o seguinte:

- Estudar o comportamento da operação de adsorção utilizando um outro tampão;
- Determinar a quantidade de água adsorvida pelo bagaço de cana;
- Estudar o efeito da força iônica na operação de adsorção;
- Determinar a quantidade adsorvida pelo poder calorífico, pela análise elementar;
- Determinar isotermas de adsorção;
- Determinar as quantidades adsorvidas levando em consideração que o volume da operação de adsorção muda.

ANEXO 1 – PROSTAR 100% WHEY PROTEIN

O Whey Protein utilizado nesse trabalho como adsorvato é produzido pela Ultimate Nutrition 21 Hyde Road Farmington, CT 06034. Esse produto foi importado por ImportSports.

Ingredientes: Proteínas do soro do leite micro e ultrafiltrada (isolada e concentrada), estabilizante lecitina de soja, aromas naturais chocolate e baunilha, edulcorantes artificiais acessulfame K e sucralose.

Informações nutricionais como segue:

Porção: 30g (1 colher medida)

	Quantidade por porção	% VD *
Valor Energético	120kcal	10%
Caboidratos	2g	1%
Proteínas	25g	50%
Gorduras Totais	1g	2%
Gorduras Saturadas	0,5g	3%
Gorduras Trans	0g	-
Fibras Alimentares	0g	0%
Sódio	30mg	1%

* Valores Diários de Referência com base em uma dieta de 2000 calorias ou 8400kj. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de sua necessidades energéticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES FILHO, M A nata do soro: proteína retirada de subproduto do leite reforça defesa do organismo. *Jornal Unicamp,* Campinas, 2002. Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/outubro2002/unihoje_ju194pag02.html.

ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A., ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas. *Ciência e tecnologia de alimentos*, v.21, p. 187-192,2001.

ANDRADE J. D., HLADY V, WEI A. P. Adsorption of complex proteins at interfaces. Pure *Appl Chem*; 64:1777,1992.

ANTUNES, A. J. Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino. São Paulo: Ed; Manole, 2003.

BOBBIO, F. O. Introdução à química de alimentos. 2. Ed. Livraria: Varela, 1989.

BORGES, I.; GONÇALVES, L. C.; MORAIS, M. G. ZEOULA, L. M.; FRANCO, G. L. Influência da dieta sobre o desaparecimento in situ da matéria seca, da matéria orgânica e da fibra em detergente neutro do bagaço de cana-de-açúcar auto hidrolisado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.2, n. 53, 2000. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352000000300012

BRADFORD, M. M. A rapid and Sensitive Method for a Quantitation of Microgram Quantities of Proteins Utilizing the Principle of Protein – Dye Binding. Analytical Biochemistry, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRANDÃO, P. C. A avaliação do uso do bagaço de cana como adsorvente para a remoção de contaminantes, derivados do petróleo, de efluentes. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, UFU, Uberlândia – MG, 2006.

BRITO, M. J. P.; VELOSO, C. M.; BONOMO, R. C. F.; MONTEIRO, K. A.; SILVA, T.B. Síntese de carvões ativados a partir do caroço do cajá e sua aplicação na adsorção da β-lactoglobulina. *XXXVII ENEMP*, outubro 2015.

CARVALHO, M. C.; FERREIRA, M. A.; CAVALCANTI, C. V. A.; LIMA, L. E.; SILVA, F. M.; MIRANDA, K. F.; VÉRAS, A. S. C; MARCILIO DE AZEVEDO, M.; VIEIRA, C. F. Associação do bagaço de cana-de-açúcar, palma forrageira e ureia com diferentes suplementos em dietas para novilhas da raça holandesa. *Acta Science. Animal Science*, v. 27, n. 2, p. 247-252, 2005.

CETINKAYA, S.; AKKAYA, B. Adsorção seletiva e de um único passo de alfa lactoalbumina de leite de vaca integral em microbissas de hidroxiapatita. *Ciência e Engenharia de Materiais: C*, v. 68, p. 573-678, 2016.

CHEFTEL, J. C.; LORIENT, D. Les proprietés fonctionelles des proteínes laitières et leur améloration. *Le lait* 62, 1982.

DATABASE OF ATR – FT-IR SPECTRA OF VARIOUS MATERIALS. ATR – FT-IR Espectrum of Lactose. Disponível em http://lisa.chem.ut.ee/IR_spectra/paint/binders/lactose Acessado em 19/01/2019.

DI BERNARDO, L.; CENTURIONE FILHO, P. L. Ensaio de Tratabilidade de Água e dos Resíduos Gerados em Estações de Tratamento de Água. *Rima*. São Carlos, p. 237, 2002.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária em Roraima. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/160161/1/Producao-agricola-mundial.pdf. Acessado em 19/01/2019.

ERGÜNDENLER, A.; Ghaly, E., 1994 A comparative study on the termal decomposition of four cereal straws in an oxidizing atmosphere. Bioresource Technology, 50 (3), 201-208.

FERREIRA, A. F. Estudo da Adsorção de Proteínas do Soro do Leite em Bagaço de Cana-de-Açúcar. Tese de mestrado em engenharia química, Universidade Federal de Uberlândia, 2018

FERREIRA, R. C. Separação de alfa lactoalbumina e beta lactoglobulina de proteínas de soro de queijo por adsorção em colunas de leito fixo. Tese de mestrado em ciência e tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2001.

FONTENELLE, M. N. Tratamento de efluentes líquidos da indústria de laticínios de Minas Gerais. Monografia da especialização em engenharia sanitária e meio ambiente. UFMG. Minas Gerais, 2006. Disponível em https://pt.scribd.com/doc/22464380/Tratamentos-de-Efluentes-Liquidos-da-Industria-de-Laticinios

FONSECA, L. C.; CORRÊA N. C. R.; GARROTE M. S. Efeitos da composição do solvente sobre a estabilidade de proteínas em soluções aquosas. Química Nova, Vol. 29 No. 3, 543 – 548, 2006.

GHETTI, P. Ricca, L.; Angelini, L.,1996. Thermal analysis of biomass and corresponding pyrolysis products. Fuel, 75(5), 565-573.

GILES, C. H.; T. H, MACEWAN, S. N.NAIKHWA, AND D. SMITH. Studies in adsorption. XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, etc. *J. Chem*. Soc., p. 3973-3993, 1960.

GOMIDE, R. Operações Unitárias 1º volume: Operações com sistemas sólidos granulares. São Paulo, 1983.

GONZÁLEZ SISO, M. I. The Biothechnological Utilization of Cheese Whey: A Review. *Bioresource Technology*, v 57, p. 1-11, 1996.

GORGULHO et al. Adsorção de fenol sobre carvão ativado em meio alcalino. *Química Nova*, v. 29, n.6, 1226-1232, 2006.

GUELF, L. R.; SCHEER, A. P. Estudo de Adsorção Para Purificação e Separação de Misturas na Indústria Petrolífera. Curitiba, 2007.

GUIOCHON, G.; SHIRAZI, S. G.; KATTI, A. M. Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography, London, England: *Academic Press*, 1 ed., p. 697, 1994.

HAGHSERESHT, F.K.; NOURI, S.; FINNERTY, J.J.; LU, G. Q. Effects of surface chemistry on aromatic compound adsorption from dilute aqueous solutions by activated carbon. *Journal of Physical Chemistry*, v. 106, n. 42, p. 10935 – 10943, 2002.

HARAGUCHI F. K.; ABREU W. C.; PAULA H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Revista Brasileira da Nutrição,* 19(4):479-488, jul./ago., Campinas 2006.

HOSSEINI, M.; SHOJAOSADATI, S. A.; TOWFIGHI, J. Application of a bubble-column reactor for the production of a single-cell protein from cheese whey. *Chemical Engineering Research*, v.42, p. 764-766, 2003.

IPEA – INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA. Diagnóstico dos resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroíndustrias Associadas. Relatório de Pesquisa. Brasília, 2012. Disponível em http://www.ipea.gov.br/agencia/images/stories/PDFs/relatoriopesquisa/120917_relatorio_residuos_organicos.pdf. Acessado em 18/01/2019.

KINEKAWA, Y. I. AND KITABATAKE, N. Purification of B-lactoglobulin from wheyprotein concentrate by pepsin treatment. *J. Dairy Sci,*. V. 79, pp. 350-356, 1996. Disponível em https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030296763713?via%3Dihub.

KONG, J. AND YU, S. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta Biochimica et biophysica sinica,* Vol. 39, Issue 8,1 p. 549 – 559, 2007.

KRISSANSEN, G. W. Emerging health properties of whey proteins and thei clinical implications. *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 26, No. 6, 713-723, 2007.

LEHNINGER, A. L. Princípios de Bioquímica. *Editora SAVIER.* São Paulo, 1989.

LEVAN, M.D; CARTA, G.; YON, C. M. Adsorpiton and Ion Exchange. In: GREEN, D. W.; PERRY, R.H. *Perry's Chemical Engineer's Hand book.* 8th Edition. McGraw-hill, 2008.

MODLER, H. W. Milk processing. NAKAI, S.; MODLER, W.(Eds.). *Food proteins:processing applications. Wiley-VCH,* Inc., p. 1-21, 2000.

MOHAN, T.; NIEGELHELL, K.; SALOMÃO, C.; ZARTH, P.; KARGL, R.; KÖSTLER, R.; RIBITSCH, V.; HEINZE, T.; SPRIK, S. AND STANKA-KLEINSCHEK, K. Triggering Protein Adsorption on Tailored Cationic Cellulose Surfaces. *Biomacromolecules*, 2014.

MONTEIRO, M. S. Mesocarpo de coco verde (*Coco nucifera*) e pó de serragem da tajuba (*Bagassa guianensis aubl*) Como adsorvente em meio aquoso, Dissertação de Mestrado-Universidade Federal do Maranhão, 2010.

MOR-ROSENBERG, Y.; SCHOEMAKER, C. F.; ROSENBERG M. Mechanical Properties of composite gels consisting of fractioned whey proteins and fractioned milk fat. *Food hydrocolloids*, v. 18, p. 153-166, 2004.

MOSQUIM, M. C. A. C.; FURTADO, M. M.; MONTEIRO, R. R.; MAGALHÃES, G.; Development of soft drinks, *Revista do Instituto de Laticínio "Candido Tostes"*, v. 54, p. 164-175, 1999.

MULVIHILL, D. M. Funcional Milk Protein Products. *Biochemistry of milk products,* Andrews A. T. e Varley, J.; 1994.

NOVA CANA. *A cana de açúcar como fonte de energia.* Disponível em https://www.novacana.com/estudos/a-cana-de-acucar-como-fonte-de-energia-eletrica-241013/.

OLIVEIRA, F. M. Resíduos agroindustriais como adsorventes para a remoção de azul de metileno em mio aquoso. Dissertação (Mestrado em química), Universidade Federal de Goiás, 2016.

PRAUSNITZ, J. M.; LICHTENTHALER, R. N.; AZEVEDO, E. G. Molecular Thermodynamics of Fluid-phase Equilibria. *Prentice-Hall inc*, New Jersey, 1986.

POMPEU, D. R.; MOURA, F. G.; SILVA, E. M.; ROGEZ, H. Equilibria, kinetics, and mechanisms for the adsorption of four classes of phenolic compounds onto synthetic resins. *Separation Science and Technology*, v. 45, p. 700-709, 2010.

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

RAFE A.; RAZAVI S.M.A. Effect of thermal treatment on chemical structure of B-Lactoglobulin and Basil seed gum mixture at different states by ATR-FTIR spectroscopy, *International Journal of Food Properties*, v.18 p. 2652 – 2664, 2015.

RENHE, I. R. T.O papel do leite na nutrição. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes,* nº363, 63: 36-43, 2008.

RODRIGUES, L. R. M.; Valorização da fração proteica do soro de queijo. Dissertação (Mestrado em biologia), Faculdade de Engenharia biológica, Universadade do Minho de São Paulo, 2001.

ROUQUEROL, J; ROUQUEROL, F.; SING K. Adsorption by Powders and Porous Solids. Principles, Methodology and Applications. *Academic Press*, 1999.

ROUVIENEN, J.; RAUTIAINEN, J.; VIRTANEN, T.; ZEILER, T.; KAUPINEN, J.; TAIVAINEN, A.; MÄNTYJÄRVI, R. Probing the molecular basis of allergy. Three-dimensional structure of the bovine lipocalin allergen Bos d2. *The j. Biological Chem.,* v.274, p. 2.337-2.343, 1999.

RUBIO, J; RIBEIRO, T. H.; SMITH, R. W. A Dried Hydrophobic Aquaphyte as na Oil Filter for Oil/Water Emulsions. *Spill Science & Technology Bulletin*, v. 8, p 483-489, 2003.

RUTHVEN, D.M. Principles of Adsorption and Adsorption Process. 1ª. Ed. [S.1.]: John Wiley & Sons, 1984.

SANTOS F. A.; QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; REZENDEM S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol.

Quim. Nova., v. XY, p. 1-7, 2012. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000500025

SCHNEIDER, E. L. Adsorçao de compostos fenólicos sobre carvão ativado. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, 2008.

SÉLO, I; CLÉMENT, G.; BERNARD, H.; CHATEL, J-M.; CRÉMINON, C.; PELTRE, G.; WAL, J-M. Allergy to bovine beta lactoglobulin: specificity of human IgE to tryptic peptides. *Clin. Exp. Allergy,* 29: 1.055-1.063, 1999.

SGARBIERI, V.C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. *Braz. J. Food Techonol.,* v. 8 n.1 p. 43-56, 2005.

SILVA, A. T.; VAN DENDER, A. G. F. Importance of reduced fat dairy products and strategies of developing and optimizing sensory quality. *Dairy Journal Bimonthly The "Cândido Tostes" Dairy Institute*, v. 60, p. 3-12, 2005.

SOTO, M.L.; MOURE, A; DOMÍNGUEZ. H; PARAJÓ, J.C. Recovery of concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. *Journal of Food Engineer,* v. 105, p. 1-27, 2011.

STINGUEL, L. Implementação de um modelo de adsorção no software EMSO para separação da mistura etanol-água. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Unicamp, 2015.

SWAMINATHAN, K.; AYYAPPAN, R.; CARMALIM SOPHIA, A.; SANDHYA, S. Removal of Pb (II) from Aqueous Solution Using Carbon Derived from Agricultural Wastes. *Process Biochemistry*, v.40 p. 1293-1299, 2005.

WONG, D. W. S.; CARMIRAND, W. M.; PAVLAT, A. E. Structures and functionalities of milk proteins. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.,* v. 36(8), p. 807-844, 1996. Disponível em https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408399609527751?journalCode=bfsn20