

## ADSORÇÃO DE ALFA-LACTALBUMINA DO SORO DE LEITE EM HIDROXIAPATITA: EFEITO DO pH E DA TEMPERATURA E ANÁLISE TERMODINÂMICA

Rita de Cássia Superbi de Sousa<sup>a,\*</sup>, Jane Sélia dos Reis Coimbra<sup>b</sup>, Liliana de Luca Xavier Augusto<sup>a</sup> e Leomir Samuel Tormen Reis<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa – MG, Brasil

<sup>b</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa – MG, Brasil

Recebido em 25/07/2013; aceito em 21/02/2014; publicado na web em 05/06/2014

ADSORPTION OF ALPHA-LACTALBUMIN FROM MILK WHEY ON HYDROXYAPATITE: EFFECT OF pH AND TEMPERATURE AND THERMODYNAMIC ANALYSIS. The nutritional and functional benefits offered by whey protein  $\alpha$ -lactalbumin justify the great interest in its manufacture in large quantities at a high purity level. Hydroxyapatite is a calcium phosphate material able to adsorb proteins and can be synthesized at low production cost. Therefore, this work evaluated the adsorption of  $\alpha$ -lactalbumin on hydroxyapatite using solid-liquid phase equilibrium data reported as adsorption isotherms. Van't Hoff's thermodynamics analysis showed that the adsorption process is entropically driven.

Keywords: bioseparation; Gibbs free energy; Langmuir model.

### INTRODUÇÃO

O soro de leite é o co-produto mais abundante da indústria de laticínios. É rico em proteínas que apresentam diferentes propriedades de interesse acadêmico e industrial, quer em termos de funcionalidade tecnológica ou de funcionalidade biológico. De fato, uma das proteínas presentes no soro, a  $\alpha$ -lactalbumina ( $\alpha$ -la), pode ser manipulada tanto como um aditivo alimentar quanto como um nutracêutico.

A  $\alpha$ -la é um polipeptídeo de cadeia simples, com 123 resíduos de aminoácidos, dos quais 67 são aminoácidos essenciais. Apresenta uma sequência de aminoácidos homóloga à da lisozima. A  $\alpha$ -la é estabilizada por quatro ligações de dissulfeto. Não possui um grupo tiol livre (que poderia servir como o ponto de partida para uma reação de agregação covalente) e assim não forma gel após a desnaturação e acidificação. Exibe a capacidade de ligar íons cálcio e outros metais como o zinco. A molécula nativa apresenta os domínios  $\alpha$ -helicoidal e o de folhas  $\beta$ .<sup>1,2</sup>

De acordo com Eigel *et al.*,<sup>3</sup> a  $\alpha$ -la existe em duas formas genéticas (A e B) que diferem pelo resíduo na décima posição, onde na variante A tem-se a glutamina (Gln) que é substituída por arginina (Arg) na variante B. E, segundo Fox,<sup>4</sup> existe uma forma adicional (C). A  $\alpha$ -la é uma proteína globular pequena de massa molar 14.178 Da. O ponto isoelétrico se situa entre 4,2 e 4,5. A  $\alpha$ -la representa cerca de 20% das proteínas totais do soro e aproximadamente 3,5% das proteínas totais do leite.

Devido ao seu conteúdo em aminoácidos essenciais, as indústrias de alimentos, de suplementos alimentares e de nutrição esportiva buscam incorporá-la em produtos com funcionalidades diferenciadas. O uso da  $\alpha$ -la como um aditivo alimentício deve-se à sua habilidade para conferir ou alterar propriedades técnico-funcionais em alimentos, relativas à solubilidade e à capacidade para formar emulsões e espumas. Já na área biológica o emprego da  $\alpha$ -la está relacionado ao desenvolvimento de formulações tanto para a nutrição clínica, em função do seu elevado teor em triptofano, quanto para a prevenção de enfermidades devido à presença de peptídeos bioativos em sua estrutura. A literatura indica que os peptídeos da  $\alpha$ -la podem exibir atividades bactericida, antitumoral e antihipertensiva.<sup>5-7</sup>

Adicionalmente, a  $\alpha$ -la bovina tem uma elevada similaridade com a  $\alpha$ -la humana<sup>5</sup> o que faz dela um componente chave para o preparo de formulações para recém-nascidos no período neonatal, prematuros e para a terapia nutricional em infantes. Eugene e Berliner<sup>7</sup> indicam que a  $\alpha$ -la humana, em condições específicas de pH e na presença de ácido oleico, polimeriza-se e adquire a propriedade de apoptose (capaz de destruir células cancerígenas de várias linhagens e células jovens não diferenciadas), não tendo nenhuma ação sobre células adultas normais. No entanto, para a produção em larga escala da  $\alpha$ -la é necessário buscar técnicas de baixo custo para separar e purificar as frações do soro ricas em  $\alpha$ -la e disponibilizar os respectivos dados científicos.<sup>8</sup>

Dentro deste contexto, enfatiza-se o emprego das operações de adsorção em diversos processos industriais, incluindo o fracionamento de misturas complexas de proteínas. Para as soluções diluídas de proteínas, como é o caso do soro bovino, grandes volumes de líquido que devem ser processados para recuperar uma massa fixa de proteína. Operações de adsorção seletiva são mais afetadas pela quantidade e concentração da proteína adsorvida do que pelo volume do líquido processado porque a capacidade do adsorvente é mais afetada pela massa adsorvida do que pelo volume processado. Adsorção seletiva ou processos seletivos incluem a cromatografia por troca iônica, a cromatografia de afinidade e uma classe mais geral referida apenas como cromatografia de adsorção, pois o mecanismo de adsorção não é ainda totalmente compreendido.<sup>9</sup> Exemplos desta última classe incluem o uso de hidroxiapatita, cuja adsorção deve-se às interações hidrofílicas. Portanto, pode-se considerar que o fosfato de cálcio na forma da hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ) é um material que apresenta as características físicas de um adsorvente.<sup>10</sup> A hidroxiapatita é um constituinte mineral utilizado na área de biomedicina para a reparação de ossos e na confecção de implantes dentários devido a sua excelente biocompatibilidade, biodegradação lenta, osteocondutividade e propriedades mecânicas.<sup>11</sup> Em adição, devido a sua afinidade por proteínas, a hidroxiapatita vem sendo empregada como adsorvente seletivo para a separação e a purificação destas biomoléculas.

Portanto, em face da necessidade de dados experimentais para analisar a viabilidade da utilização da hidroxiapatita para a remoção de  $\alpha$ -la do soro de leite, neste trabalho foram obtidas informações sobre o comportamento adsorptivo do referido sistema, por meio de

\*e-mail: rita.sousa@ufv.br

dados de equilíbrio sólido-líquido reportados na forma de isotermas de adsorção e da avaliação dos parâmetros termodinâmicos da operação unitária adsorção.

### Modelagem das isotermas de adsorção

A distribuição do soluto entre a fase fluida e a fase adsorvida envolve um equilíbrio de fases, que é governado pelos princípios da termodinâmica. Dados de equilíbrio são geralmente reportados na forma de isotermas,<sup>12</sup> que são diagramas mostrando a variação da concentração de equilíbrio no sólido adsorvente com a concentração da fase fluida, em uma temperatura específica. A determinação experimental das isotermas é o primeiro passo no estudo de um novo sistema soluto/adsorvente. A informação daí retirada é importante na estimação da quantidade total de adsorvente necessária para um certo processo e conseqüentemente no dimensionamento dos equipamentos a serem utilizados em tal processo adsorvente.<sup>13</sup> Os estudos de equilíbrio fornecem informações fundamentais para determinar a quantidade máxima de soluto adsorvido por massa de adsorvente como também a afinidade do soluto pelo adsorvente.<sup>14</sup>

O modelo da isoterma de Langmuir (Equação 1) tem sido amplamente utilizado para descrever as isotermas de adsorção de proteínas em trocadores iônicos.<sup>9,15,16</sup>

$$q = \frac{q_m \cdot c}{k_d + c} \quad (1)$$

em que  $q$  é a concentração de proteína adsorvida na fase sólida ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $k_d$  é a constante de dissociação ( $\text{kg mL}^{-1}$ ) e  $q_m$  é a capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e  $c$  ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) é a concentração de proteína na fase líquida após o equilíbrio ser alcançado.

O modelo de isoterma de Langmuir apresenta algumas simplificações, tais como: a superfície do sólido contém um número definido de sítios para a adsorção; cada sítio pode adsorver somente uma molécula; todos os sítios são energeticamente equivalentes; as moléculas adsorvidas não interferem na adsorção de sítios vizinhos; no equilíbrio, a taxa de adsorção é igual à taxa de dessorção; a superfície é completamente uniforme do ponto de vista energético; a adsorção máxima corresponde à saturação da monocamada de moléculas de adsorvato na superfície do adsorvente. No entanto, apesar das simplificações, o modelo de Langmuir é utilizado com sucesso para descrever a adsorção de diversas proteínas em vários adsorventes, devido à sua simplicidade.<sup>13,17</sup>

### Termodinâmica do processo adsorvente

Uma avaliação de parâmetros termodinâmicos, tais como variação da entalpia padrão de adsorção, da entropia padrão de adsorção e da energia livre de Gibbs padrão de adsorção, pode ser conduzida empregando uma relação entre a temperatura e o fator de capacidade,  $k'$ , por meio do modelo conhecido como equação de Van't Hoff.<sup>18</sup>

$$\ln k' = -\frac{\Delta H_{\text{ad}}^0}{RT} + \frac{\Delta S_{\text{ad}}^0}{R} + \phi \quad (2)$$

sendo  $k'$  o fator de capacidade,  $\Delta H_{\text{ad}}^0$  e  $\Delta S_{\text{ad}}^0$ , respectivamente, as mudanças de entalpia e entropia padrão de adsorção,  $R$  a constante universal dos gases,  $T$  a temperatura e  $\phi$  uma constante do sistema que depende da razão entre as fases e é constante com a temperatura.<sup>19</sup>

Os valores de  $k'$  são calculados da seguinte relação:

$$k' = \frac{q_m \cdot \phi}{k_d} \quad (3)$$

na qual  $q_m$  e  $k_d$  são parâmetros do modelo de Langmuir.

A curva de  $\ln k'$  versus  $1/T$  fornece, então, uma relação linear da qual a inclinação pode ser usada para determinar o valor de  $\Delta H_{\text{ad}}^0$ . Apesar de simples, entretanto, este método tem uso restrito, pois os valores encontrados são uma média dos valores reais, nas temperaturas de estudo, o que gera pequeno número de informações sobre  $\Delta H_{\text{ad}}^0$  em temperaturas específicas.<sup>18</sup> No entanto, Boysen *et al.*<sup>20</sup> mostraram que quando a entalpia e entropia são dependentes da temperatura, a curva de  $\ln k'$  versus  $1/T$  fornece uma relação não linear que pode ser aproximada por um polinômio de segundo grau de acordo com a expressão:

$$\ln k' = a + \frac{b}{T} + \frac{c}{T^2} + \ln \phi \quad (4)$$

onde  $a$ ,  $b$  e  $c$  são parâmetros empíricos.

Assim, derivando a Equação 2 em relação a  $1/T$ , obtém-se:

$$\left( \frac{\partial \ln k'}{\partial (1/T)} \right) = -\frac{\Delta H_{\text{ad}}^0}{R} \quad (5)$$

e, derivando-se a Equação 4, em relação a  $1/T$ , tem-se:

$$\left( \frac{\partial \ln k'}{\partial (1/T)} \right) = b + 2 \cdot \frac{c}{T} \quad (6)$$

Dessa forma, pode-se igualar as expressões (5) e (6) para fornecer a Equação 7:

$$-\frac{\Delta H_{\text{ad}}^0}{R} = b + 2 \cdot \frac{c}{T} \Rightarrow \Delta H_{\text{ad}}^0 = -R \left( b + 2 \cdot \frac{c}{T} \right) \quad (7)$$

E assim, a partir da Equação 7 pode-se determinar a entalpia padrão de adsorção, em função da temperatura.

Segundo Levine<sup>21</sup> a variação da energia livre de Gibbs padrão ( $\Delta G^0$ ) pode ser determinada pela Equação 8:

$$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln K \quad (8)$$

em que  $K$  é a constante de equilíbrio de uma reação. Para o processo de adsorção, segundo Boysen *et al.*,<sup>20</sup>  $K$  pode ser substituído por  $k'/\phi$ , para se obter  $\Delta G_{\text{ad}}^0$  por meio da Equação 7.

E então, a entropia padrão de adsorção,  $\Delta S_{\text{ad}}^0$ , pode ser calculada pela relação de Gibbs-Helmholtz:

$$\Delta G_{\text{ad}}^0 = \Delta H_{\text{ad}}^0 - T \cdot \Delta S_{\text{ad}}^0 \quad (9)$$

## MATERIAL E MÉTODOS

A hidroxiapatita, tipo I, foi adquirida da Sigma Aldrich. A  $\alpha$ -lactalbumina foi gentilmente cedida pela DAVISCO Food Ingredients International (Eden Prairie, USA).

### Experimentos de adsorção em tanque agitado

Os experimentos de adsorção de  $\alpha$ -la em hidroxiapatita em tanques agitados foram conduzidos em diferentes valores de temperatura (5, 15, 25 e 35 °C) e de pH (4,0; 6,0 e 8,0). Os tampões utilizados foram: *i*) fosfato de sódio monobásico + fosfato de sódio dibásico, em proporções adequadas, para ajustes dos pHs 6,0 e 8,0; *e, ii*) ácido cítrico + fosfato de sódio dibásico para ajuste do pH 4,0. Cada batelada foi conduzida, como descrito por Sousa,<sup>22</sup> em um tubo eppendorf

de 2 mL contendo 50 mg de hidroxiapatita. A todos os tubos foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  de solução tampão do pH de trabalho. Deixou-se os mesmos sob agitação por 12 h, para que fosse garantido o alcance do equilíbrio da resina com o tampão. O ensaio da cinética de adsorção em batelada foi realizado previamente, de maneira análoga à determinação das isotermas diferindo apenas na concentração inicial da amostra (10  $\text{mg L}^{-1}$ ) e no tempo de coleta, que variou de 1 min a 12 h. O ensaio revelou que o equilíbrio dinâmico foi alcançado em 120 min. No entanto, visando uma comparação com os dados da literatura para o comportamento adsorvivo de proteínas do soro de leite em resinas comerciais adotou-se o intervalo de 12 h como forma de garantir tempo suficiente para o sistema atingir o equilíbrio.<sup>23-25</sup>

Após este tempo, foram adicionados aos tubos diversos volumes de solução proteica, preparadas na solução tampão de trabalho, de modo que cada tubo tivesse uma concentração inicial de proteína diferente, resultando em um gradiente de concentração de proteína ao longo dos tubos, totalizando um volume final de 1800  $\mu\text{L}$ . Então, os tubos contendo hidroxiapatita e solução proteica foram deixados sob leve agitação durante aproximadamente 12 h.

Após este período, a fase sólida foi separada da fase fluida por centrifugação a 7000 g por 15 minutos. Uma alíquota do sobrenadante (contendo a proteína não adsorvida) foi retirada de cada um dos tubos para a quantificação da proteína na fase fluida utilizando o método espectrofotométrico da leitura direta de absorbância, a 280 nm (espectrofotômetro Hitachi U-2000, American Laboratory Trading, USA). A concentração de proteína adsorvida por massa de adsorvente ( $q$ ) foi calculada utilizando a Equação 10:

$$q = \frac{(c_0 - c)V}{m} \quad (10)$$

sendo  $c_0$  a concentração inicial de proteína ( $\text{mg mL}^{-1}$ );  $c$  a concentração de proteína na fase fluida ( $\text{mg mL}^{-1}$ );  $V$  o volume da solução (L) e  $m$  a massa de adsorvente (g). O modelo matemático de Langmuir foi ajustado a partir dos dados de equilíbrio obtidos experimentalmente (SigmaPlot 11, SystatSoftware Inc., 2008).

### Análise termodinâmica

Partindo dos dados de equilíbrio de adsorção, obtidos pelo modelo de Langmuir, o método não linear de Van't Hoff foi utilizado para descrever o comportamento adsorvivo da  $\alpha$ -la em hidroxiapatita. Dessa forma, os parâmetros termodinâmicos  $\Delta H_{\text{ad}}^0$ ,  $\Delta S_{\text{ad}}^0$  e  $\Delta G_{\text{ad}}^0$  foram determinados<sup>18</sup> empregando as Equações 7 a 9.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Isotermas de adsorção da $\alpha$ -la em HA

Na Figura 1 estão representadas as isotermas de adsorção de  $\alpha$ -la nos pH 4,0 (a), 6,0 (b) e 8,0 (c).

E na Tabela 1 tem-se os dados de equilíbrio de adsorção de  $\alpha$ -la em hidroxiapatita nas condições de temperatura analisadas: 5, 15, 25 e 35  $^{\circ}\text{C}$ . O modelo de Langmuir, cujos parâmetros são mostrados na Tabela 1, foi ajustado aos dados experimentais. Os coeficientes de determinação foram maiores que 0,90 em todos os casos.

A dependência dos parâmetros  $q_m$  e  $k_d$  em função do pH e da temperatura foi determinada por análise de regressão (Equação 11 e Equação 12, respectivamente). Os resultados mostraram um bom ajuste e todos os parâmetros da equação foram significativos ao nível de 5% de probabilidade. As superfícies de resposta para os parâmetros  $q_m$  e  $k_d$ , do modelo de Langmuir, podem ser observadas nas Figuras 2 e 3.

$$q_m = -644,162 + 238,831pH + 17,288TP - 19,692pH^2 - 0,406TP^2 \quad (11)$$

$$k_d = -19,717 + 10,660pH + 1,698TP - 0,974pH^2 - 0,045TP^2 \quad (12)$$

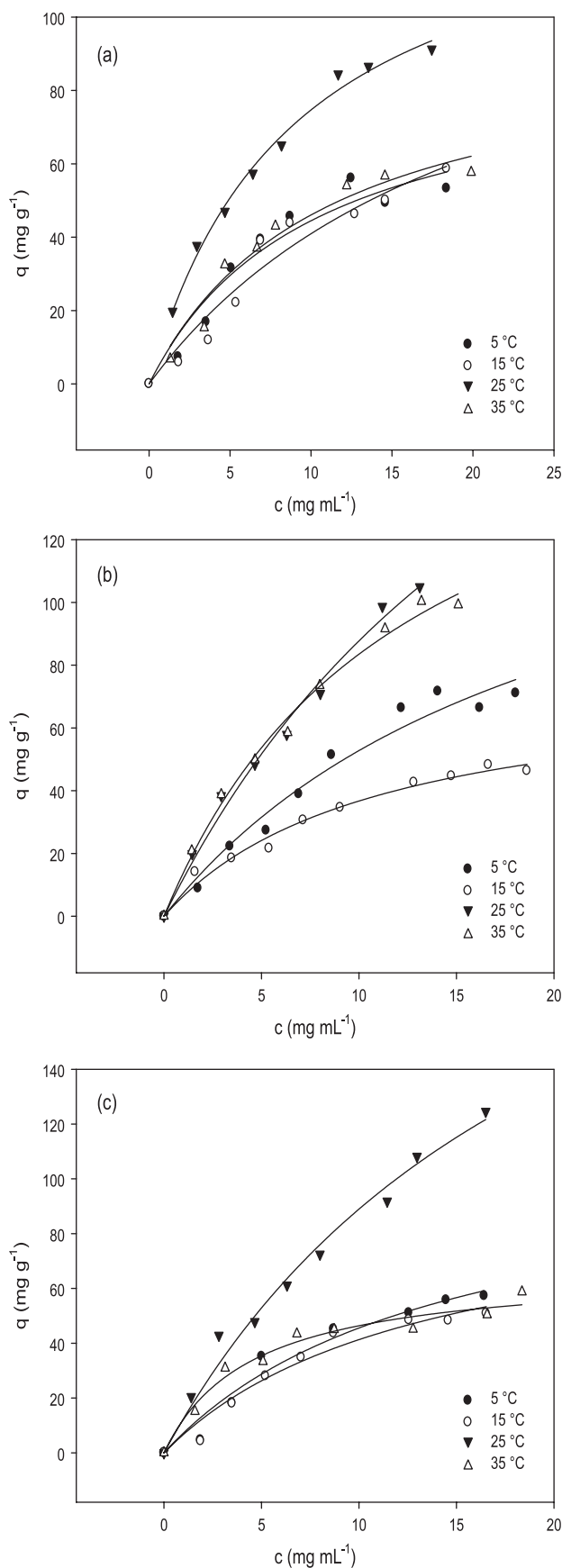


Figura 1. Isotermas de adsorção de  $\alpha$ -la em HA: a) pH 4,0, b) pH 6,0 c) pH 8,0

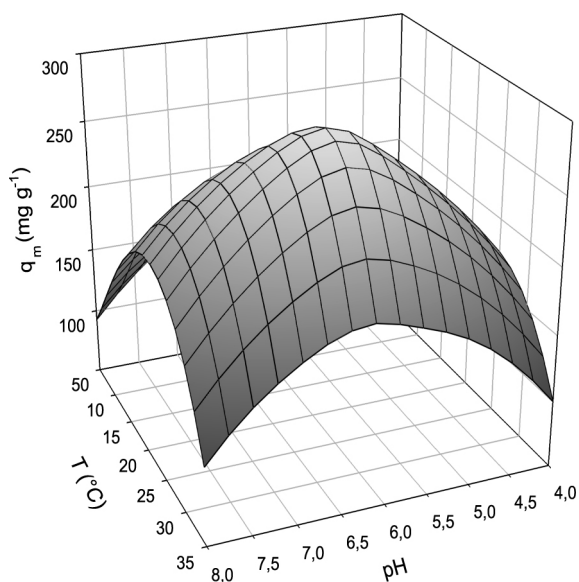
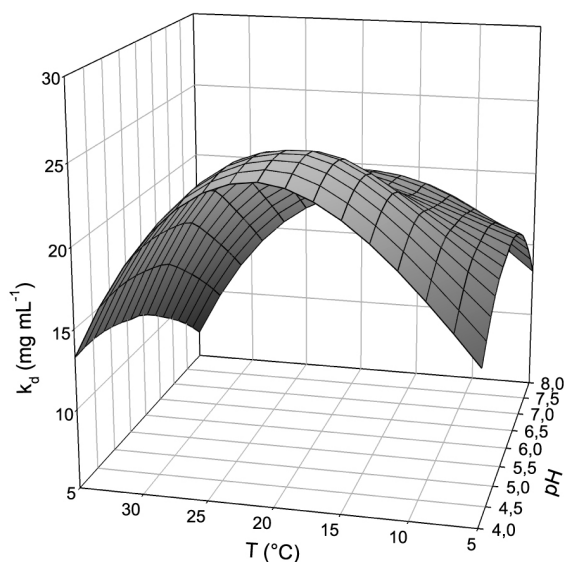
**Tabela 1.** Parâmetros do modelo de Langmuir para adsorção  $\alpha$ -la em HA

pH	T = 5 °C		T = 15 °C		T = 25 °C		T = 35 °C	
	$q_m$	$k_d$	$q_m$	$k_d$	$q_m$	$k_d$	$q_m$	$k_d$
4,0	89,794	10,189	127,878	21,231	198,154	27,318	95,68	10,77
6,0	161,474	20,590	209,675	21,276	290,049	23,055	187,574	12,463
8,0	110,329	14,214	96,342	13,316	279,961	21,471	67,251	4,497

De acordo com as Figuras 2 e 3 é possível observar que ocorre uma maior adsorção da  $\alpha$ -la em HA em torno do pH 6,0 e a 25 °C.

Vários parâmetros experimentais podem alterar o comportamento de adsorção das proteínas em trocadores iônicos. Dentre eles, tem-se o tipo de tampão utilizado, a natureza dos co- e contra-íons em solução, a temperatura, o pH, a força iônica e a vazão do eluente.<sup>13</sup>

Fontan,<sup>18</sup> estudando o equilíbrio de adsorção de  $\alpha$ -la em um trocador iônico, Streamline<sup>®</sup> Q XL, encontrou valores de  $q_m$  que variaram de 426 a 355 mg g<sup>-1</sup> para a faixa de temperatura de 10 a 40 °C. Segundo o autor, o processo de adsorção de  $\alpha$ -la nesta resina trocadora de ânions é exotérmico.

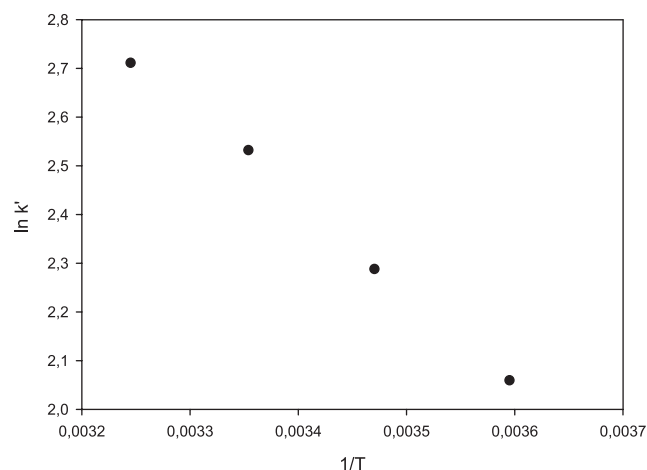
**Figura 2.** Variação de  $q_m$  em função do pH e da temperatura**Figura 3.** Variação de  $k_d$  em função do pH e da temperatura

Conrado *et al.*<sup>15</sup> estudaram a adsorção de  $\alpha$ -la em coluna de leito expandido com a resina Streamline Phenyl à temperatura ambiente e obtiveram um valor de  $q_m$  de 19,28 mg g<sup>-1</sup>. Tercinier *et al.*<sup>26</sup> relataram um valor de  $q_m$  de aproximadamente 81 mg g<sup>-1</sup> a 25 °C para adsorção de isolado proteico de soro (WPI) em hidroxiapatita.

De acordo com Tercinier *et al.*<sup>26</sup> a adsorção de proteínas do leite em partículas de hidroxiapatita não tem sido relatada em literatura. Existem alguns estudos sobre as interações entre proteínas do leite e HA para biomateriais, como ossos ou compostos para odontologia.<sup>27</sup> Ritzoulis *et al.*<sup>28</sup> usaram a propriedade de ligação de caseínas em hidroxiapatita para fazer um material compósito poroso de cerâmica-proteína a partir de caseinato de sódio e hidroxiapatita. Devold *et al.*,<sup>29</sup> estudando a adsorção in vitro de proteínas do leite no esmalte dos dentes, demonstraram que, em pH neutro, caseínas foram ligadas preferencialmente ao esmalte do dente, formando películas de proteínas.

#### Análise termodinâmica

Os parâmetros termodinâmicos  $\Delta H_{ad}^0$ ,  $\Delta G_{ad}^0$  e  $\Delta S_{ad}^0$  foram determinados em função da temperatura para a operação de adsorção de  $\alpha$ -la em hidroxiapatita por meio da análise não linear de van't Hoff. O pH 6,0 foi o escolhido para a análise termodinâmica pois os maiores valores de  $q_m$  foram observados neste pH. O ajuste polinomial de segunda ordem dos dados de  $\ln k'$  versus  $1/T$  está mostrado na Figura 4.

**Figura 4.** Gráfico de Van't Hoff -  $\ln k'$  versus  $1/T$ 

A equação do polinômio de segundo grau ajustada aos dados experimentais mostrados na Figura 4 é:

$$\ln k' = 5,1020 + \frac{303,9118}{T} - \frac{320208,1967}{T^2} \quad (13)$$

Desta forma, os valores de  $\Delta H_{ad}^0$ ,  $\Delta G_{ad}^0$  e  $\Delta S_{ad}^0$  foram calculados usando as Equações 7 a 9. As Figuras 5 a 7 mostram o comportamento de cada um desses parâmetros termodinâmicos em função da temperatura, sendo que seus valores em cada temperatura de trabalho estão dispostos na Tabela 2.

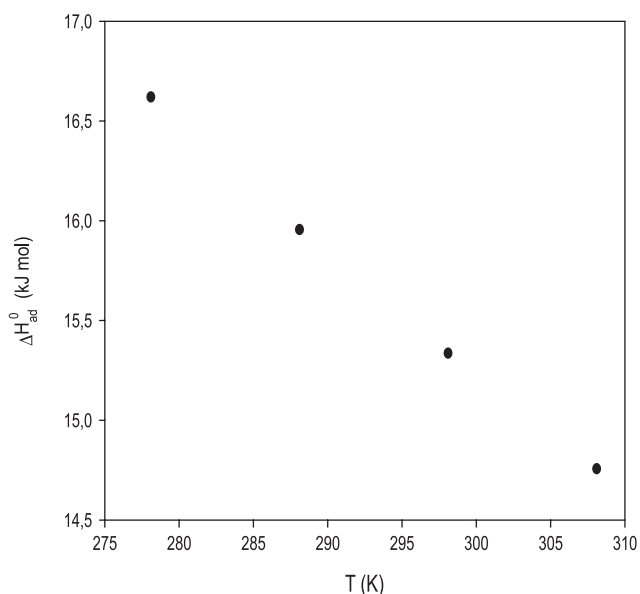


Figura 5. Variação da  $\Delta H_{ad}^0$  com a temperatura

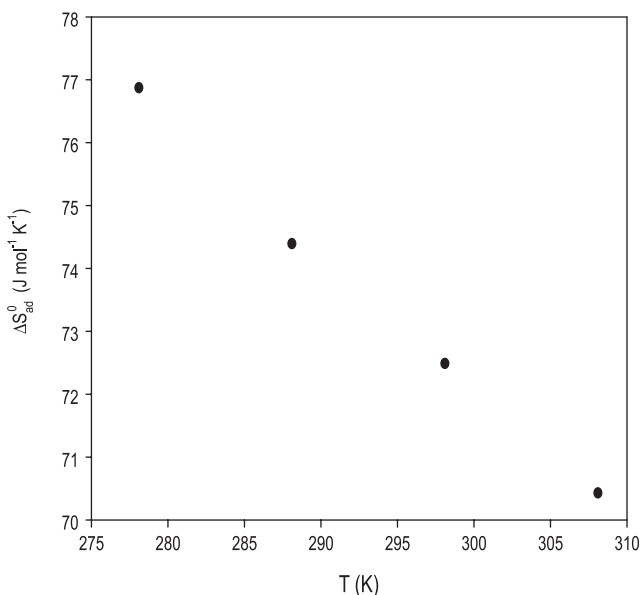


Figura 6. Variação da  $\Delta S_{ad}^0$  com a temperatura

Verifica-se que, com o aumento da temperatura, houve uma diminuição da entalpia de adsorção, da entropia de adsorção e da energia livre de Gibbs de adsorção, e que esta relação é linear.

Pode-se assim dizer que, nas condições estudadas, o processo de adsorção de  $\alpha$ -la em hidroxiapatita é endotérmico, já que todos os valores de  $\Delta H_{ad}^0$  foram positivos e a dependência do valor de  $\Delta H_{ad}^0$  com a temperatura é pequena, embora seja observada uma diminuição da entalpia de adsorção com o aumento da temperatura. Fontan<sup>18</sup> também observou a mesma tendência de comportamento para  $\Delta H_{ad}^0$  ao avaliar a termodinâmica da adsorção de  $\alpha$ -la em resina trocadora de ânions (Streamline® Q XL). Os valores observados foram próximos aos obtidos para a hidroxiapatita.

Em adição, verificou-se que o processo é entropicamente dirigido, devido ao fato do termo  $T \cdot \Delta S_{ad}^0$  apresentar um valor mais elevado que o  $\Delta H_{ad}^0$  para todas as temperaturas estudadas, o que garante uma maior contribuição da entropia de adsorção do que da entalpia de adsorção, mesmo que a diferença entre estes valores seja relativamente pequena.

Fontan,<sup>18</sup> estudando o equilíbrio de adsorção de  $\alpha$ -la em um trocador iônico, Streamline® Q XL, encontrou valores de  $\Delta H_{ad}^0$  que

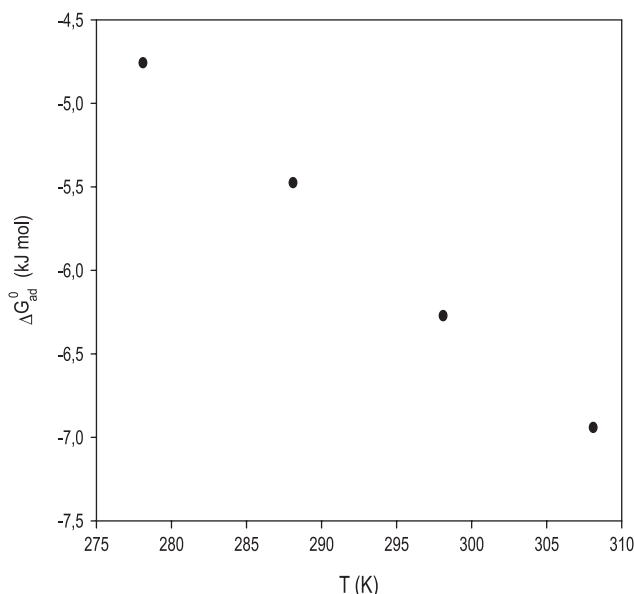


Figura 7. Variação da  $\Delta G_{ad}^0$  com a temperatura

Tabela 2. Valores dos parâmetros termodinâmicos  $\Delta H_{ad}^0$ ,  $\Delta S_{ad}^0$  e  $\Delta G_{ad}^0$

Temperatura (K)	$\Delta H_{ad}^0$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S_{ad}^0$ (J.K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G_{ad}^0$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )	T. $\Delta S_{ad}^0$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )
278,15	16,615	76,859	-4,762	21,378
288,15	15,951	74,380	-5,481	21,432
298,15	15,331	72,474	-6,267	21,608
305,15	14,751	70,415	-6,496	21,698

variaram entre 25 a 0,5 kJ mol<sup>-1</sup> na faixa de temperatura de 10 a 40 °C. Os valores de  $\Delta S_{ad}^0$  variaram de 70 a 150 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup> e o valores de  $\Delta G_{ad}^0$  variaram de -20 a -16,5 kJ mol<sup>-1</sup>. Assim como observado no presente artigo, os parâmetros termodinâmicos analisados por Fontan<sup>18</sup> diminuíram com aumento da temperatura e ambos os processos foram endotérmicos, entropicamente dirigidos e ocorreram espontaneamente.

A  $\alpha$ -la é considerada uma proteína *soft*,<sup>30</sup> o que pode justificar a facilidade com que sua conformação é alterada, sem liberar ou absorver grandes quantidades de energia, ou seja, sem variar significativamente a entalpia do sistema. Pelo mesmo motivo, as mudanças de conformação com ou sem liberação de grupos, tais como moléculas de água, também não alteram significativamente a entropia do sistema. Porém, a contribuição destas mudanças de conformação é ligeiramente maior na contribuição entrópica do que na entálpica, tornando o processo entropicamente dirigido, uma vez que podem ocorrer mudanças na conformação da  $\alpha$ -la quando a mesma é adsorvida na superfície da hidroxiapatita.

A Figura 7 permite afirmar que a energia livre de Gibbs de adsorção,  $\Delta G_{ad}^0$ , é negativa e diminui com o aumento da temperatura, o que indica que o processo adsorptivo é espontâneo nas condições estudadas e esta espontaneidade tende a ser mais acentuada em temperaturas mais elevadas.

## CONCLUSÃO

Neste trabalho foi estudado o comportamento adsorptivo de  $\alpha$ -lactoalbumina em hidroxiapatita por meio da obtenção das isotermas de adsorção com posterior análise dos parâmetros termodinâmicos do processo adsorptivo. Foi observada uma tendência de aumento dos valores de  $q_m$  com o aumento da temperatura. A adsorção

ocorreu de forma mais intensa em valor de pH 6,0 e 25 °C. A análise termodinâmica permitiu a determinação de dados das variações de entalpia ( $\Delta H_{ad}^0$ ), entropia ( $\Delta S_{ad}^0$ ) e energia livre de Gibbs ( $\Delta G_{ad}^0$ ) da adsorção, observando-se uma diminuição dos mesmos com o aumento da temperatura. Nas condições estudadas, a adsorção de  $\alpha$ -la em HA é um processo endotérmico e entropicamente dirigido. A variação da energia livre de Gibbs de adsorção foi negativa, indicando que o fenômeno adsorptivo é espontâneo nas condições estudadas.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Kamau, S. M.; Cheison S.; Chen, W.; Liu, X. M.; Lu, R. R.; *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2010**, 9, 197.
- Stănciuc, N.; Râpeanu, G.; *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technol.* **2010**, 34, 82.
- Eigel, W. N.; Butler, J. E.; Ernstrom, C. A.; Farrel Jr., H. M.; Harwalker, V. R.; Jenness R.; Whitney, R. M.; *J. Dairy Sci.* **1984**, 67, 1599.
- Fox, P. F.; *The milk protein system in Developments. Em Dairy Chemistry-4. Functional milk proteins.* Ed. Fox, P. F. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London and New York, 1-53, 1989.
- Sgarbieri, V. C.; *Braz. J. Food Technol.* **2005**, 8, 43.
- Matsumoto, H.; Shimokawa, Y.; Ushida, Y.; Toida, T.; Hayasawa, H.; *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **2001**, 65, 1104.
- Eugene, A.; Berliner, L. J.; *FEBS Lett.* **2000**, 473, 269.
- Zuñiga; A. D. G.; Pereira, J. A. M.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; Rojas, E. E. G.; *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos* **2003**, 21, 61.
- El-Sayed, M. M. H.; Chase, H. A.; *J. Chromatogr. A* **2009**, 50, 8705.
- Paz, A.; Guadarrama, D.; López, M.; González, J. E.; Brizuela, N.; Aragón, J.; *Quim. Nova* **2012**, 35, 1724.
- Guastaldi, A. C.; Aparecida, A. H.; *Quim. Nova* **2010**, 33, 1352.
- Limousin, G.; *Appl. Geochem.* **2007**, 22, 249.
- Ruthven, D. M., *Encyclopedia of Separation Technology – Volume 1*, John Wiley & Sons: New York, 1997.
- Arias, J. M.; Paternina, E.; Barragán, D.; *Quim. Nova* **2009**, 32, 1350.
- Conrado, L. S.; Veredas, V.; Nóbrega, E. S.; Santana Braz, C. C.; *J. Chem. Eng.* **2005**, 22.
- Guiochon, G.; Shirazi, S. G.; Katti, A. G.; *Fundamentals on preparative and nonlinear chromatography*, 1<sup>st</sup> ed., Academic Press: Waltham, 1994.
- Rocha, O. R. S.; Nascimento, G. E.; Campos, N. F.; Silva, V. L.; Duarte, M. M. M. B.; *Quim. Nova* **2012**, 35, 1369.
- Fontan, R. C. I.; *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 2005.
- Bonomo, R. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R.; Fontan, R. C. I.; Mendes da Silva, L. H.; Minim, V. P. R.; *J. Chromatogr. B* **2006**, 844, 6.
- Boysen, R. I.; Wang, Y.; Keah, H. H.; Hearn, M. T. W.; *Biophys. Chem.* **1999**, 77, 79.
- Levine, I. N.; *Physical chemistry*, 4<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill: New York, 1995, 901p.
- Sousa, R. C. S.; *Tese de Doutorado*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 2010.
- Lira, R. A.; Minim, L. A.; Bonomo, R. C. F.; Minim, V. P. R.; da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 4440.
- Sierra, O. P.; *Tese de Doutorado*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 2007.
- Chang, Y. K.; Chou, S-Y; Liu, J. L.; Tasi, J. C.; *Biochem. Eng. J.* **2007**, 35, 56.
- Tercinier, L.; Ye, A.; Anema, S.; Singh, A.; Singh, H.; *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, 394, 458.
- van Kemenade, M. J. J. M.; de Bruyn, P. L. J.; *Colloid Interface Sci.* **1989**, 129, 1.
- Ritzoulis, C.; Scoutaris, N.; Papademetriou, K.; Stavroulias, S.; Panayiotou, C.; *Food Hydrocolloids* **2005**, 19, 575.
- Devold, T.G.; Rykke, M.; Isabey, D.; Ørensen, E. S. S.; Christensen, B.; Langsrud, T.; Svenning, C.; Borch-Johnsen, B.; Karlsen, J.; Vegarud, G. E.; *Int. Dairy J.* **2006**, 16, 1013.
- Nakanishi, K.; Sakiyama, T.; Imamura, K.; *J. Biosci. Bioeng.* **2001**, 91, 233.