



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQUIM**

DALVANI SILVA DUARTE

Obtenção de um adsorvente para a adsorção da proteína BSA usando tanino vegetal de *Acacia mearnsii* (Mimosa) e fibras lignocelulósicas modificadas da casca de *Eucalyptus citriodora*

ILHÉUS - BAHIA

2021

DALVANI SILVA DUARTE

Obtenção de um adsorvente para a adsorção da proteína BSA usando tanino vegetal de *Acacia mearnsii* (Mimosa) e fibras lignocelulósicas modificadas da casca de *Eucalyptus citriodora*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Áreas de Concentração: Recursos Naturais e Tecnologia

Linha de Pesquisa: Físico-Química Teórica e Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Salay

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Heriberto Martinez Luzardo

ILHÉUS - BAHIA

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

D812 Duarte, Dalvani Silva.
Obtenção de um adsorvente para a adsorção da proteína BSA usando tanino vegetal de *Acacia mearnsii* (Mimosa) e fibras lignocelulósicas modificadas da casca de *Eucalyptus citriodora* / Dalvani Silva Duarte. – Ilhéus : UESC, 2021.
90f. :il.
Orientador : Luiz Carlos Salay.
Co-orientador : Francisco Heriberto Martinez Luzardo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Química.

Inclui referências.

1. Adsorção. 2. Água – Poluição. 3. Proteína – Adsorção. 4. Resíduos vegetais. 5. Eucaliptos. I. Salay, Luiz Carlos. II. Luzardo, Francisco Heriberto Martinez. III. Título.

CDD – 660.284235

DALVANI SILVA DUARTE

Obtenção de um adsorvente para adsorção da proteína BSA usando tanino vegetal de *Acacia mearnsii* (Mimosa) e fibras lignocelulósicas modificadas da casca de *Eucalyptus citriodora*

Ilhéus, 24 de agosto de 2021.

COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof(a). Dr. Luiz Carlos Salay Universidade
Estadual de Santa Cruz (UESC)
Orientador(a)



Prof(a). Dr. Luis Nieto Gonzalez Universidade Estadual
do Sudoeste da Bahia (UESB)



Prof(a). Dr. Marcelo Franco Universidade
Estadual de Santa Cruz (UESC)

Agradecimento

Agradeço, em especial, a força maior da natureza que me gere e me centra: Deus;

A minha família, ao meu companheiro e a sua família: pai, mãe, irmãos, irmã, sogra, sogro, cunhados, cunhadas, sobrinhos, sobrinhas, enteadas, amigos e amigas, cada olhar carinhoso e palavra de admiração foram importantes;

A toda equipe que compõe o PPGQUIM-UESC, vocês fazem parte a minha história;

Ao grupo CPqCTR-UESC, é sempre emocionante lembrar de vocês e do que fizemos juntos, cooperação e carinho são seus sinônimos;

Ao meu inesquecível orientador Salay pela confiança e ao meu incrível coorientador Luzardo pelo cuidado, vocês são minhas referências;

Aos bravos cientistas que produziram até aqui de forma a nos dar suporte para a realização desse trabalho;

A FAPESB pela concessão da bolsa e a todo avanço conquistado pela ciência no Brasil para fomento e divulgação: a luta continua;

Muito obrigada aos membros da banca examinadora pelas contribuições!

Obtenção de um adsorvente para a adsorção da proteína BSA usando tanino vegetal de *Acacia mearnsii* (Mimosa) e fibras lignocelulósicas modificadas da casca de *Eucalyptus citriodora*

RESUMO

Proteínas são biomoléculas abundantes aplicadas em terapias médicas, melhoramento de implantes em humanos, produção de adesivos e géis, entre outras aplicações. São encontradas em peles, cabelos e na formação estrutural externa de vírus e bactérias patogênicos detectados em águas. Águas residuais das indústrias de carnes, de leite e seus derivados, de cereais, de bioplásticos são exemplos de fontes de proteínas que contribuem para a poluição das águas quando lançados em afluentes e efluentes. O tratamento das águas se torna mais eficaz quando espécies proteicas são eliminadas e não somente inativadas. A recuperação de proteínas a partir de resíduos industriais agrega valor a produção, reduz a poluição ambiental orgânica e a demanda das centrais de tratamento de efluentes. A adsorção apresenta-se como método vantajoso para a separação e retirada de proteínas e espécies proteicas em meios aquosos. Proteínas recuperadas de águas de descarte, como as albuminas e globulinas, já são utilizadas para produção de ração animal. A atualidade tem emergência por tecnologias sustentáveis. Adsorventes já são preparados por reações de policondensação de polifenóis, no entanto, este trabalho trouxe a novidade de empregar esse produto para a adsorção de proteínas, utilizado a BSA como modelo. O objetivo foi desenvolver um adsorvente para a adsorção de proteínas em meio aquoso utilizando taninos vegetais e materiais lignocelulósicos modificados da casca de eucalipto. Foi preparada uma resina contendo 10% fibras de casca do *Eucalyptus citriodora* e 90% de tanino da *Acacia mearnsii* (Mimosa) por condensação com formaldeído em meio ácido. A resina obtida foi caracterizada por espectroscopia UV-Vis e FTIR-ATR e determinações do grau de inchamento, densidade aparente e de pacote e massa específica. A interação da proteína BSA com a superfície rica em taninos se deve a grande quantidade e diversidade de aminoácidos que a compõe. O estudo da adsorção da BSA foi feito em batelada com quantificações por espectroscopia UV-Vis. Foi estimada a concentração de taninos condensados na casca de *Eucalyptus citriodora*. A resina preparada alcançou $71,6 \pm 2,78\%$ de remoção em solução de BSA de 260 mg L^{-1} . A melhor faixa de pH foi aquela da solução aquosa da BSA no seu ponto isoelétrico, $\sim 5,32 \pm 0,02$. A resina sintetizada pode atingir uma capacidade máxima de adsorção de BSA de $\sim 26,7 \pm 0,29 \text{ mg g}^{-1}$ em 7 min. A nova resina sintetizada apresenta boa perspectiva para adsorção de proteínas ou espécies proteicas que contenham em sua estrutura os aminoácidos lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico, histidina e arginina e/ou aqueles com características alifáticas, hidrofílicas ácidas e/ou hidrofílicas básicas.

Palavras chave: Poluição da água; Adsorção de proteína; Resina de tanino; Fibras lignocelulósicas; Espectroscopia Ultravioleta-Visível.

Obtaining an adsorbent for the adsorption of BSA protein using vegetable tannin from *Acacia mearnsii* (Mimosa) and modified lignocellulosic fibers from the bark of *Eucalyptus citriodora*

ABSTRACT

Proteins are abundant biomolecules applied in medical therapies, improvement of human implants, production of adhesives and gels, among other applications. They are found in the skin, hair and in the external structural formation of pathogenic viruses and bacteria detected in water. Wastewater from the meat, milk and dairy products, cereals and bioplastics industries are examples of protein sources that contribute to water pollution when released into affluents and effluents. Water treatment becomes more effective when protein species are eliminated and not just inactivated. The recovery of proteins from industrial waste adds value to production, reduces organic environmental pollution and the demand for effluent treatment plants. Adsorption is an advantageous method for the separation and removal of proteins and protein species in aqueous media. Proteins recovered from waste water, such as albumins and globulins, are already used to produce animal feed. Today, there is an emergency for sustainable technologies. Adsorbents are already prepared by polyphenol polycondensation reactions, however, this work brought the novelty of using this product for protein adsorption, using BSA as a model. The objective was to develop an adsorbent for the adsorption of proteins in aqueous medium using vegetable tannins and lignocellulosic materials modified from eucalyptus bark. A resin containing 10% *Eucalyptus citriodora* bark fibers and 90% *Acacia mearnsii* (Mimosa) tannin was prepared by condensation with formaldehyde in an acidic medium. The resin obtained was characterized by UV-Vis and FTIR-ATR spectroscopy and determinations of the degree of swelling, bulk and bulk density and specific mass. The interaction of the BSA protein with the surface rich in tannins is due to the large amount and diversity of amino acids that make it up. The study of the adsorption of BSA was carried out in batch with quantification by UV-Vis spectroscopy. The concentration of condensed tannins in the bark of *Eucalyptus citriodora* was estimated. The prepared resin achieved $71.6 \pm 2.78\%$ removal in a 260 mg L^{-1} BSA solution. The best pH range was that of the aqueous solution of BSA at its isoelectric point, $\sim 5.32 \pm 0.02$. The synthesized resin can reach a maximum BSA adsorption capacity of $\sim 26.7 \pm 0.29 \text{ mg g}^{-1}$ in 7 min. The new synthesized resin presents good prospects for adsorption of proteins or protein species that contain in their structure the amino acids lysine, aspartic acid, glutamic acid, histidine and arginine and/or those with aliphatic, acidic hydrophilic and/or basic hydrophilic characteristics.

Keywords: Water pollution; Protein adsorption; Tannin resin; Lignocellulosic fibers; Ultraviolet-Visible Spectroscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aminoácido ionizando-se em função do pH	22
Figura 2 - Artigos científicos produzidos acerca de adsorção e adsorção de proteínas associada a adsorventes e aplicações entre 1945 e 05/2019	24
Figura 3 - Formação de um galotanino.....	31
Figura 4 - Formação do ácido elágico a partir do gálico	32
Figura 5 - Representação de galotaninos e elagitaninos.....	32
Figura 6 - Núcleo fenólico da catequina	33
Figura 7 - Esquema ilustrativo das classes de taninos	35
Figura 8 - Interações de resíduos de aminoácidos com monômeros catequina	37
Figura 9 - Lógica de intervenção	49
Figura 10 - Resumo gráfico das etapas desde trabalho	56
Figura 11 - Espectros UV-Vis de extratos aquosos das fibras naturais de eucalipto e modificadas por policondensação e das soluções aquosas de compostos tânico de referência	57
Figura 12 - Curvas de calibração no UV-Vis para (A) ácido gálico e (B) ácido tânico	58
Figura 13 - Resumo da reação monoflavonoide de tanino condensado-formaldeído	60
Figura 14 - Curva de calibração no UV-Vis para BSA	61
Figura 15 - Percentual médio de remoção da BSA por adsorvente.....	62
Figura 16 - Espectros FTIR-ATR da BSA e resina antes (A) e depois (B) da adsorção	65
Figura 17 - Modelos teóricos frente aos dados experimentais da cinética de adsorção	70
Figura 18 - Modelos teóricos e modelo experimental da isoterma de adsorção	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Materiais lignocelulósicos como adsorventes	27
Tabela 2 - Interações de taninos com proteínas e outras substâncias	28
Tabela 3 - Percentual de cada aminoácido e de grupos na BSA.....	38
Tabela 4 - Aplicação de modelos cinéticos e isotérmicos para estudo da adsorção de proteínas em superfícies poliméricas	42
Tabela 5 - Valores médios de taninos e sólidos solúveis extraídos por peso seco da fibra da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>	59
Tabela 6 - Propriedades físicas da resina 10% fibras 100 -150 mesh e 90% tanino mimosa.....	63
Tabela 7 - Parâmetros cinéticos frente aos modelos teóricos	71
Tabela 8 - Parâmetros isotérmicos frente aos modelos teóricos	74
Tabela 9 - Comparação das capacidades de adsorção de Langmuir para BSA de diferentes adsorventes comerciais e em desenvolvimento.....	76

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

BSA = *Bovine Serum Albumin* - Albumina Sérica Bovina

UV = Ultravioleta

Vis = Visível

FTIR = Infravermelho com Transformada de Fourier

ATR = Refletância Total Atenuada

IV = Infravermelho

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Problema científico	12
1.2	Hipótese	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos Específicos	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	Poluição orgânica das águas	15
3.1.1	Proteínas	16
3.2	Adsorção de proteínas	21
3.3	Adsorventes de proteínas	25
3.3.1	Matéria-prima renovável no preparo de adsorventes	26
3.4	Taninos	29
3.4.1	Taninos vegetais.....	29
3.4.2	Química dos taninos	30
3.4.2.1	Taninos hidrolisáveis	31
3.4.2.2	Taninos condensados.....	32
3.4.2.3	Taninos complexos.....	34
3.4.3	Interação tanino-proteína.....	35
3.4.3.1	A albumina sérica bovina/ <i>bovine serum albumin</i> (BSA)	38
3.5	Taninos no preparo de resinas	39
3.5.1	Eucalipto e taninos	41
3.6	Estudo da adsorção de proteínas	42
3.6.1	Cinética de adsorção	43
3.6.1.1	Modelo de pseudo-primeira ordem.....	44
3.6.1.2	Modelo de pseudo-segunda ordem	44
3.6.1.3	Equação de Elovich	44
3.6.1.4	Modelo de difusão intrapartícula.....	45
3.6.2	Isoterma de adsorção	45
3.6.2.1	Modelo de Langmuir.....	46
3.6.2.2	Modelo de Freundlich	46
3.6.2.3	Modelo de Redlich-Peterson.....	46

3.6.2.4	Modelo de Sips	47
3.7	Resumo: do estado da arte e do estado da questão	47
4	METODOLOGIA.....	49
4.1	Coleta e pré-tratamento das cascas do eucalipto.....	49
4.2	Obtenção de extratos das fibras da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>	50
4.3	Espectroscopia UV-Vis.....	50
4.3.1	Curvas de calibração dos compostos tânicos	50
4.3.2	Curva de calibração da proteína BSA.....	51
4.3.3	Estimativa do teor de taninos condensados e hidrolisáveis nas fibras da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>	51
4.4	Tratamentos químicos das fibras da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>...	52
4.4.1	Tratamentos por hidrólise	52
4.4.2	Imobilização dos taninos.....	52
4.4.3	Síntese da resina de tanino e fibras tratadas da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>	53
4.5	Caracterizações físicas e químicas.....	53
4.6	Estudos de adsorção da proteína BSA.....	54
4.6.1	Influência da variação de pH na adsorção.....	55
4.6.2	Estudo da cinética de adsorção	55
4.6.3	Estudo da isoterma de adsorção	55
4.7	Tratamento dos dados experimentais	56
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1	Caracterização dos taninos das fibras da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>.....	57
5.1.1	Estimativa de taninos e sólidos totais nas fibras da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>	58
5.2	Síntese da resina de tanino e fibras tratadas da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>.....	60
5.3	Estudo do percentual de remoção das fibras e da resina tanino-fibras	61
5.4	Caracterizações físicas da resina.....	63
5.5	Caracterização da resina antes e pós adsorção usando FTIR-ATR	64
5.6	Influência da variação de pH na adsorção.....	68
5.7	Estudo cinético da adsorção BSA-resina.....	69
5.8	Estudo isotérmico da adsorção BSA-resina	73
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
7	REFERÊNCIAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

Proteínas são biomoléculas encontradas em animais e vegetais (SOLOMONS; FRYHLE, 2009). Suas características biológicas são empregadas para desenvolver biocápsulas para entrega de substrato específico (LAU et al., 2017) melhoramento de implantes ósseos e dentários (YANG et al., 2017), no desenvolvimento de medicamentos, como os baseados em hormônios (EL-DESOKY; GHONEIM; KHATTAB, 2019). Proteínas compõem estruturas de importância vital, como células, e também, vírus ofensivos que se adaptam e são excretados por organismos vivos, como o COVID-19 (TUNG; LIMTUNG, 2020).

Vírus e bactérias são revestidos por proteínas que os protegem. Esses microrganismos são detectados em altas quantidades nas águas. O tratamento convencional apenas inativa esses patógenos, mas, eles ou seus derivados proteicos persistem no meio (LAHRICH et al., 2021; VITAL et al., 2010; BOFILL-MAS et al., 2005). A adsorção baseada nas proteínas é uma via para a eliminação de vírus, bactérias e seus derivados no meio aquoso durante e após o tratamento convencional de desinfecção (LAHRICH et al., 2021; BITTON, 1975; BITTON et al., 1976).

Existem trabalhos que desenvolvem tecnologias de remoção de proteínas e espécies proteicas livres no meio ambiente com finalidade de aplicação em rações animais, material adesivo e na fabricação de bioplásticos. A recuperação dessas proteínas se dá a partir de águas residuais doméstica, da fabricação de medicamentos, alimentos de origem animal e vegetal, bem como solubilizadas a partir de resíduos sólidos de efluentes tratados (XIAO; ZHOU, 2019).

A atualidade tem emergência por tecnologias sustentáveis, que busquem reduzir os danos causados pelo aumento populacional, seus avanços tecnológicos e fabris, que conduzam ao reaproveitamento de matérias-primas destinadas a descarte e/ou sejam renováveis, como proteínas lançadas em afluentes e efluentes (YADAV et al., 2020; KURUP; ADHIKARI; ZISU, 2019). Dessa forma, a captura de proteínas ou compostos proteicos livres em soluções e resíduos de descarte é um

benefício econômico, científico, ambiental e de saúde pública, pois é um meio de reduzir a carga de matéria orgânica poluente das águas e solos.

Até o presente momento as legislações para o tratamento das águas para consumo humano, depositam maior importância no controle e proibição do descarte da classe de poluentes orgânicos denominados persistentes, pois, são biocomumulativos e contaminam águas, solos e o ar, como hexaclorobenzeno, naftalenos policlorados e ácido perfluorooctano sulfônico (BRASIL, 2011) (CONAMA, 2005). Quando se trata das condições, parâmetros, padrões e diretrizes para gestão do lançamento de efluente a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente aponta que a água residual deve atender aos parâmetros do corpo d'água que o recebe quando o poluente não estiver listado nas normas de controle (CONAMA, 2011). Assim, o controle quanto ao descarte e tratamento das águas frente a poluentes orgânicos que não sejam tóxicos de maneira direta, é negligenciado, sendo as proteínas um exemplo.

Ainda que seja conhecida a biocompatibilidade proteica, essa classe de moléculas não deve ser encarada como inofensiva para o meio ambiente e consumo humano, pois a mesma agrega grande massa à matéria orgânica poluente, que por sua vez é crescente e preocupante (WEN; SCHOUPS; VAN DE GIESEN, 2017) bem como são constituintes de espécies perigosas para a saúde humana e animal, como vírus e bactérias (LAHRICH et al., 2021; VITAL et al., 2010).

A recuperação de proteínas em águas residuais geralmente usa métodos físicos, químicos e biológicos associados, como ultrassônicos, de microondas, de ultrafiltração, elétricos, térmicos, ácidos, alcalinos, salinos, oxidantes, surfactantes, enzimático e microbiano (XIAO; ZHOU, 2019). Segundo Li et al. (2013), a adsorção apresenta-se como método vantajoso frente aos tradicionais para a separação de proteínas, pois reduz etapas, reagentes e consumo energético.

A adsorção já é um método utilizado, inclusive para separação específica de proteínas, para isso, no entanto, são desenvolvidas superfícies adsorventes a partir de automontagem de nanoestruturas, de enxertos poliméricos, usando metais nobres, como nanocamadas de ouro (DI PALMA, 2019; PALLADINO et al., 2019). Técnicas de funcionalização de materiais aplicando diversos reagentes e empregando tecnologias sofisticadas são exemplos comumente relatados em

pesquisas trazendo respostas positivas, mas, agregando alto valor para a síntese do produto e sua aplicação.

A literatura apresenta pesquisas consolidadas quanto a utilização de materiais lignocelulósicos os quais passaram por modificações físicas e químicas resultando em adsorventes de baixo custo e com eficiência aumentada para tratamento de águas contaminadas por íons metálicos (ARAÚJO et al., 2010; NERIS et al., 2019a, 2019b; ALMEIDA et al., 2021). Com a mesma finalidade já foi desenvolvida a potencialização dos componentes de fibras lignocelulósicas por meio de reações de policondensação de polifenóis como taninos (LUZARDO et al. 2015), e também o emprego dessa técnica de polimerização para enriquecimento de fibras vegetais com extrato de taninos e outros componentes, gerando resina funcionalizada (LUZARDO et al., 2017). No entanto, esses produtos ou similares a eles não haviam sido estudados para gerar adsorventes para adsorbatos proteicos. Os dados da literatura apontam para uma lacuna do desenvolvimento de superfícies adsorventes mais sustentáveis para proteínas.

A exploração das características dos produtos de origem vegetal não se encontram no mesmo nível de desenvolvimento para a adsorção de distintos materiais inorgânicos e orgânicos. A adsorção de proteínas em superfície lignocelulósica vem sendo bastante pesquisada pela indústria de biorrefinaria, pois, buscam desenvolver técnicas que reduzam a constatada adsorção das proteínas enzimáticas na parte mais externa da biomassa vegetal (TYE et al., 2016; DHABHAI; NIU; DALAI, 2018). Dado o conhecimento acerca da adsorção de proteínas por sólidos lignocelulósicos, novos materiais e aplicações emergem das possibilidades deste campo de estudo.

Dentre as matérias vegetais é conhecida a forte afinidade dos taninos por proteínas, esse grupo de polifenóis pode complexa-las e/ou coagula-las, sendo essas reações usadas há muito tempo, por exemplo, para a identificação dessas espécies em soluções e no curtume de peles animais (BEART; LILLEY; HASLAM, 1985; HASLAM, 2007; LACOSTE et al., 2015; PIZZI, 2019). Essa interação tanino-proteína tem sido aplicada também na tecnologia da adsorção, onde espécies tânicas são aplicadas para ampliar a capacidade do produto, de forma geral, junto a polímeros sintéticos ou materiais inorgânicos (LI et al., 2010; ANIRUDHAN;

REJEENA; THARUN, 2012; REN et al., 2015; YANG et al., 2017; LAU et al., 2017; SEKOWSKI et al., 2018; BAZZAZ et al., 2018)

O uso de taninos na adsorção de proteínas é uma possibilidade que já se encontra em uso, no entanto, os trabalhos divulgados aplicam esses produtos com numerosos reagentes e técnicas de alto custo. Apesar das pesquisas do campo da biorrefinaria evidenciarem a adsorção de proteínas na matéria lignocelulósica, esse material não foi, até então, apresentado como componente para desenvolvimento de adsorvente de proteínas. A união de dois produtos naturais e nacionais, como o tanino da Mimosa produzido pela TANAC e as fibras das cascas do *Eucalyptus citriodora* que são subprodutos da produção da madeira do eucalipto, fazem do produto desenvolvido, além de inovador, com potencial sustentável, de fácil replicação e com baixo custo, tanto para a síntese quanto para a aplicação.

1.1 Problema científico

Haja vista a lacuna científica quanto a inexistência de adsorventes para proteínas produzidos a base de taninos e materiais lignocelulósicos naturais e tratados, e na busca por contribuir para a superação da mesma, o presente trabalho surgiu a partir do seguinte problema de pesquisa: “Como desenvolver um adsorvente para a proteína padrão albumina sérica bovina (BSA) a partir de tanino vegetal da *Acacia mearnsii* (Mimosa) e fibras da casca de *Eucalyptus citriodora*?”.

1.2 Hipótese

O trabalho em questão baseou-se nas seguintes hipóteses: de que a reação de policondensação do tanino condensado da mimosa com formaldeído em meio ácido produz resina com potencial adsorvente, ou seja, mantendo os grupos funcionais OH dos taninos livres e funcionais; de que o acréscimo de fibras das cascas de *Eucalyptus citriodora* modificadas por ações físicas, hidrolíticas e de reações poliméricas de condensação, como fez Luzardo et al. (2017) aplicando fibra de coco, enriqueçam as propriedades adsorventes da resina; e que, segundo Luzardo et al. (2015) e Sartori et al. (2018) o eucalipto apresenta expressivas características tânicas, demonstrando ter grupos OH fenólicos ativos.

Complementando as hipóteses deste trabalho, a forte e conhecida interação tanino-proteína é aproveitada, baseando-se nos estudos de Codorniu-Hernández et al. (2003; 2005), que demonstrou por método computacional que as interações ocorrem entre os grupos funcionais dos aminoácidos e dos taninos, e que Lisina (Lys, K), Ácido Aspártico (Asp, D), Ácido Glutâmico (Glu, E), Histidina (His, H) e Arginina (Arg, R) foram os resíduos de aminoácidos que interagiram com mais força e estabilidade com os taninos condensados, assim, a Albumina Sérica Bovina (BSA), foi escolhida como proteína modelo, pois, apresenta Lisina (Lys, K), Ácido Aspártico (Asp, D), Ácido Glutâmico (Glu, E), Alanina (Ala, A) e Leucina (Leu, L) como os cinco constituintes em maiores percentuais. Em termo de grupos, Codorniu-Hernández et al. (2005) afirmou que os melhores resultados são obtidos naqueles com maiores características hidrofílicas, os quais apresentam percentual razoável na BSA. Diante dos dados, os indicativos são de que a BSA tenha forte afinidade por uma superfície rica em taninos condensados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Obter um adsorvente para a adsorção da proteína padrão BSA utilizando tanino vegetal de mimosa e materiais lignocelulósicos modificados da casca de eucalipto.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar adsorvente de tanino vegetal de mimosa e casca de eucalipto modificada para a adsorção da proteína padrão BSA;
- Caracterizar físico-quimicamente o adsorvente de tanino vegetal de mimosa e casca de eucalipto modificada com melhor percentual de adsorção da proteína padrão BSA;
- Avaliar a cinética de adsorção de albumina sérica bovina frente ao adsorvente de tanino vegetal de mimosa e casca de eucalipto modificada com melhor percentual de adsorção da proteína padrão BSA;
- Determinar as isotermas de adsorção de albumina sérica bovina frente ao adsorvente de tanino vegetal de mimosa e casca de eucalipto modificada com melhor percentual de adsorção da proteína padrão BSA.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Poluição orgânica das águas

As águas, principalmente os esgotos, apresentam cada vez maiores cargas de contaminantes dissolvidos e sólidos em suspensão, constituídos por carbono, hidrogênio e oxigênio junto a outros elementos, especialmente os metálicos e grupos de substâncias orgânicas, como carboidratos, proteínas, óleos, graxas, detergentes, pesticidas, fenóis, etc. (METCALF; EDDY, 2002).

Recentemente, desde 2020, o estado do Rio de Janeiro enfrenta problemas quanto a qualidade da água de consumo humano mesmo após o tratamento convencional, que não consegue remover toda a poluição orgânica dos corpos d'água (SOTERO-MARTINS et al., 2021). Segundo reportagem da Fundação Oswaldo Cruz a crise da água no Rio de Janeiro é somente a ponta do iceberg de uma crise ecológica por conta da poluição via esgotos sanitários e efluentes industriais que sofre o principal manancial do Rio de Janeiro (FIOCRUZ, 2020).

Chonova et al. (2016) constatou que a alta carga de compostos orgânicos, como os produtos farmacêuticos, são um potencial risco para a saúde dos ambientes aquáticos receptores das águas residuais de estações de tratamento urbanas tradicionais, pois, elas não são projetadas para tratar efluentes hospitalares ou que possuam concentrações de resíduos farmacológicos, e mesmo quando tratados ainda podem conter poluentes prejudiciais.

Um estudo recente de Wen, Schoups e Van de Giesen, (2017) aponta perspectivas negativas quanto a qualidade de águas doces superficiais, estimam que aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas do mundo serão afetadas por viver perto de rios poluídos, aqueles com Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) maior que 5 mg/L no ano de 2050, contra 1,1 bilhão de pessoas no ano de 2000. O estudo levou em consideração suposições acerca de fontes de poluição orgânica em rios oriundas de fontes industriais, pecuária intensiva, agrícolas difusas, população urbana, domésticas rurais e de interceptação e desvio de águas residuais, também foram consideradas as taxas de degradação de DBO, frações e eficiências de tratamento de águas residuais e degradação natural.

Em uma análise global o tratamento de águas residuais é eficaz para reduzir a demanda bioquímica de oxigênio, vem apresentando avanços na remoção da poluição dos rios em grandes partes da Europa (69%) e América do Norte (68%), enquanto em outras regiões (subcontinente indiano, centro-leste da China, Coreia do Sul, Brasil, México, bem como regiões menores na África, sudeste da Ásia), o tratamento de águas residuais permanece insuficiente (WEN; SCHOUPS; VAN DE GIESEN, 2017).

3.1.1 Proteínas

As proteínas são poliamidas compostas por diferentes aminoácidos. Os aminoácidos que compõem as proteínas apresentam como principais grupos funcionais os básicos amino ($\bar{\text{NH}}_2$) e ácidos carboxílicos ($\bar{\text{COOH}}$) (SOLOMONS; FRYHLE, 2009).

Proteínas são biopolímeros orgânicos de alta abundância em seres vivos, essas macromoléculas possuem variados tamanhos, formas e funções, sendo encontradas como enzimas, moléculas de hemoglobina, hormônios, e constituintes de músculos, tendões, pele, cabelo, combinam-se com outras substâncias na estruturação dos ossos, dentre outros (LEADER; BACA; GOLAN, 2008; COGLITORE; JANOT; BALME, 2019).

As proteínas são obtidas de fontes animais e de extratos vegetais de interesse econômico, científico, ambiental, médico, alimentício, químico, biológico, nanotecnológico, entre outros, como as enzimas e proteínas regulatórias (hormônio proteico insulina e a enzima lactase), a enzima inibidora da destruição do pulmão (pancreática α -1-proteinase), as vacinas de proteína (vacina contra hepatite B criada através da produção de antígeno da proteína não infecciosa do vírus da superfície da hepatite B (HBsAg)) (LEADER; BACA; GOLAN, 2008).

Estruturas e compostos químicos de composição proteica são comuns, os vírus são um exemplo. Eles podem ser patogênicos e são excretados nas fezes e urina e detectados no meio ambiente, assim a contaminação viral das águas é uma problemática emergente, como pelos astrovírus, novovírus e rotavírus causadores de doenças gastrointestinais (BOFILL-MAS et al., 2005). Os vírus são genomas de DNA ou RNA, envolvidos por uma camada de proteínas e glicoproteínas, as quais servem como invólucro protetor, como é o caso do novo coronavírus associado a

síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) quem vem causando a pandemia do COVID-19 e também já foi detectado em efluentes hospitalares, domésticos e urbanos gerais (LAHRICH et al., 2021).

O tratamento convencional com aplicação de desinfetantes clorados é capaz de inativar vírus, como o SARS-CoV, no entanto, eles e seus resíduos proteicos permanecem no meio e as capacidades de infecção ou reestruturação ainda são desconhecidas, assim, o uso de águas de efluentes sem um tratamento completo e eficaz é um potencial gerador de risco a saúde humana, animal e do meio ambiente. A adsorção é uma via de eliminação e/ou concentração dos vírus a partir de meios aquáticos (LAHRICH et al., 2021).

Os vírus são partículas coloidais carregadas que têm a capacidade de adsorver em superfícies e se comportam como proteínas frente a interfaces sólidas adsorventes, essa interação é fundamental para sua eliminação ou concentração por processos de tratamento de águas e solos (BITTON, 1975). Um estudo foi realizado para investigar os fatores que influenciam a interação entre o adsorvente magnetita e o vírus da poliomielite em efluentes, assim, o tipo de vírus e da superfície, o pH, a presença de eletrólitos e de substâncias interferentes no meio são importantes para o processo (BITTON et al., 1976).

Bactérias e vírus patogênicos apresentam proteínas e lipídeos como capa protetora e encontram-se presentes em ambientes distintos, tal como águas. A *Pseudomonas aeruginosa* causou surto em dois hospitais ingleses e a origem se relacionou com a água da torneira e dos efluentes hospitalares (BREATHNACH et al., 2012). Um bioensaio de potencial de crescimento de patógenos em 19 amostras de água de estações de produção de água potável e tratamento de águas residuais e em águas de rios tratadas com ozônio, concluiu que em todas, mesmo tratadas para consumo, houve crescimento de bactérias (VITAL et al., 2010).

Os processos usuais de desinfecção das águas via reagentes clorados não são suficientes para garantir a sua segurança de consumo e armazenamento, pois, mesmo em amostras de águas tratadas ocorre crescimento de colônias de bactérias (VITAL et al., 2010). O método de tratamento via cloração não eliminam das águas os contaminantes virais e bacteriológicos, mas sim os tornam inativos via oxidação e solubilização, portanto, seus resíduos estruturais persistem no meio aquoso. Para a

eliminação de vírus, bactérias e seus resíduos nas águas, uma alternativa é a associação de métodos de tratamento, como a desinfecção e a adsorção. A adsorção nesse contexto pode ser aplicada a partir das características específicas da superfície proteica do corpo a ser adsorvido.

É possível afirmar que atualmente o planeta enfrenta um problema em cadeia quanto a poluição das águas. A medida que as pessoas adoecem por contato com vírus e bactérias presentes nas águas são submetidas a tratamentos com fármacos, como antibióticos. Esses medicamentos são metabolizados no organismo humano e uma parte é excretada fisiologicamente, nesse momento eles se tornam, também, contaminantes dos efluentes. Funke et al. (2015) estudou o oxipurinol, espécie excretada a partir do consumo do agente anti-gota alopurinol, que em águas residuais brutas apresentou concentração de até 26,6 mg L⁻¹ e nas águas tratadas de 2,3 mg L⁻¹ a 21,7 mg L⁻¹. Szekeres et al. (2017) detectou abundância de antibióticos, genes de resistência a antibióticos e bactérias em efluentes de águas residuais de hospitais. As concentrações de antibióticos variaram entre 3,67 e 53,05 mg L⁻¹, sendo as classes de antibióticos mais abundantes β -lactâmicos, glicopeptídeos e trimetoprima.

Dentre os medicamentos constatados como contaminantes das águas, oxipurinol (FUNKE et al., 2015), β -lactâmicos, glicopeptídeos e trimetoprima (SZEKERES et al., 2017), existem similaridades estruturais, todos são moléculas orgânicas com grupos funcionais nitrogenados ativos, amina e/ou amida, além dos grupos oxigenados, hidroxila e/ou carbonila e/ou éter, essas portanto, são características semelhantes as das proteínas e que podem ser aproveitadas para a adsorção dessas substâncias em superfícies sólidas. Assim, é possível que uma superfície que adsorva proteínas também possa adsorver bactérias, vírus, certos medicamentos nitrogenados e oxigenados, espécies proteicas ou compostas por aminoácidos.

O descarte de resíduos contendo diretamente moléculas de proteínas são, também, uma fonte poluidora a qual ganha destaque nos estudos de reaproveitamento, ou seja, cientistas buscam formas de incorporar aos processos de produção a reciclagem das águas e o beneficiamento dos resíduos de proteínas,

gerando renda sustentável e eliminando as proteínas da massa de matéria orgânica poluidora.

Petruccioli (2011) chama atenção para as altas concentrações de compostos orgânicos, em especial as proteínas, em águas residuais da agricultura e beneficiamento de alimentos, apontam os ganhos econômicos e ambientais da reciclagem de água, além da própria água, alguns componentes residuais como açúcares, ácidos, moléculas aromáticas (polifenóis, pigmentos, etc.), proteínas, gorduras e assim por diante, podem ser diretamente recuperados ou aprimorados por fermentação ou bio-transformação, a exemplo a recuperação da lactose e proteínas do soro de leite.

Kurup, Adhikari e Zisu (2019) recuperaram 96% de lipídios e 46% de proteínas, principalmente caseína, do esgoto de um laticínio, aplicando lignosulfonato de sódio como coagulante de baixo custo. Reduziram a turbidez em 98% em pH 3,5 e nas temperaturas de 22 e 40 °C e a demanda bioquímica de oxigênio em 73% a 22 °C. Das et al. (2015) utilizou o processo de ultrafiltração e nanofiltração para separar até 90% da lactose e 80% da caseína a partir do soro do leite residual, podendo reutilizar por várias vezes as membranas de filtração sem incrustação, agregando alto rendimento e pureza ao método.

A produção de alimentação animal a partir de resíduos alimentares humanos ricos em proteínas já é uma realidade vantajosa ambientalmente, economicamente e nutricionalmente com crescente interesse por parte da legalização de resíduos alimentares (SALEMDEEB et al., 2017). Um estudo recente recuperou proteínas por precipitação a partir das águas residuais de matadouros de peixes, de bovinos, de aves e de cabras a fim de implementá-las em rações animais. Proteínas do sangue foram majoritárias (albuminas e globulinas) e os teores de aminoácidos essenciais, principalmente a leucina, foram superiores aos de aminoácidos não essenciais (BETHI et al., 2020).

Buscando a redução e valorização da carga de matéria orgânica nas águas Hwang et al. (2008) aplicou solubilização, ultra-sonicação e tratamento alcalino para recuperar proteínas a partir de lodos dos esgotos domésticos, a BSA foi utilizada como padrão para caracterização e quantificação das proteínas e o isolado proteico

mostrou potencial para alimentação animal, sendo possível identificar até 2626 mg de proteínas por litro de rejeitos que continha 4740 mg de sólidos solúveis totais.

A ciência busca alternativas para a recuperação de proteínas a partir de fluxos de produções, como do Polihidroxialcanoato (PHA), o bioplástico, que é liberado junto com proteínas microbianas do interior das células vegetais. Após a separação dos PHA, técnicas de precipitação são comumente usadas para recuperar as proteínas, como a isoelétrica, via solventes orgânicos, polímeros não iônicos ou íons metálicos polivalentes, todos são dependentes de ajustes nas condições do meio antes de inserir o agente de separação ao fluxo. A filtração por membrana é uma alternativa em expansão para tratamento de fluidos residuais proteicos, no entanto, ela normalmente precisa ser aliada a outros processos e ainda tem alto custo. Sobretudo, o custo benefício é apontado como positivo, e como ainda é alto o custo da geração do PHA, agregar valor ao seu fluxo pode impulsionar a sua inserção no mercado (YADAV et al., 2020).

A recuperação de proteínas, lipídios, compostos polifenólicos, dentre outros, a partir de resíduos líquidos e sólidos do processamento de grãos de consumo e produção mundial se mostra uma tarefa difícil, mas com avanços, assim, proteínas vegetais são obtidas dos subprodutos dos cereais arroz, milho, trigo e cevada, comumente preparadas por extração alcalina e precipitação, no entanto, ainda é um processo de alto custo e baixa aplicação, sendo a biorrefinaria mais lucrativa para aproveitar esses subprodutos (BALANDRÁN-QUINTANA, 2018). Tenorio et al. (2016) aplicou prensagem mecânica, precipitação térmica e centrifugação para a extração de proteína total de folhas de beterraba sacarina, o sobrenadante produziu 26,7% em peso da proteína foliar, sendo possível isolar 6% da proteína total com pureza de 90%.

A recuperação de proteínas de efluentes e resíduos de produção demanda de tecnologia, de energia, e de reagentes, além de planejamento ou replanejamento dos modos de produção e tratamento dos fluidos. Todavia, para Yadav et al. (2020) as vantagens econômicas e ambientais são grandes, pois o produto recuperado deixa de contribuir para o aumento da matéria orgânica poluente das águas para gerar renda na produção de alimentos animal e humano, na produção de géis e adesivos, entre outros.

As fontes de contaminantes proteicos para as águas são difusas e a ciência mostra a necessidade de se tratar os efluentes tendo atenção para a separação dessas espécies, sejam proteínas puras ou agregadas na formação de microrganismos, especialmente aqueles nocivos à saúde, como vírus e bactérias.

3.2 Adsorção de proteínas

Tradicionalmente a separação de proteínas é realizada pelos métodos de cromatografia, precipitação, eletroforese e ultrafiltração, que apesar de realizarem essa tarefa, os fazem com excessivo consumo de tempo, verba, reagentes e energia. Assim, a adsorção vem sendo executada como um método vantajoso por tratar-se de uma transferência de matéria a partir do grau de afinidade entre as espécies postas em contato físico favorável. A adsorção representa um fenômeno de transporte de massa de uma substância (adsorbato) para a superfície de um sólido adsorvente, esse é capaz de remover certa(s) substância(s) a partir de um fluxo, por meio de forças de Van der Waals e/ou reação química (TIEN, 2019).

Ramsden (1993) descreveu uma série de questões básicas conhecidas até aquele momento acerca da adsorção de proteínas, todavia, afirmou que as respostas para o assunto ainda eram controversas apesar de prósperas. Relatou que se pode considerar o padrão de proporcionalidade inversa entre a área de uma proteína e a quantidade adsorvida da mesma em uma superfície sólida, que não se pode generalizar a ocorrência da desnaturação proteica e perda de atividade devido à adsorção, mas que existe uma relação direta entre a perda ou redução da atividade de proteínas adsorvidas com a ocupação ou impedimento estérico de sítios ativos específicos, portanto, o fenômeno de adsorção já era descrito com base nos grupos funcionais componentes do adsorbato e adsorvente.

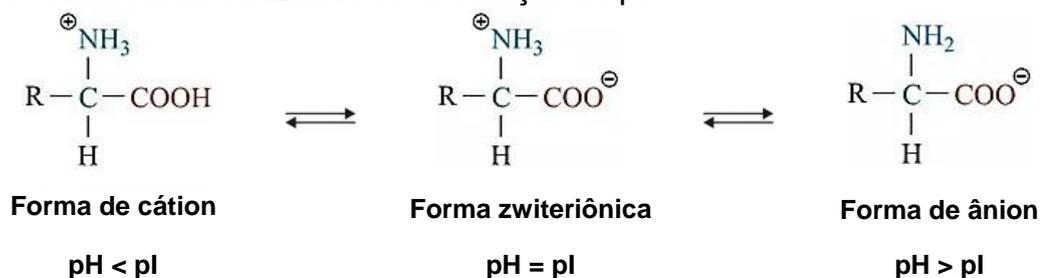
Em um trabalho atual Coglitore, Janot e Balme (2019) discutiram alguns aspectos acerca da adsorção de proteínas, reafirmando características já conhecidas, como as descritas por Ramsden (1993), e apontaram que a atualidade possui maiores condições tecnológicas de descrever a complexidade de cada caso de adsorção, no entanto, generalizar os moldes da sua ocorrência é incoerente devido a variedade de proteínas e conformações das mesmas, além das inúmeras forças

envolvidas no fenômeno. Cada caso, portanto, deve ser estudado de acordo as suas especificidades, ainda que alguns padrões sejam conhecidos.

A adsorção de uma proteína possui vários fenômenos, que podem ser decompostos como subprocessos, no primeiro ocorre a alteração no estado de hidratação tanto para o solvente e a superfície da proteína, seguido pela redistribuição de grupos carregados e finalizado pelo rearranjo na estrutura da proteína (COGLITORE; JANOT e BALME, 2019). Todos esses fatores associados contribuem para a efetividade do processo de adsorção, bem como podem impedir a ocorrência da mesma, portanto, a modelagem das condições do meio de adsorção em função da natureza do adsorvente e adsorbato são fundamentais.

Para a adsorção de proteínas o ponto isoelétrico (pI) é fundamental (LI et al., 2013). A protonação ou desprotonação por grupos funcionais dos aminoácidos é decorrente da variação de pH que ioniza as espécies em (NH_3^+) ou (COO^-) e no pI os dois grupos encontram-se ionizados, ou seja, a concentração do íon dipolar é máxima e as concentrações dos ânions e cátions são iguais, segue Figura 1 abaixo mostrando um aminoácido em estrutura geral como exemplo, saindo da sua forma catiônica, passando pela zwitteriônica, no seu no pI, chegando a forma aniônica, todas dependentes da variação do pH (SOLOMONS; FRYHLE, 2009).

Figura 1 - Aminoácido ionizando-se em função do pH



Fonte: modificado de Solomons e Fryhle (2009)

Segundo Li et al. (2013) além do pI demais parâmetros como temperatura (T), superfície de contato (S) e o potencial hidrogeniônico (pH), todos são capazes de ativar ou desativar sítios ativos tanto no adsorvente quanto no adsorbato. O processo de adsorção está associado à disponibilidade de sítios ativos tanto no adsorvente como no adsorbato com afinidade química ou física entre eles, assim, a modificação ou o pré-tratamento do material adsorvente, o enriquecimento químico

do mesmo por adição de algum dos seus componentes, são técnicas possíveis e já empregadas capazes de aumentar a resposta experimental.

Os estudos cinéticos e isotérmicos são vias que contribuem para a compreensão do processo de adsorção e suas variações em função do meio, natureza da superfície e do analito, bem como são viáveis para a comparação dos resultados obtidos por cada estudo. Vogler (2012) aponta que consiste em um erro repetido por vários autores a não confecção de isotermas de adsorção para o tratamento dos dados de adsorção de proteínas.

A adsorção de proteínas tem diferentes finalidades e ocorre sob variadas superfícies, como fez Palladino et al. (2019), usando filmes de polidopamina capazes de adsorver e auxiliar a estimativa do teor de proteína total no soro humano, uma matriz complexa, ou El-Desoky, Ghoneim e Khattab (2019) que desenvolveram um dispositivo eletroquímico a partir de pasta de carbono não tratado (mistura de pó de grafite e óleo de Nujol), biossensor com limite de detecção baixo para plasma humano e octapeptídeo sintético do hormônio da somatostatina adsorventes. Ainda que seja vasta a aplicabilidade da adsorção das proteínas os estudos concentram-se mais em obter resultados satisfatórios da interação sólido-líquido, alguns relatos nem chegam a tentar descrever a forma pela qual a adsorção ocorre naquele sistema em estudo.

O trabalho de Vogler (2012), apesar de focar na físico-química da adsorção de proteínas do sangue em solução tampão aquosa consegue conclusões importantes acerca do que ele nomeou como o "problema da adsorção de proteínas": é controlada pelas relações físicas e químicas entre proteínas/superfície, proteína/proteína, proteína/água e água/superfície; a água modera a adsorção de proteínas a qualquer superfície de forma competitiva, pois, um adsorvente que interage com moléculas de proteínas apresenta características que o leva a, também, se ligar com moléculas de água, provavelmente por ligações de hidrogênio; e a adsorção de uma nova proteína a outra já adsorvida depende do tamanho da proteína, da concentração da solução e da baixa hidrofiliabilidade do adsorvente.

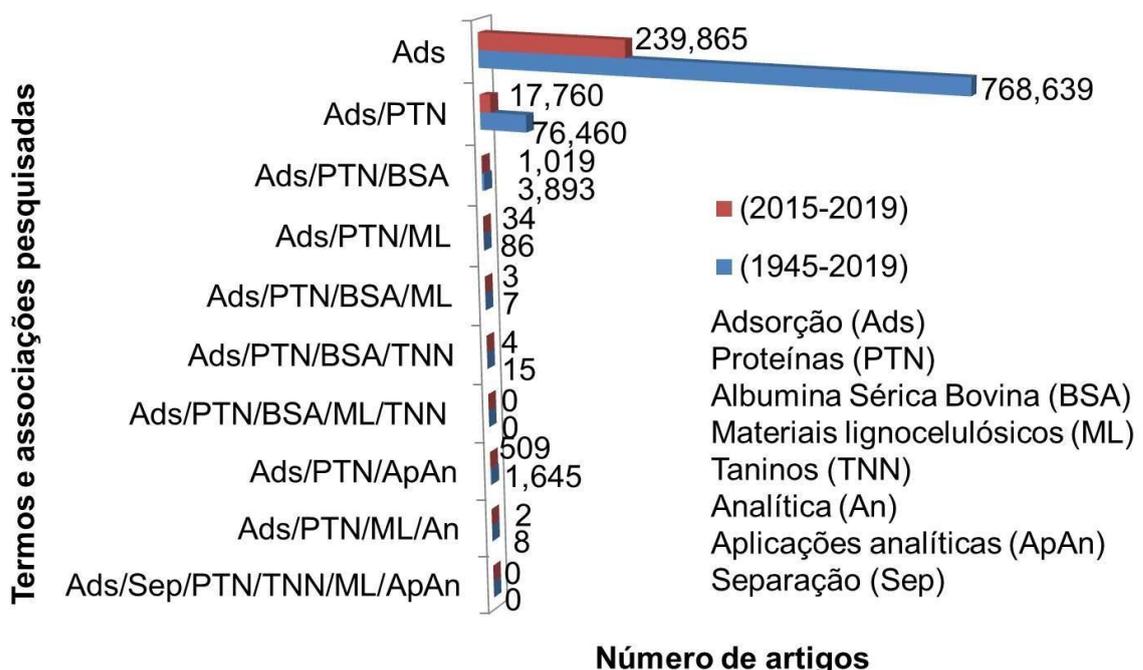
O processo de adsorção começa com a hidratação da superfície adsorvente colocada em contato com a solução aquosa de proteína, essa hidratação forma uma interface entre o adsorvente e a solução de proteína, onde rapidamente moléculas

de proteína difundem-se ocupando os sítios ativos da superfície. O sistema, por sua vez, saturado e buscando o equilíbrio, expulsa uma camada de água e/ou de proteína inicialmente adsorvida. Todo esse movimento de adsorção/desidratação depende de grande quantidade de energia livre do sistema e controla a quantidade máxima de proteína que pode ser adsorvida pelo adsorvente e o tempo para o equilíbrio das reações (VOGLER, 2012).

As interações de proteína em solução com interface sólida têm uma longa história, desde a origem dos novos materiais de alto desempenho para a indústria e essa razão fomenta a sua investigação desde um longo tempo. A adsorção de uma proteína depende da sua estrutura, das propriedades da superfície adsorvente e do meio ao qual estão submetidos e os estudos demonstram que é altamente complicada e mais investigações são necessárias devido, especialmente, a complexidade estrutural das próprias proteínas (COGLITORE; JANOT; BALME, 2019).

A Figura 2 a seguir ilustra os números de produções em formato de artigo disponíveis na base de dados da Web of Science entre 1945 e 2019 acerca do tema adsorção.

Figura 2 - Artigos científicos produzidos acerca de adsorção e adsorção de proteínas associada a adsorventes e aplicações entre 1945 e 05/2019



Fonte: Própria autora a partir do banco de dados da Web of Science em 18/05/2019

Na busca de dados, o termo adsorção foi associado a proteínas, a proteína específica BSA, materiais adsorventes como os taninos e materiais lignocelulósicos e aplicações da adsorção de proteínas, como analíticas.

Em resumo, quanto mais associações foram feitas menos resultados foram encontrados, chama atenção que algumas associações nunca estiveram em um trabalho publicado na base de dados Web of Science, e uma delas carrega palavras chave desse trabalho, adsorção, proteína, BSA, material lignocelulósico e taninos, até mesmo quando essa associação foi feita com material lignocelulósico e taninos separadamente os números de produções foram baixos. Os valores maiores, em comparação com os demais, para as associações de adsorção, proteínas e BSA e para adsorção, proteína e aplicações analíticas estão vinculados ao grande número de trabalhos produzidos com foco no desenvolvimento de tecnologias biomédicas de quantificação.

A produção na área de adsorção de proteínas anseia por investimentos científicos, tanto do desenvolvimento de superfícies, em especial, associadas a utilização de matéria-prima natural e renovável, quanto na produção de teorias ligadas a práticas que baseiem o entendimento dos fenômenos pelos quais ocorrem o processo de adsorção.

3.3 Adsorventes de proteínas

A literatura apresenta trabalhos empenhados em desenvolver adsorventes para proteínas, normalmente baseados em minerais, como feito por Zhou et al. (2018), que imobilizou proteínas com ação inseticidas em superfície de sapiolite. Os polímeros sintéticos modificados ou automontados apresentam vastas aplicações, Sadegh, Sahay e Soni (2019) utilizaram polietersulfona para adsorver Albumina Sérica Bovina (BSA) no intuito de desenvolver material para identificação, separação e purificação proteica.

As finalidades dos estudos de adsorção de proteínas são diversas, as superfícies geralmente desenvolvidas são funcionais, todavia, boa parte demandam altos custos de matéria-prima e tecnologias. Anirudhan e Senan (2011) prepararam uma superfície por enxerto de celulose com poli-(glicidilmetacrilato) contendo grupo

funcional sulfonato e empregaram a lisozima como padrão. Di Palma et al. (2019) desenvolveu a interface sólida por nanofabricação com auto-montagem da β -ciclodextrina bem orientada em monocamada de ouro, o material tem aplicação analítica e médica, formaram complexos reversíveis específicos com aminoácidos hidrofóbicos da superfície das proteínas modelo: citocromo C, insulina, α -quimotripsina e RNase A.

Técnicas de elevado custo são continuamente pesquisadas, como a proposta por Chang et al. (2019), o estudo mostra uma rota para preparar magnetos a partir de nanopartículas compostas por um forte núcleo magnético de Fe_3O_4 e um Ni^{2+} imobilizado na casca externa revestida com polietilenoimina carboximetilada, formada por interações entre eletrólito polianiônico de polietilenoimina carboximetilada e superfície carregada positivamente de SiO_2 modificada com 3-(trimetoxisilil) propilamina, esse adsorvente foi efetivo em separação específica de proteínas em meio laboratorial e prático a partir da interação coordenativa com os seus resíduos de aminoácidos (por exemplo, histidina) quando marcados com íons metálicos biocompatíveis.

Em um processo de adsorção o adsorvente tem relevância decisória, ele deve ser adequado para as especificidades do adsorbato em estudo e a aplicação a que se destina. A atualidade exige além da funcionalidade do produto o uso de matérias-primas renováveis e de tecnologias mais acessíveis, que consumam menos reagentes no seu preparo.

3.3.1 Matéria-prima renovável no preparo de adsorventes

Os materiais lignocelulósicos são uma matéria-prima vegetal abundante e renovável que apresentam crescente aplicação enquanto adsorventes, tendo vasta pesquisa para sua funcionalidade em remover metais de soluções aquosas, mas também, em adsorver moléculas orgânicas, como corantes, glicose ou colesterol. Alguns desses estudos estão sintetizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Materiais lignocelulósicos como adsorventes

Adsorvente	Matéria-prima	Adsorbato	Quantificação da adsorção	Aplicação	Fonte
Fibras lignocelulósicas	Sementes da Árvore <i>Moringa Oleifera</i>	Ag ⁺ (aq)	Espectrofotometria de absorção atômica por chama	Tratamento de água	(ARAÚJO et al., 2010)
Fibras lignocelulósicas	casca de coco, cacau e de eucalipto	Cd ⁺² (aq) e Cu ⁺² (aq)	Espectrofotometria de absorção atômica	Tratamento de água	(LUZARDO et al., 2015)
Resina sintética	Taninos, fibras vegetais de coco e nanotubos de carbono	Pb ⁺² (aq)	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia	Tratamento de água	(LUZARDO et al., 2017)
Fibras lignocelulósicas	Serragem de madeira e cascas de coco verde	Remazol vermelho e Remazol Violeta Brillante	Espectroscopia UV-Vis	Tratamento de efluente de indústria têxtil	(MONTEIRO et al., 2017)
Fibras lignocelulósicas	Cascas de coco, banana e eucalipto; pó de café usado; piaçava e aguapé	Pb ²⁺ (aq) e Ni ²⁺ (aq)	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia	Tratamento de água	(CORREIA et al., 2018)
Fibras lignocelulósicas	Panax ginseng	Glicose, colato de sódio, nitrito e colesterol	Espectroscopia UV-Vis	Processamento de alimentos	(HUA et al., 2019)
Fibras lignocelulósicas	Cascas de banana e eucalipto; espiga e folha de milho	Pb ²⁺ (aq) e Ni ²⁺ (aq)	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia	Tratamento de água	(SANTOS et al., 2019)
Fibras lignocelulósicas	Aguapé	Pb ²⁺ (aq), Ni ²⁺ (aq) e Zn ²⁺ (aq)	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia	Tratamento de água	(NERIS et al., 2019b)
Papel de filtro qualitativo e quantitativo, membrana de éster de celulose e fibra de vidro	Celulose e vidro	Co ²⁺ , Cr ³⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ e Pb ²⁺	Técnica de Pontos Secos em Microextração Líquido-Líquido por Dispersão e Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia	Análise de solos	(ALMEIDA et al., 2018)

Materiais lignocelulósicos são um tipo de matéria-prima de baixo custo, pois podem ser aproveitados dos chamados rejeitos em processos de produção, são

encontrados em folhas, cascas, sementes, raízes, bagaços. Os processos de produção continuamente geram resíduos que não são reaproveitados com a mesma frequência (TYE et al., 2016; DHABHAI; NIU; DALAI, 2018). Assim, toda tecnologia aplicada no reaproveitamento de biomassas propicia impactos positivos em distintas áreas sociais, econômicas, ambientais e científicas.

A matéria lignocelulósica é composta de estruturas poliméricas de celulose, hemicelulose e lignina, bem como de taninos. Taninos vegetais, comerciais ou na forma de ácido tânico, são empregados em processos de interação com distintas substâncias e em especial com as proteínas (MCMANUS et al., 1985; BEART; LILLEY; HASLAM, 1985; HASLAM, 2007; LACOSTE et al., 2015; PIZZI, 2019; BRAGHIROLI et al., 2019). A interação tanino-proteína é conhecida e utilizada para diversos fins, como proteção de materiais, separação e detecção de proteínas ou modelagem de estruturas biocompatíveis. A Tabela 2 apresenta algumas aplicações.

Tabela 2 - Interações de taninos com proteínas e outras substâncias

Interação	Observado	Fonte
Tanino vegetal-BSA	Complexos que mudaram a estrutura secundária da BSA	(SEKOWSKI et al., 2018)
Tanino vegetal - proteína do soro do leite	Complexos insolúveis empregados na produção de têxteis de algodão antimicrobiano	(SRISOD et al., 2018)
Polímero salivar - ácido tânico	Cobertura de implantes dentários com filmes que impediram a adsorção de proteínas	(YANG et al., 2017)
Poli(sulfobetaina metacrilato)-ácido tânico	Superfícies resistentes as proteínas testadas: BSA, Lys e Hgb	(REN et al., 2015)
Sílica mesoporosa hexagonal-ácido tânico	Adsorção da BSA em meio aquoso	(BAZZAZ et al., 2018)
BSA-ácido tânico(TA)-pepsina-TA	Adsorção de proteínas do leite geraram microcápsulas para bioativos alimentares	(LAU et al., 2017)
Tanino-poli(glicidilmetacrilato)-celulose-óxido de zircônio	Adsorvente seletivo para BSA em pH 4,8	(ANIRUDHAN; REJEENA; THARUN, 2012)
Resina taninos-quitosana-Ce⁴⁺	Adsorção de proteínas em bebidas	(LI et al., 2010)

Tanto os resíduos lignocelulósicos quanto os taninos, são adsorventes com potenciais comprovados em distintas pesquisas, inclusive para adsorbato proteico. Assim, o uso desses componentes para o desenvolvimento de adsorventes

destinados a proteínas é um campo a ser aprimorado. Existem trabalhos consolidados que podem ser ponto de partida para o desenvolvimento de adsorvente para proteína, como o patenteado por Luzardo et al. (2004), trata-se de um método de imobilização do tanino componente da fibra lignocelulósica na própria fibra por meio da reação do hidrogênio livre na posição alfa do aldeído (formaldeído) com os compostos polifenólicos da fibra. O produto foi aplicado obtendo bons resultados como adsorvente de metal em água.

3.4 Taninos

Há muito tempo existe o conhecimento, bem como a utilização, das características especiais dos taninos frente a biomoléculas. Um exemplo é o curtume de peles, que usava para isso cascas, serragem ou lascas de árvores que continham compostos tanantes. Com desenvolvimento científico e tecnológico essa atividade foi otimizada inserindo outros agentes, extratos de taninos naturais, compostos fenólicos sintéticos e sais foram substituindo o tratamento artesanal (HASLAM, 2007).

Desde o antigo ofício de curtir peles com substratos naturais muito se avançou, os métodos de extração de taninos vem evoluindo e a atualidade corresponde a um período onde as investigações acerca das particularidades desse grupo de moléculas fenólicas ainda precisam avançar, mas, propiciaram, dentre outros, o desenvolvimento de adesivos, espumas e resinas. “Sejam com taninos puros ou modificados a elaboração de novos materiais está em pleno desenvolvimento” (PIZZI, 2019).

3.4.1 Taninos vegetais

Taninos são compostos fenólicos que compõe a biomassa lignocelulósica junto com a celulose, hemicelulose, lignina, proteínas vegetais, entre outros, todos em percentuais variáveis com a espécie. Os taninos são encontrados em todo o mundo e em famílias diferentes das plantas e estão em diversas partes da mesma, madeira, cascas, folhas, frutos, sementes, raízes (PIZZI; STEPHANOU, 1993; PIZZI 2019).

Por conta da capacidade de imobilizar proteínas os taninos possuem caráter tóxico para alguns seres e reduzem a potencialidade nutricional em alimento, no entanto, estudos apontam outras características tânicas, como atividades biológicas, incluindo antimicrobiana, antiparasitária, antiviral, antioxidante e anti-inflamatória (CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998). Essas propriedades já foram testadas e podem ser aproveitadas para melhorar a alimentação animal quando ofertadas em concentrações não tóxicas (HUANG et al., 2018).

O Brasil já explora comercialmente os potenciais de espécies para a extração de taninos comerciais, como a *Acacia mearnsii*, da qual é extraído o tanino mimosa pela TANAC S. A. Espécies nativas do semiárido brasileiro aprestam teores tânicos a serem testados para curtir pele, como cascas de algaroba (*Prosopis juliflora*), angico vermelho (*Anadenanthera colubrina var. cebil*), cajueiro (*Anacardium occidentale*), jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), jurema vermelha (*Mimosa arenosa*) e marmeleiro (*Croton sonderianus*) (PAES et al., 2006). Os taninos já são buscados em espécies de grande produção nacional e mundial, o eucalipto é um dos principais exemplos (PAES et al., 2006; SANTIAGO et al., 2019).

As plantas acumulam uma grande variedade de compostos secundários, incluindo os fenólicos, eles têm atividades biológicas que variam da toxicidade à imitação hormonal e podem desempenhar um papel na proteção das plantas de herbivoria e contra doenças. O metabolismo fenólico nas plantas é complexo e produz uma ampla variedade de compostos que variam desde pigmentos florais (antocianidinas) aos fenólicos complexos da parede celular da planta (lignina). No entanto, os taninos se distinguem claramente pela sua reatividade química e atividades biológicas (HAGERMAN, 2002; KHANBABAEE; REE, 2001).

3.4.2 Química dos taninos

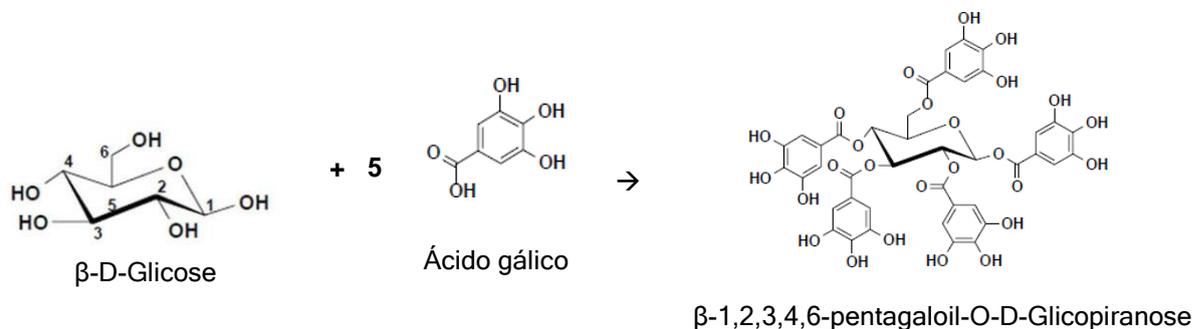
Os taninos são metabólitos secundários polifenólicos de plantas, solúveis em água, com pesos moleculares entre 500 e 3000 Daltons, que além das reações fenólicas usuais, apresentam propriedades especiais, como a capacidade de precipitar alcaloides, gelatina e outras proteínas. Os taninos podem ser classificados em três classes de acordo as suas estruturas de formação química, os hidrolisáveis, os condensados e os oligoméricos complexos, todavia, essas classes apresentam

subclasses em função da diversidade de possibilidades estruturais e reacionais dos taninos na natureza (McMANUS et al., 1985; BEART; LILLEY; HASLAM, 1985; HASLAM 2007; KHANBABAEE e REE, 2001).

3.4.2.1 Taninos hidrolisáveis

Os taninos hidrolisáveis se subdividem em galotaninos e elagitaninos, os primeiros são formados por ligação de esterificação dos grupos hidroxila da glicose com o ácido carboxílico do ácido gálico, ou seja, são ésteres poligaloílicos de glicose formados por ligação éster alifática (HASLAM, 2007). Um galotanino protótipo é a pentagaloil glicose (β -1,2,3,4,6-pentagaloil-O-D-Glicopirranose) ou PGG (Figura 3). Nas unidades de galoil ou seus derivados são encontradas ligações de esterificação depsídicas em posições *para* ou *meta* nos grupos hidroxila fenólicos. A ligação depsídica é hidrolisada mais facilmente do que uma ligação éster alifática (HAGERMAN, 2002).

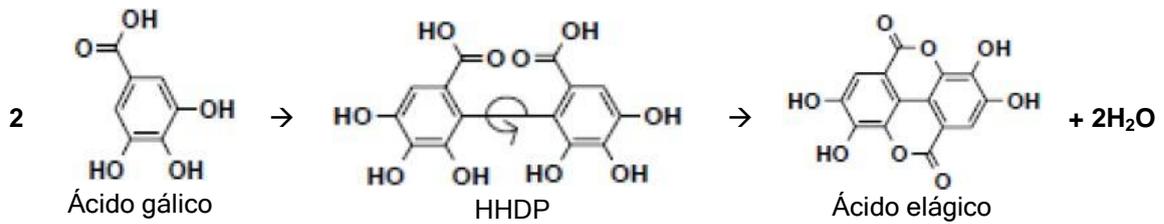
Figura 3 - Formação de um galotanino



Fonte: modificado de Hagerman (2002)

Elagitaninos são os taninos em que pelo menos duas unidades de galoil acoplam-se por ligação C-C formando o ácido hexahidroxi difênico (HHDP), os rearranjo estrutural seguido de duas oxidações liberam H₂O em cada uma delas e deriva no ácido elágico (Figura 4), que é um éster do ácido hexahidroxi difênico. Os elagitaninos, então, são formados por acoplamento oxidativo dos galotaninos que são glicosilados (HAGERMAN, 2002; KHANBABAEE e REE, 2001) (Figura 4).

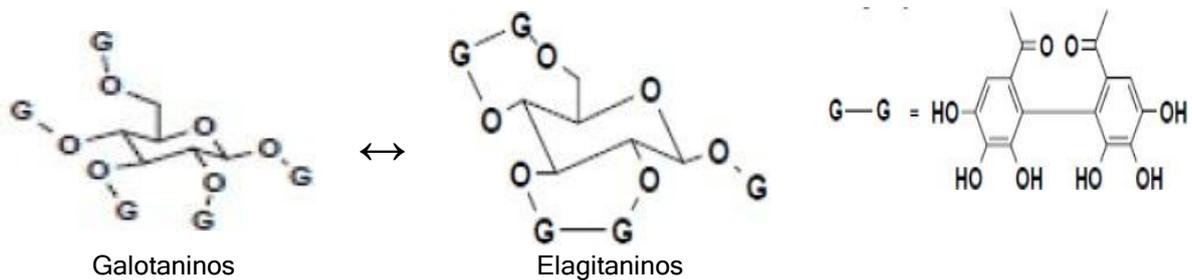
Figura 4 - Formação do ácido elágico a partir do gálico



Fonte: modificado de Hagerman (2002)

Existem inúmeras formas estruturais que se caracterizam como elagitaninos, isso de deve as distintas possibilidades de acoplamento C-C intramolecular para formar HHDP, as várias conformações da D-glucose para formar galotaninos e posteriores elagitaninos, o equilíbrio existente entre os ácidos HHDP e elágico, bem como a interação desses polifenóis com outras espécies presentes no meio (KHANBABAEE e REE, 2001). Em resumo, a partir de galotaninos podem se formam os elagitaninos e vice-versa, como ilustra a Figura 5.

Figura 5 - Representação de galotaninos e elagitaninos

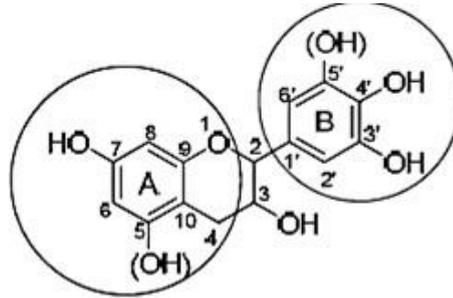


Fonte: modificado de Hagerman (2002)

3.4.2.2 Taninos condensados

Os taninos condensados são oligoméricos, flavonoides poliméricos, capazes de sofrer poli condensação. Os flavonoides são uma diversidade de grupos de metabólitos baseado em um sistema de anel heterocíclico derivado da fenilalanina (B) e biossíntese de policetídeos (A) (KHANBABAEE e REE, 2001). A unidade estrutural fundamental do grupo dos flavonoides é o núcleo fenólico de flavan-3-ol (catequina) (Figura 6) (OKUDA, 2005).

Figura 6 - Núcleo fenólico da catequina



Fonte: modificado de Arbenz e Avérous (2015)

A estrutura do monoflavonoide mostra que é possível ter duas configurações para cada anel A e B com as distintas combinações possíveis para cada anel que contenha ou não outra hidroxila fenólica nas posições 5.

Os taninos condensados podem ser reclassificados de acordo a estrutura do anel A, portanto, se subdividindo em resorcinólicos, com um único grupamento hidroxila no anel A, e fluroglucinólicos, que possuem duas hidroxilas nesse anel (ARBENZ e AVÉROUS, 2015). De acordo com Pizzi (2003) os centros nucleofílicos do anel A são geralmente mais reativos do que aqueles do anel B. Isto é devido à posição do OH presente nos anéis, que elevam essa diferença na reatividade com o maior impedimento estérico, no caso do anel A, ele possui estrutura de ressonância que gera um centro nucleofílico altamente reativo, contrário ao caso do anel B.

A condensação dos monômeros flavan-3-ol dá-se principalmente através das posições 4 de uma catequina com a 8 de outra catequina monomérica, podendo também ocorrer no carbono 6. Essas interações podem dar-se em configuração alfa ou beta em função do resíduo da posição 4 (BEART; LILLEY; HASLAM, 1985; PIZZI; STEPHANOU, 1993; HAGERMAN, 2002).

O tanino mimosa extraído a partir da *Acacia mearnsii* pela empresa brasileira TANAC S/A é um tanino natural condensado, com absorção na região ultravioleta em 282 nm, apresentou 80% de polifenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu (GRASEL; FERRÃO; WOLF, 2016a). Estudos por meio de espectroscopia de refletância total atenuada universal no infravermelho com transformada de Fourier complementaram a caracterização. Variando de 3500-3100 cm^{-1} aparece a soma do alongamento -OH derivado de diferentes ambientes químicos, característico das

hidroxilas dos extratos polifenólicos, no entanto, a identidade do amostra é apresentada nas demais absorções (GRASEL; FERRÃO; WOLF, 2016b).

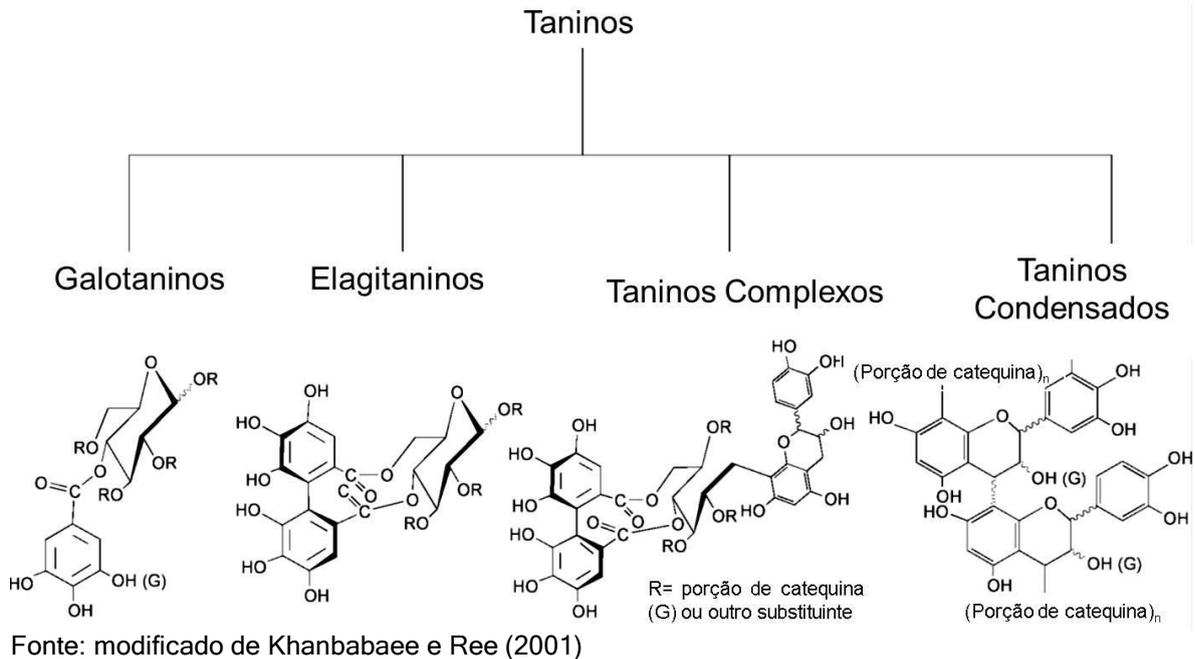
O tanino mimosa da TANAC S/A absorve em regiões que são específicas de taninos condensados com sinal forte em 1284 cm^{-1} , médio em 1311 cm^{-1} e ombro em 1340 cm^{-1} características de alongamento ao C-O do anel C pirano, típico dos flavonoides. Identificados também nas absorções ombro em 975 cm^{-1} e muito forte em 1023 cm^{-1} . Em 1068 cm^{-1} o sinal médio e fraco em 1109 cm^{-1} foram duas bandas bem definidas de deformação no plano em C-H de anel aromático. Na região de deformação C-H para fora do plano a acácia negra exibiu sinais fracos em 732 cm^{-1} e 767 cm^{-1} e fracos em 804 cm^{-1} e 895 cm^{-1} e sinal de média intensidade em 844 cm^{-1} , enquanto os sinais eram baixos para os outros cinco taninos analisados nesta região (GRASEL; FERRÃO; WOLF, 2016b).

3.4.2.3 Taninos complexos

A classe dos taninos complexos é pouco citada nas obras de categorização desse grupo polifenólico, essa pode ser uma consequência das suas características, pois, segundo os autores que já lhe classificaram, ele apresenta unidades formadoras residuais dos taninos hidrolisáveis e condensados. Para Okuda (2005) taninos complexos formam-se entre elagitaninos mais complexos e um flavan-3-ol (unidade catequina) por ligação C-glicosídica. Khanbabaee e Ree (2001) acrescentam que a ligação pode ser, também, com galotaninos. Vista a relação de acoplamento que é possível entre das unidades galoil para formar unidades elágicas na estrutura do tanino hidrolisável, então, as definições induzem a uma complementação.

De forma simplificada as estruturas dos taninos hidrolisáveis (galotaninos e alagitaninos), condensados e complexos são resumidas na Figura 7.

Figura 7 - Esquema ilustrativo das classes de taninos



3.4.3 Interação tanino-proteína

As interações proteínas-taninos ocorrem através de ligações de hidrogênio entre os grupos fenólicos dos taninos e os sítios ativos dos aminoácidos, além de interações hidrofóbicas e hidrofílicas, que somadas conferem uma duradoura estabilidade aos complexos de tanino e proteína. Esses podem, em alguns casos, serem identificados qualitativamente via precipitação e quantitativamente, pois um mol de tanino condensado pode complexar doze mols de proteínas (CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998).

O uso das ligações entre taninos e proteínas é bem conhecido, especialmente para converter peles de animais em couro por meio das interações dos grupos fenólicos com os grupos funcionais do colágeno da pele, que é uma proteína rica em aminoácido prolina e resíduos de hidroxiprolina (CODORNIU-HERNÁNDEZ, 2003).

As atividades biológicas dos taninos também são conhecidas e estão ligadas as interações tanino-proteínas. A ação bactericida dos compostos tânicos deve-se a complexação das proteínas dentro das membranas bacterianas, neutralizando sua atividade, produtos farmacêuticos a base de tanino para curar infecções intestinais são comercializados há muito tempo (PIZZI, 2019). Artan et al. (2008) relatou a

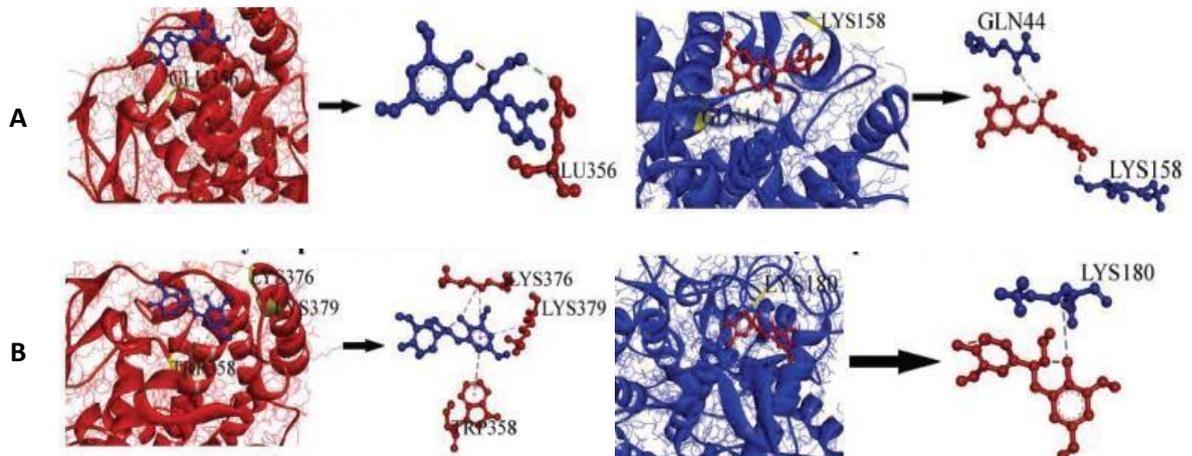
atividade inibitória do Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 1 (HIV-1) do derivado de floroglucinol 6,6'-bieckol, classificado como florotanino, extraído da alga marinha *Ecklonia cava*. Esse tanino não exibiu citotoxicidade em concentrações que inibiram a replicação do HIV-1 quase completamente.

Para a formação das ligações tanino-proteína é necessário que o peso molecular dos taninos esteja compreendido entre limites bem definidos; se este é demasiadamente elevado, a molécula não pode se intercalar entre os espaços interfibrilares das proteínas ou macromoléculas; se é muito baixo, a molécula fenólica se intercala, mas não forma um número suficiente de ligações que assegure a estabilidade da combinação, é dependente do pH e ocorre idealmente em torno do ponto isoelétrico da proteína (SEIGLER, 1988; SPIEGLER; LIEBAU; HENSEL, 2017).

A capacidade de um tanino em precipitar proteínas depende também de número relativo e orientação de grupos hidroxila, estrutura, solubilidade e facilidade de oxidação do tanino. Geralmente, proteínas são precipitadas mais prontamente por taninos condensados (SEIGLER, 1998). A precipitação de proteínas por taninos hidrolisáveis recebe menores atenções, somada a sua menor abundância a ligação à proteína é, em parte, uma função do tamanho molecular, bem como da mobilidade e flexibilidade conformacional (McMANUS et al., 1985; SEIGLER, 1988).

Em estudo recente para explorar as prováveis interações entre inibidor (tanino) e tirosinase (enzima produtora de melanomas) Chai et al. (2018) usou catequina e epicatequina de taninos condensados de *Vigna angularis* como ligantes. A catequina realizou ligação de hidrogênio com o anel B do resíduo Glu356 e interações hidrofóbicas com Trp358, Lys376 e anel B do Lys379, a epicatequina realizou ligação de hidrogênio com Gln44 e anel A do Lys158 e interações hidrofóbicas com anel A da Lys180. As ligações de hidrogênio são ilustradas na Figura 8A enquanto as interações hidrofóbicas pela Figura 8B.

Figura 8 - Interações de resíduos de aminoácidos com monômeros catequina



(A) ligações de hidrogênio; (B) interações hidrofóbicas
 Fonte: modificado de Chai et al. (2018)

A interação entre taninos e proteínas está intrinsecamente ligada aos aminoácidos que a compõe. Nesse sentido, Codorniu-Hernández et al. (2005) realizou um estudo de química computacional direcionado a entender as interações de cada um dos 20 aminoácidos essenciais frente a monômeros de taninos condensados. A pesquisa concluiu que todos os complexos analisados foram termodinamicamente estáveis; os aminoácidos hidrofílicos, principalmente os carregados em pH fisiológico, têm uma grande afinidade com flavonoides; ocorreram interações hidrofílicas e hidrofóbicas; as cadeias terminais de flavonoides oligoméricos (posição 6 livre em espécies resorcinólicas e posição 4 livre nos fluoroglucinólicos) têm uma maior estabilidade termodinâmica.

O estudo de Codorniu-Hernández et al. (2005) usou método semi-empíricos para calcular os valores de energias de associação, que foram maiores nas interações hidrofílicas com flavonoides. Evidenciaram que os cinco primeiros aminoácidos com os melhores valores médios de energias de associação e constantes de estabilidade pertencem aos grupos de aminoácidos 4 - Hidrofílicos Ácidos (Ácido aspártico (Asp, D) e ácido glutâmico (Glu, E)) e 5 - Hidrofílicos Básicos (Lisina (Lys, K), histidina (His, H) e arginina (Arg, R)), que apresentam características hidrofílicas notáveis. A ordem de afinidade para a interação entre os aminoácidos essenciais e os flavonoides dá-se por: Histidina (His, H), Arginina (Arg, R) todas maiores que Triptofano (Trp, W), Leucina (Leu, L), Glutamina (Gln, Q), Asparagina (Asn, N) e Fenilalanina (Phe, F).

3.4.3.1 A albumina sérica bovina/*bovine serum albumin* (BSA)

A BSA é uma macromolécula de interesse econômico e científico, comumente usada como proteína padrão em desenvolvimento de pesquisas com proteínas, tem sido amplamente utilizada na preparação de micro/nanopartículas com tamanhos e funções variadas, como para entrega de fármacos ou nutrientes, e isso se deve à sua biodegradabilidade, não toxicidade e não imunogenicidade (PIZZI, 2019).

De acordo com pesquisas depositadas no banco de dados de proteínas (PDB), a albumina é uma proteína transportadora. A estrutura da albumina sérica bovina (BSA) foi caracterizada com dimensão de 2,47 Å (0,247 nm). É uma das proteínas mais utilizadas nas práticas de laboratório, em parte pela sua semelhança com a albumina sérica humana (HSA), exibe 75,8% de identidade estrutural comparado com HSA. O peso molecular da BSA é de aproximadamente 66.4303 Da, possui cadeia polipeptídica única que consiste em identificados 583 resíduos de aminoácidos, sem carboidratos (BUJACZ, 2012). De acordo informação do produto da Sigma-aldrich em pH 5 a 7 a BSA contém 17 pontes dissulfeto intracadeias e 1 grupo sulfidril, seu ponto isoelétrico (pI) em água a 25 °C é de 4,7 a 5.3 e seu pH em solução 1% varia de 5,2 a 7.

Tabela 3 - Percentual de cada aminoácido e de grupos na BSA

Grupos	Aminoácidos	Quantidade	%	%(grupo)
Grupo I: Alifáticos	Alanina (Ala, A)	47	8.06	34.63
	Glicina (Gly, G)	16	2.74	
	Isoleucina (Ile, I)	14	2.40	
	Leucina (Leu, L)	61	10.46	
	Prolina (Pro, P)	28	4.80	
	Valina (Val, V)	36	6.17	
Grupo II: Aromáticos	Fenilalanina (Phe, F)	27	4.63	8.4
	Tirosina (Tyr, Y)	20	3.43	
	Triptofano (Trp, W)	2	0.34	
Grupo III: Contêm Enxofre	Cisteína (Cys, C)	35	6.00	6.7
	Metionina (Met, M)	4	0.70	
Grupo IV: Hidrofílicos Ácidos	Ácido Aspártico (Asp, D)	40	6.87	16.99
	Ácido Glutâmico (Glu, E)	59	10.12	
Grupo V: Hidrofílicos Básicos	Lisina (Lys, K)	59	10.12	16.99
	Histidina (His, H)	17	2.92	
	Arginina (Arg, R)	23	3.95	
Grupo VI: Hidrofílicos Neutrais	Serina (Ser, S),	28	4.80	16.29
	Treonina (Thr, T),	33	5.66	
	Asparagina (Asn, N)	14	2.40	
	Glutamina (Gln, Q)	20	3.43	

Fonte: modificado de Bujacz (2012) e Majorek et al. (2012)

A Tabela 3 relaciona a quantidade de cada aminoácido com relação ao total de 583 aminoácidos da proteína bem como o percentual de aminoácidos em relação ao grupo a que foram categorizados.

A BSA enquanto proteína padrão de pesquisa eleva as possibilidades de análises dos resultados, pois, em sua composição são encontrados os vinte aminoácidos essenciais, portanto, ela representa bem percentuais de composição química de outras proteínas.

Considerando os estudos de Codorniu-Hernández et al. (2005) faz-se promissora a perspectiva acerca da interação da proteína BSA com uma superfície carregada de grupos fenólicos tânicos, de acordo a Tabela 3 a composição da BSA tem grande concentração de aminoácidos hidrofílicos e alifáticos, que segundo os estudos de Codorniu-Hernández et al. (2005) foram os principais grupos que formaram complexos fortes e estáveis quando ligados aos flavonoides testados.

3.5 Taninos no preparo de resinas

Os taninos condensados são facilmente encontrados em comercio na forma, por exemplo, do tanino mimosa da Acacia, e constituem mais de 90% do total produção mundial de taninos comerciais (PIZZI, 2014). Essa classe de polifenóis são quimicamente e economicamente interessantes para a preparação de adesivos e resinas. Seu comportamento químico em relação ao formaldeído é análogo ao dos fenóis simples de baixa reatividade e seu uso como substituto do fenol nas resinas não apresenta dificuldades e é uma linha de pesquisa em amplo desenvolvimento (PIZZI 2019; BRAGHIROLI et al., 2019).

Segundo Pizzi e Stephanou (1993), a fabricação de resinas termoendurecível de taninos poliflavonoides-formaldeído apresenta bom desempenho desde os anos 70 para aplicações industriais como adesivos exteriores fenólicos para madeira. Pesquisas promissoras acerca da aplicação de taninos vegetais em síntese de resinas tanino-formaldeído destinadas à adsorção de íons metálicos em solução vêm sendo realizadas (LIMA et al., 1998; MIRANDA et al., 2000; SENGIL e ÖZACAR, 2009; LUZARDO et al., 2004; 2017). Dada a característica hidrossolúvel

dos taninos, a imobilização dos mesmos para uso em solução aquosa é uma estratégia relevante, ademais, seu uso representa uma substituição natural para reagentes sintéticos e perigosos, como o fenol.

Os taninos condensados naturais são pesquisados como fonte de substituição de diversos monômeros poliméricos, como fez Tondi (2017), preparando resinas destinadas a produção de plásticos a partir do extrato de Acacia Mimosa (*Acacia mearnsii*) em várias condições de concentração, pH e temperatura, além de diferentes polimerizadores, formaldeído, hexamina, glioxal, anidrido maleico, furfural e álcool furfúrico. A pesquisa propiciou conhecer padrões para modelagem das resinas com especificidades para cada endurecedor polimérico e espectros gerados por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) sugeriu que os copolímeros de formaldeído foram os mais reticulados, indicando, dentre outros, que formaram polímeros maiores e mais organizados.

Na reação de taninos poliflavonoides com formaldeído as posições C₆ e C₈ no anel A são os sítios reativos com formaldeído, de acordo as condições usuais sob as quais esses materiais são usados, meio ácido ou básico. Alguma participação na reação com formaldeído pelo anel B pode ocorrer pela natureza do anel. A policondensação dá-se em duas etapas: a reação do aldeído com os sítios ativos do tanino, etapa responsável pelo consumo de aldeído e a posterior liberação do aldeído, disponível novamente para reação. Esta reação é provavelmente devido à passagem de pontes de éter -CH₂ - O - CH₂- instáveis formados inicialmente para ligantes -CH₂- mais estáveis (PIZZI, 2003).

A interação tanino-formaldeído gera uma longa cadeia polimérica de taninos imobilizados, insolúveis, mas com características de reatividade conservadas, bem como se mantem as características de componentes acrescentados, como na resina de tanino Mimosa, formaldeído, fibras de coco e nanotubos de carbono em meio ácido preparada por Luzardo et al. (2017), seu espectro FT-IR apresentou bandas dos grupos CO, OH, C=C relacionadas aos taninos condensados e ligações C-H dos nanotubos, além de grupos funcionais como aril-OH e aril-O-CH indicados como precursores da adsorção metálica.

O trabalho realizado por Luzardo et al. (2017) representa uma nova perspectiva para produção e aplicações das resinas poliméricas de taninos vegetais

enriquecidas com componentes lignocelulósicos e outros. Nessa perspectiva, outros resíduos vegetais podem e precisam ser testados na composição de novos adsorventes.

3.5.1 Eucalipto e taninos

A matéria lignocelulósica vem ganhando grande espaço em pesquisas recentes. A demanda global por matérias-primas renováveis cresce, e esses materiais apresentam grandes potencialidades químicas, físicas e biológicas. Luzardo et al. (2015) aplicou fibras lignocelulósicas como adsorventes, dentre elas as das cascas de eucaliptos híbridos (*Eucalyptus grandis* e *Eucalytus urophylla*). O método de Stiasny quantificou 3,6% de fenóis reativos no extato.

Luzardo et al. (2015) comparou, por meio de espectros FT-IR, o tanino Mimosa com o de eucaliptos híbridos (*Eucalyptus grandis* e *Eucalytus urophylla*), dentre outras similaridades, foi averiguado ambos a presença de benzenos mono, di e para-substituídos com deformações C-H fora do plano, elas aparecem tanto no tanino Mimosa quanto no eucalipto e são correspondentes às proantocianidinas, bem como aos taninos complexos oligoméricos. Bandas intensas confirmaram a presença de aril-OH indicando vibrações nas ligações OH e hidrogênio em polímeros presentes em taninos vegetais.

O eucalipto, considerando que espécies distintas apresentam diferentes proporções dos componentes, é uma espécie a ser explorada mediante suas características químicas. O indicativo de presença de taninos condensados e complexos é um forte requisito que amplia as possibilidades de aplicações dessas espécies. Segundo os estudos de (LUZARDO et al., 2015; 2017) o tanino mimosa é composto em sua maioria por taninos condensados, daí a sua vasta aplicabilidade. Haja vista o foco comercial dos taninos condensados, o eucalipto representa uma possibilidade de apreciação científica e fortalecimento econômico.

As perspectivas teóricas são de que fibras de eucalipto, junto ao tanino mimosa sejam uma via para a formação de resina que conserve as características inerentes aos taninos, como a complexação de proteínas.

3.6 Estudo da adsorção de proteínas

Os estudos cinéticos e isotérmicos podem ser usados via modelos a fim de estabelecer parâmetros que permitam a comparação da influência de diferentes condições experimentais, moléculas e materiais, no entanto, eles não devem ser utilizados como únicos meios para explicar a adsorção (COGLITORE, JANOT e BALME, 2019). A análise dos dados experimentais frente aos modelos teóricos de cinética e isoterma são estudos complementares difundidos na comunidade científica tanto para avaliação da adsorção iônica (NERIS et al., 2019a,b) quanto de proteínas (ANIRUDHAN e SENAN, 2011; ANIRUDHAN, REJEENA e THARUN, 2012; BOULOS et al., 2013; LI et al., 2013; BAZZAZ et al., 2018; BEHERE; YOON, 2021).

Tabela 4 - Aplicação de modelos cinéticos e isotérmicos para estudo da adsorção de proteínas em superfícies poliméricas

Adsorvente/adsorbato	Modelos Cinéticos	Modelos Isotérmicos	Fonte
Poli (glicidilmetacrilato) - celulose enxertada com sulfonato funcional/lisozima	Pseudo primeira e segunda ordem e difusão externa e intrapartícula	Langmuir, Freundlich e Sips	(ANIRUDHAN; SENAN, 2011)
Polímero de tanino hidrolisável - zircônio - poli (glicidilmetacrilato) - celulose - óxido/BSA	Pseudo primeira e segunda ordem e difusão intrapartícula	Langmuir, Freundlich e Redlich-Peterson	(ANIRUDHAN; REJEENA; THARUN, 2012)
Nanopartículas de ouro esféricas e em forma de bastão/ BSA	Pseudo segunda ordem	Langmuir, Frisch-Sihma-Eirich, e Equação de Hill	(BOULOS et al., 2013)
Fibras de colágeno modificadas/ BSA, hemoglobina e lisozima	-	Langmuir e Freundlich	(LI et al., 2013)
Polímero sílica mesoporosa hexagonal - ácido tânico/BSA	Pseudo primeira e segunda ordem e difusão intrapartícula	Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, Dubinin-Radushkevich e Temkin	(BAZZAZ et al., 2018)
Resina da cepa recombinante de <i>Escherichia coli</i> - polimetacrilato - Proteína A/ Imunoglobulina G (IgG)	-	Langmuir, Freundlich, Brunauer – Emmett – Teller (BET), GAB, Halsey e Oswin	(BEHERE; YOON, 2021)

A Tabela 4 resume uma variedade de superfícies adsorventes de proteínas estudadas segundo modelos teóricos de cinética e isoterma, o uso dos modelos de pseudo primeira e segunda ordem, Langmuir, Freundlich e derivados dos mesmos

faz-se recorrentes. Chama atenção que mesmo aquelas superfícies que receberam componente tânico o aplicaram para enriquecer outro polímero sintético, assim, nenhum dos trabalhos citados é um modelo do que segue reportado aqui. Portanto, os modelos cinéticos e isotérmicos aqui empregados baseiam-se nas pesquisas tabeladas acima, bem como nos dados de Luzardo et al., (2017) da aplicação da resina de taninos-fibras de coco-nanotubos de carbono para adsorver Pb^{2+} .

O estudo cinético fornece a relação do tempo de contato com a capacidade de adsorção da superfície adsorvente. Os modelos teóricos de pseudo primeira e segunda ordem (ANIRUDHAN e SENAN, 2011; ANIRUDHAN, REJEENA e THARUN, 2012 e BAZZAZ et al., 2018) e a equação de Elovich (NERES et al., 2019b; LARGITTE; PASQUIER, 2016) são opções para uma aproximação da elucidação dos mecanismos da cinética de adsorção, no entanto, não são capazes de descrever o processo de difusão, assim, também se aplicou o modelo de difusão intrapartícula (ANIRUDHAN; SENAN, 2011; ANIRUDHAN; REJEENA; THARUN, 2012; BAZZAZ et al., 2018)

A isoterma de adsorção fornece uma maneira de medir a capacidade de ligação da resina em função da concentração da proteína, tradicionalmente é usada para quantificar a taxa de captação de proteína em massa por massa do adsorvente, além disso, os parâmetros de isotérmica de adsorção fornecem características acerca da resina (BEHERE e YOON, 2021). Os modelos Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson e Sips, fornecem possibilidade de análise para diferentes tipos de superfícies adsorventes, pois, os dois últimos são modelos híbridos dois primeiros modelos de isotermas, portanto, mais abrangentes e completos, eficientes para modelar adsorção em monocamada, multicamadas, sólido homogêneo ou heterogêneo (ANIRUDHAN e SENAN, 2011; LUZARDO et al., 2017; BAZZAZ et al., 2018).

3.6.1 Cinética de adsorção

A cinética de adsorção é uma via de complementação para a análise dos tipos de ligações e/ou interações químicas que prevalecem no sistema em estudo, fornecendo, ainda, o tempo a partir do qual o mesmo encontra o equilíbrio de adsorção bem como conduz a interpretação dos fenômenos de transporte de

massas na interface sólido-líquido que ocorrem desde o primeiro contato adsorvente-proteína até o equilíbrio.

3.6.1.1 Modelo de pseudo-primeira ordem

O modelo cinético de pseudo-primeira ordem de Langergreen baseia-se na taxa de adsorção e absorção do soluto simultaneamente, especialmente em solução líquida, tomando como base a capacidade de adsorção, e o fato de que a velocidade da reação é diretamente proporcional à diferença entre as quantidades do adsorbato no equilíbrio e no tempo na fase sólida (TIEN, 2019).

De acordo com Largitte e Pasquier (2016) a formulação matemática exponencial do modelo Langergreen é como segue na Equação 1.

$$q_t = q_e(1 - \exp(-k_1t)) \quad (1)$$

Onde: q_t é a capacidade de adsorção no tempo t (mg g^{-1}), k_1 é uma constante da taxa de adsorção da pseudo primeira ordem (min^{-1}) e t é o tempo de contato do adsorvente com a solução contaminada (min).

3.6.1.2 Modelo de pseudo-segunda ordem

No modelo cinético de pseudo-segunda ordem de Ho e McKay a velocidade é proporcional ao quadrado da diferença da quantidade adsorvida no equilíbrio e no tempo e o modelo é baseado na capacidade de adsorção (IP; BARFORD; MCKAY, 2010).

De acordo com Largitte e Pasquier (2016) a expressão matemática do modelo de pseudo-segunda ordem é como segue na Equação 2.

$$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t} \quad (2)$$

Onde k_2 é constante da taxa de adsorção da pseudo segunda ordem ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$).

3.6.1.3 Equação de Elovich

A equação de Elovich a princípio era utilizada para descrever a cinética de adsorção química de um gás na superfície de um material sólido, no entanto, a sua

aplicação para adsorbatos aquosos demonstram eficiência, sobretudo para superfícies heterogêneas (LARGITTE; PASQUIER, 2016).

A equação linearizada de Elovich, como segue (Equação 3) baseia-se na constante α de taxa de adsorção inicial ($\text{mmol g}^{-1} \text{min}^{-1}$) e no parâmetro β relacionado à extensão da cobertura da superfície e energia de ativação para quimissorção (g mmol^{-1}).

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln(t) \quad (3)$$

3.6.1.4 Modelo de difusão intrapartícula

O modelo de difusão intrapartícula é amplamente aplicado e importante para o estudo da cinética de adsorção de proteínas, pois fornece informações importantes acerca da interpretação do mecanismo de transporte das moléculas de proteínas do meio aquoso para a superfície e/ou interior do sólido, quando as mesmas conseguem ocupar frestas e poros do adsorvente (COGLITORE, JANOT E BALME, 2019).

Os cálculos das constantes de taxa de difusão intrapartícula a partir dos dados cinéticos pode ser realizado segundo a Equação 4, de Weber e Morris, onde k_d é a constante de taxa de difusão intrapartícula ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{1/2}$) e I a variável relacionada com os efeitos da camada limite, como a espessura (LARGITTE; PASQUIER, 2016).

$$q_t = k_d t^{1/2} + I \quad (4)$$

3.6.2 Isoterma de adsorção

O estudo por isotermas possibilita conhecer a capacidade máxima de adsorção da proteína na superfície em função dos dados experimentais no equilíbrio para condições físico-químicas estabelecidas. É também uma via de interpretação da heterogeneidade ou homogeneidade da composição química da superfície adsorvente.

3.6.2.1 Modelo de Langmuir

Segundo Neris et al. (2019a) o modelo de Langmuir é mais difundido e delimitado no que se refere ao tipo de superfície adsorvente, a considera homogênea e adsorvida por monocamada. Sua expressão matemática de acordo Foo e Hameed (2010) é a seguinte (Equação 5):

$$q_e = \frac{q_m K_L M_e}{1 + K_L M_e} \quad (5)$$

Onde q_m representa a capacidade máxima de adsorção (mg g^{-1}), K_L constante da isoterma de Langmuir (L mg^{-1}) e M_e concentração de equilíbrio de espécies químicas (mg L^{-1}).

3.6.2.2 Modelo de Freundlich

O modelo de Freundlich adequa-se a adsorventes heterogêneos e admite a ocorrência de interações entre as moléculas adsorvidas. Segue a sua expressão matemática não linear (Equação 6) Foo e Hameed (2010).

$$q_e = K_F M_e^{\frac{1}{n}} \quad (6)$$

Onde K_F constante da isoterma de Freundlich ($(\text{mg g}^{-1})/(\text{L mg}^{-1})^{1/n}$) e n é o fator de heterogeneidade da isoterma de Freundlich.

A partir dos modelos de Langmuir e Freundlich surgiram os modelos híbridos de Redlich-Peterson e Sips, essa característica os fazem amplamente aplicados especialmente em sistemas heterogêneos Neris et al. (2019a,b).

3.6.2.3 Modelo de Redlich-Peterson

A expressão matemática do modelo Redlich-Peterson pode ser usada em sistemas homogêneos ou heterogêneos e além do parâmetro M_e ele relaciona K_R , como constante da isoterma de Redlich-Peterson (L g^{-1}), a_R como constante da isoterma de Redlich-Peterson (mg L^{-1}) e g como expoente da isoterma de Redlich-Peterson (valor ideal $0 \leq g \leq 1$) Equação 7 (Neris et al., 2019 a,b).

$$q_e = \frac{K_R M_e}{1 + a_R M_e^g} \quad (7)$$

3.6.2.4 Modelo de Sips

O modelo de Sips (Equação 8) representa bem sistemas heterogêneos de adsorção. Sua formulação matemática inclui a capacidade de adsorção da superfície por q_s (capacidade de adsorção obtida pela isoterma de Sips (mg g^{-1})), além dos parâmetros n_s (expoente isotérmico de Sips) e a_s (constante da isoterma de Sips relacionada à energia de adsorção (L g^{-1})) (Neris et al., 2019 a,b).

$$q_e = \frac{q_s a_s M_e^{\frac{1}{n_s}}}{1 + a_s M_e^{\frac{1}{n_s}}} \quad (8)$$

3.7 Resumo: do estado da arte e do estado da questão

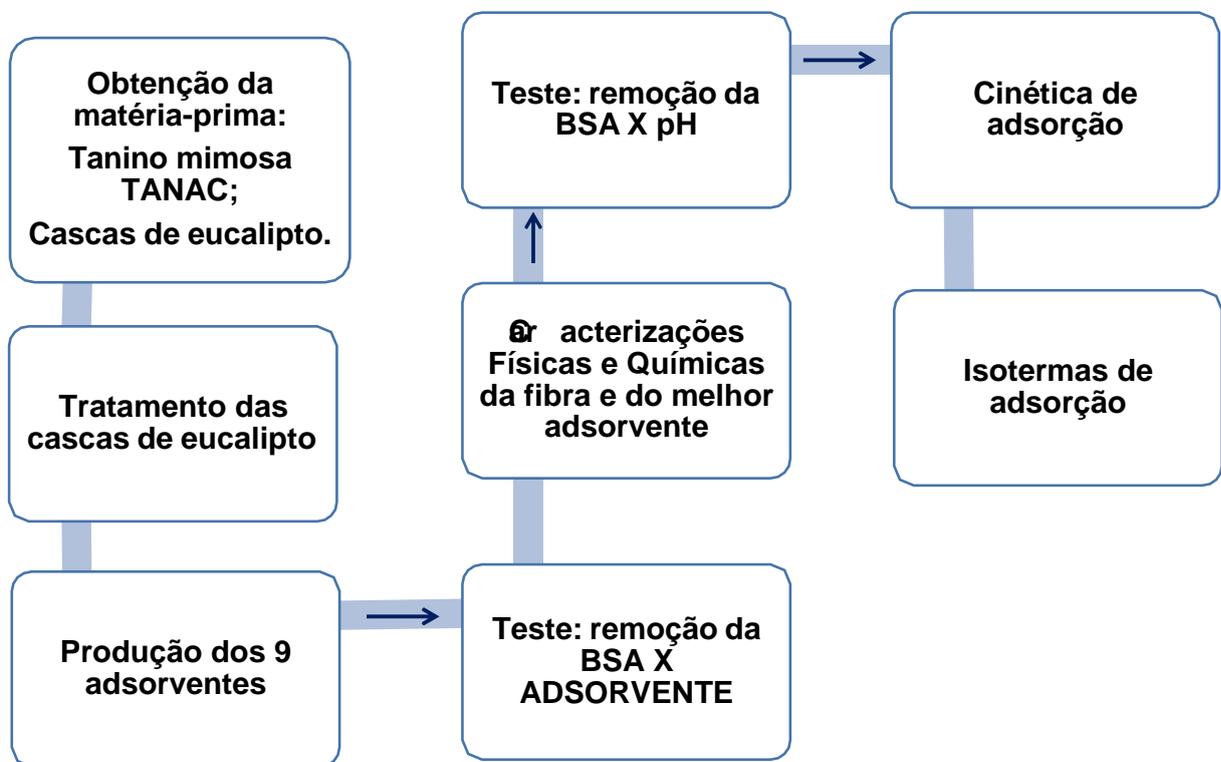
- A recuperação de proteínas em águas vem usando dos métodos aplicados para matrizes complexas, como o plasma sanguíneo, assim, cromatografia, precipitação, eletroforese, ultrafiltração, entre outros (TIEN, 2019; XIAO; ZHOU, 2019);
- A separação de proteínas e espécies proteicas em águas de afluentes e efluentes é um campo de estudos que requer desenvolvimento;
- A adsorção vem sendo executada como um método mais vantajoso para separar proteínas em meio aquoso, pois, é capaz de remover certa(s) substância(s) a partir de um fluxo por meio das interações adsorvente-adsorbato via forças de Van der Waals e/ou reações químicas (TIEN, 2019; LI et al., 2013);
- Os fenômenos de adsorção de proteínas são complexos, cada caso carrega suas especificidades. Sabe-se que a afinidade química entre o adsorvente e a proteína, o desimpedimento e orientação dos grupos funcionais, o pH, pl, temperatura e superfície de contato são fatores importantes (LATOUR, 2020; COGLITORE; JANOT; BALME, 2019; LI et al., 2013);

- Os adsorventes comumente desenvolvidos para proteínas são baseados em polímeros sintéticos funcionalizados aplicando tecnologias e reagentes de alto valor agregado;
- Taninos já são empregados para funcionalizar adsorventes para proteínas, mas pouco aplicados como base do produto;
- Materiais lignocelulósicos apresentam funcionalidade como adsorventes de metais em águas, mas não foram aplicados para testes em proteínas;
- A produção de adsorventes para proteínas em meios aquosos baseados em matéria prima-natural e renovável é uma lacuna a ser preenchida;
- Taninos condensados e fibras lignocelulósica são materiais naturais com grupos funcionais ativos passíveis de interações fortes com proteínas;
- Este trabalho busca contribuir para a superação das lacunas científicas acerca do tema de adsorção de proteínas a partir do desenvolvimento de uma resina de taninos condensados naturais usando como base o tanino vegetal de *Acacia mearnsii* (Mimosa) da TANAC S/A, formaldeído e fibras lignocelulósicas tratadas do *Eucalyptus citriodora* para a adsorção da proteína padrão Albumina Sérica Bovina em meio aquoso.

4 METODOLOGIA

A fim de obter um adsorvente para a adsorção da proteína padrão BSA utilizando tanino vegetal de mimosa e materiais lignocelulósicos modificados da casca de eucalipto e, assim, alcançar o objetivo geral desse trabalho, por meio da síntese e caracterização físico-química do adsorvente e estudos da cinética e isoterma de adsorção da BSA, o presente trabalho, então, seguiu a seguinte lógica de intervenção Figura 9.

Figura 9 - Lógica de intervenção



4.1 Coleta e pré-tratamento das cascas do eucalipto

As cascas do *Eucalyptus citriodora* foram coletadas de resíduos da colheita de árvores com 5 anos de idade, no Município Encruzilhada, Bahia, Brasil. As mesmas foram lavadas em água corrente deionizada, cortadas para pedaços de 2-3 cm, secas em estufa solar durante 48 h e em estufa elétrica (a 100 ± 2 °C) até massa não variável, por fim, foram trituradas num macro moinho de facas tipo Wiley

que geram partículas selecionadas em peneira de malha com granulometria entre 20 e 150 mesh.

4.2 Obtenção de extratos das fibras da casca do *Eucalyptus citriodora*

Conforme Pinto et al. (2013) a extração foi aquosa, quente e em reator fechado com recirculação de fase líquida para as fibras de eucalipto. Assim, 2 g do material seco e moído receberam 250 mL de água deionizada e foram submetidas a extração no Soxhlet a uma temperatura de 90 ± 3 °C por 2h30min. O extrato foi resfriado em temperatura ambiente (20 ± 1 °C), transferido para balão volumétrico de 250 mL e seu volume completado com água deionizada. Para a determinação dos sólidos solúveis totais (SST) foram acondicionadas três amostras de 25 mL do extrato em beakers com massas previamente aferidas, essas foram submetidas a secagem em estufa (a 103 ± 2 °C) até peso constante. Amostras do mesmo extrato foram analisadas por espectroscopia UV-Vis a fim de identificar a absorção dos grupos tânicos presentes.

4.3 Espectroscopia UV-Vis

Os experimentos foram feitos usando cubetas de quartzo de 10 mm no espectrofotômetro digital SP-220 BIOESPECTRO que opera entre 200-1000 nm.

4.3.1 Curvas de calibração dos compostos tânicos

As espécies usadas para quantificação de taninos foram o ácido tânico (AT) 88% (ALPHATEC) e o ácido gálico (AG) anidro 98,0% (VETEC). Todas foram preparadas como soluções aquosas em água deionizada a partir de soluções mães concentradas de 100 mg L^{-1} para o AT e 20 mg L^{-1} para AG. Posteriormente foram preparadas por diluição para 10,0 mL em balão volumétrico diferentes concentrações de cada solução, para o AT foram 10 concentrações e para o AG 8 concentrações de 10-100 mg L^{-1} e 4-18 mg L^{-1} respectivamente. As quantificações de absorção foram feitas em comprimentos de onda de 280 nm para o AT e 265 para AG.

Todas as curvas de calibração foram obtidas no Origin, bem como as equações das curvas de calibração e os seus coeficientes de determinação (R^2). Os

cálculos de limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para todas as curvas de calibração foram realizadas com base na IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002) assim como Marques et al. (2012).

4.3.2 Curva de calibração da proteína BSA

A proteína dos testes de adsorção foi a albumina sérica bovina (BSA) liofilizada 96% (SIGMA). Foi preparada uma solução concentrada em água deionizada de 600 mg L⁻¹, diluída para 12 soluções de 50 até 600 mg L⁻¹ em volumes de 10 mL. As quantificações de absorção foram feitas num comprimento de onda de 280 nm.

4.3.3 Estimativa do teor de taninos condensados e hidrolisáveis nas fibras da casca do *Eucalyptus citriodora*

Baseando nas propriedades dos taninos em absorver radiação no espectro UV-Vis entre 250 e 300 nm, com picos em aproximadamente 265 nm relacionados aos taninos hidrolisáveis e 280 nm aos condensados (GRASEL; FERRÃO; WOLF, 2016a) foram utilizados o AG e o AT como agentes de comparação dadas as suas características químicas e principalmente espectrais a fim de basear a estimativa do teor tânico no extrato das fibras naturais. A via de determinação de taninos condensados foi a comparação do espectro UV-Vis do extrato da fibra natural ao do AT, assim sua absorbância em 280 nm foi aplicada à equação da curva de calibração do AT ($A = 0,0099C + 0,0091$) com R^2 0,9997. Apesar de ser predominantemente uma mistura de poligaloil-glucose e, portanto, tanino hidrolisável, o AT apresenta máximo de absorção em comprimento de onda característico dos cromóforos dos taninos condensados, sendo um bom candidato de referência para identificação dos mesmos.

Para determinação dos taninos hidrolisáveis, o espectro do mesmo extrato supracitado, das fibras naturais, foi comparado ao do AG e sua absorbância em 265 nm aplicada na equação da curva de calibração do AG ($A = 0,0433C - 0,0163$) com R^2 0,9993. Todas as medidas foram realizadas em triplicata e o tanino mimosa foi, também, analisado como um padrão puramente qualitativo.

4.4 Tratamentos químicos das fibras da casca do *Eucalyptus citriodora*

4.4.1 Tratamentos por hidrólise

Foram aplicadas três variantes do tratamento por hidrólise das fibras da casca de eucalipto. Primeiramente 2,0 g foram lavadas conforme processo de extração aquosa já descrita; outras duas porções de 2,0 g cada, passaram por tratamento hidrolítico ácido e alcalino realizado de acordo com Santos et al. (2019). Assim, uma recebeu 25 mL de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ (MERCK, 97% purity) para hidrólise básica e outra 25 mL de solução de HNO₃ 10% v/v (MERCK, 65% purity) para hidrólise ácida. Ambas as misturas ficaram em contato por 2 h em 20 ± 1 °C, posteriormente foram filtradas e lavadas no extrator de Soxhlet sob temperatura de 90 °C até obter água residual sem coloração e com pH 7. O produto obtido foi novamente seco em estufa (a 103 ± 2 °C).

4.4.2 Imobilização dos taninos

A obtenção das fibras com os taninos componentes das mesmas imobilizados é uma quarta variante para o estudo da capacidade de remoção das fibras tratadas. O método foi adaptado de Luzardo et al. (2004) a partir dos seguintes passos: 2,0 g das fibras foram vertidos para um becker de 250 mL contendo uma solução de 3,0 mL de formaldeído (CH₂O) volume 37% (Synth), 8,0 mL de água deionizada e 0,2 mL de ácido clorídrico (HCl) PA 37% (Neon). A mistura foi mantida em agitação manual leve, por meio de bastão de vidro, entre 20-30 min, em temperatura ambiente (20 ± 1 °C) em seguida foi levada a aquecimento gradual em estufa até 103 ± 2 °C até que o excesso aquoso fosse evaporado. Após este tempo, o material sólido foi lavado no extrator Soxhlet a uma temperatura de 90 °C por 2h30 min. O produto obtido foi novamente seco em estufa (a 103 ± 2 °C) e macerado em pistilo para partículas de aproximadamente 45 mesh. Já o extrato aquoso foi analisado via espectro UV-Vis e comparado aos espectros das fibras naturais e demais compostos de referências tânicas.

4.4.3 Síntese da resina de tanino e fibras tratadas da casca do *Eucalyptus citriodora*

A síntese da resina foi realizada seguindo a mesma metodologia supracitada para a imobilização dos taninos nas fibras adaptando-a segundo Luzardo et al. (2017), assim, às fibras da casca de eucalipto foi acrescentado o tanino condensado da *Acacia mearnsii* (tanino mimosa) (TANAC SA) para reação de policondensação em solução de formaldeído, água e ácido clorídrico. A fim de estabelecer a melhor capacidade de remoção de proteína foram preparadas 6 variantes. Os percentuais estudados entre tanino e eucalipto foram, respectivamente, (50-50; 10-90; 100-0 e 0-100) e também duas diferentes granulometrias da fibra, 65 e 150 mesh, para a proporção 10% fibras-90% taninos.

4.5 Caracterizações físicas e químicas

Todos os experimentos de caracterização física da resina foram realizados em triplicata pesando 0,5 g em balança analítica. O grau de inchamento, a densidade aparente e de pacote e a massa específica foram calculados de acordo com a Marhol (1982).

As caracterizações químicas da resina, tanino mimosa e fibras das cascas do *Eucalyptus citriodora* foram realizadas por obtenção de espectros UV-Vis entre 220 e 320 nm, possibilitando a identificação dos máximos e mínimos de absorção relacionados aos seus componentes tânicos.

Foram obtidos espectros entre 650 e 4000 cm^{-1} por espectroscopia de refletância total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR) em equipamento de modelo Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer da PerkinElmer, viabilizando o reconhecimento dos grupos funcionais ativos dos analitos tânicos e da proteína BSA. Os espectros obtidos foram médias de 10 varreduras, obtidos com resolução de 4 cm^{-1} e foram processados através do software Spectrum da PerkinElmer.

4.6 Estudos de adsorção da proteína BSA

Os estudos foram realizados em triplicata e sob acompanhamento do branco analítico, que consistia em um quarto becker com todos os componentes nas mesmas proporções excluindo, no entanto, a BSA. Seu tratamento foi igual ao dado para as unidades que continham o analito e sua absorbância foi aferida e subtraída da absorção total daquelas replicas que continham a proteína. A massa de cada adsorvente testado foi de 0,05 g, reservada em becker de 250 mL, acomodado na mesa agitadora orbital digital Ethik Technology programada para agitação de 70 rpm (0,1372 g) por 30 min, tempo que foi posteriormente estudado pela cinética de adsorção. Assim, 10 mL de solução de BSA com concentração conhecida era vertida sobre o adsorvente, bem como a água deionizada no branco.

Imediatamente após o processo de agitação os sólidos eram separados por filtro qualitativo (Unifil) e a solução centrifugada em Centrifuga SL – 700 SOLAB por 5 min em 3000 rpm (1844 g). O sobrenadante então tinha absorção aferida no UV-Vis em 280 nm que aplicada a equação da curva de calibração da BSA ($A = 6,24 \times 10^{-4}C - 4,04 \times 10^{-4}$) com R^2 igual a 0,9986, LD de $2,48 \text{ mg L}^{-1}$ e LQ $8,27 \text{ mg L}^{-1}$, determinava a concentração da proteína no fim do processo de adsorção.

Todos os experimentos foram realizados numa temperatura de $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. O valor da capacidade de adsorção no equilíbrio (q_e) foi calculado para cada réplica pela Equação 9 dando resultado médio para as diferentes variáveis estudadas, do mesmo modo aplicou-se a Equação 10 para cálculo do percentual de remoção $q\%$, ambos segundo Verma, Shashi Kumar e Surendra Kumar (2017).

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (9)$$

Onde q_e é a capacidade de adsorção no equilíbrio (mg g^{-1}), C_0 concentração inicial do adsorbato (mg L^{-1}), C_e concentração do adsorbato no equilíbrio (mg L^{-1}), V volume da solução do adsorbato (L) e m a massa do adsorvente (g).

$$q\% = \frac{C_0 - C_e}{C_0} 100 \quad (10)$$

4.6.1 Influência da variação de pH na adsorção

A metodologia de estudo para influência da variação de pH na adsorção segue como supracitado variando apenas o solvente da solução de BSA, onde aplicou-se soluções aquosas de tampões distintos preparados segundo equação de Henderson Hasselbalch: PBC (Fosfato-Borato-Citrato) $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (KH_2PO_4 P.A. Synth, H_3BO_3 P.A. VETEC e $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ P.A. Synth) para se obter diferentes pH's (4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 e 9,0) ajustados utilizando $\text{NaOH } 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (MERCK, 97% purity) ou $\text{HCl } 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (37% Neon) e aferidos por pHmetro digital BEL. Testes também foram realizados com tampão acetato $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ para pH's 3, 4 e 5 (CH_3COOH Glacial U.S.P. 100% e CH_3COONa P.A. Synth) e fosfato $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ para 6, 7 e 8 (Na_2HPO_4 P.A. e NaH_2PO_4 P.A. Synth).

4.6.2 Estudo da cinética de adsorção

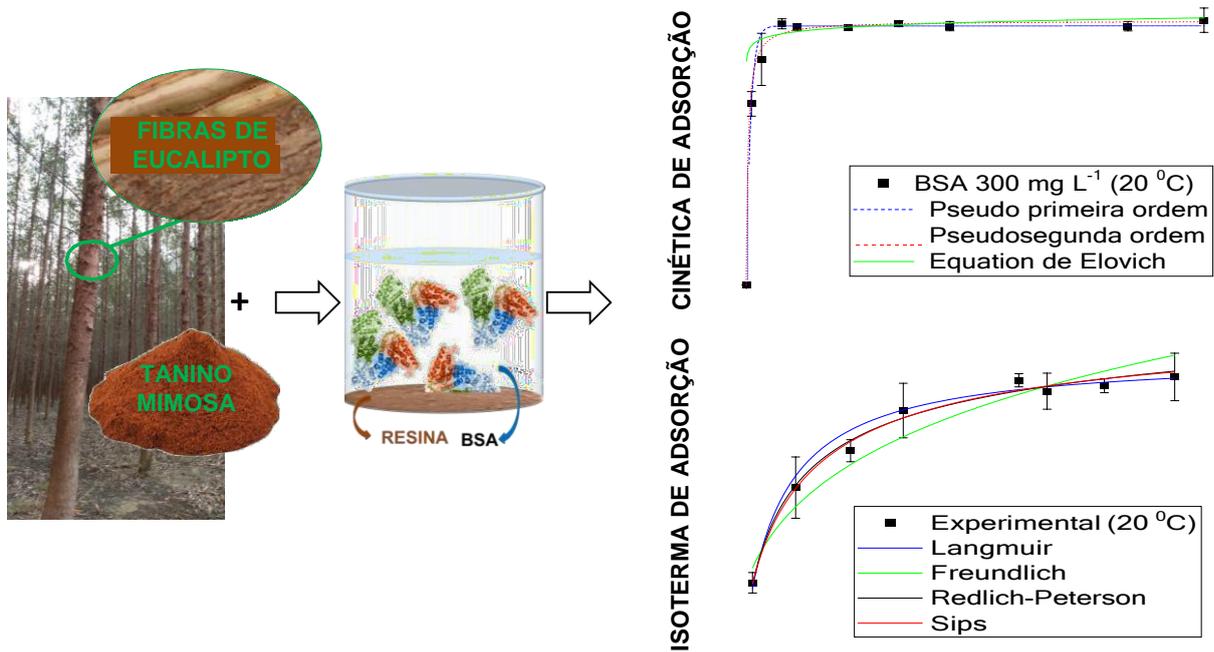
Os experimentos foram realizados com diferentes tempos de contato (1, 3, 7, 10, 20, 30, 40, 75 e 90 minutos) entre o adsorvente de massa fixa e a solução de BSA com mesmo volume e concentração inicial, preparada segundo resultados do estudo de influência da variação de pH na adsorção. A relação do tempo de contato com a capacidade de adsorção foi estudada segundo modelos teóricos não lineares de pseudo primeiro e segunda ordem e equação linearizada de Elovich.

4.6.3 Estudo da isoterma de adsorção

O estudo foi realizado com massa fixa do adsorvente ideal (0,05 g), variando 8 concentrações iniciais do adsorbato BSA de 100 até 430 mg L^{-1} , mantendo a temperatura controlada em $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ e aplicando o tempo ideal para alcance do equilíbrio segundo o estudo cinético. As isotermas experimentais foram aplicadas em modelos teóricos para determinação da capacidade máxima de adsorção e da melhor teoria para simulação dos dados do referido experimento. A análise se deu pelos modelos de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson e Sips.

O processo experimental de composição da resina e da adsorção da BSA na mesma, junto aos modelos de cinética e isoterma aplicados aos dados experimentais podem ser simplificados conforme o resumo gráfico a seguir (Figura 10).

Figura 10 - Resumo gráfico das etapas desse trabalho



Fonte: própria autora a partir de dados da pesquisa

4.7 Tratamento dos dados experimentais

Todos os dados gerados foram tratados estatisticamente, o programa computacional Origin foi utilizado. As curvas de calibração foram determinadas em condições de coeficiente de determinação (R^2) mais próximo da unidade.

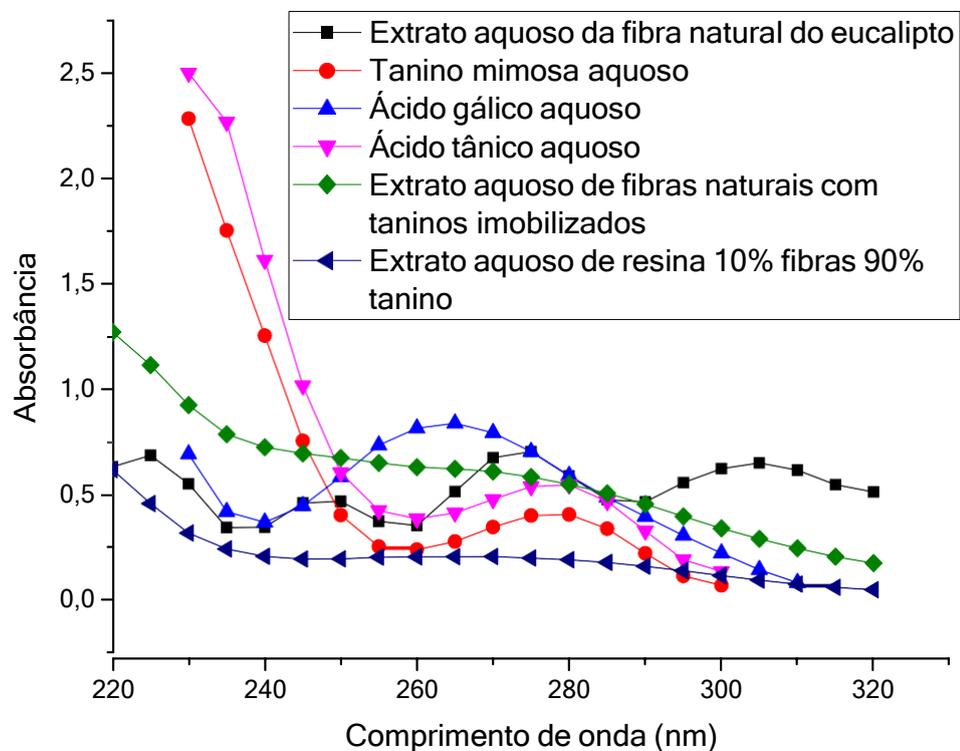
Os parâmetros isotérmicos e cinéticos foram determinados para os valores chi-quadrado (χ^2) mais baixos para cada conjunto de dados, além (R^2) mais próximo da unidade. Também foram realizados testes de Duncan para estabelecer resultados de comparação de médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização dos taninos das fibras da casca do *Eucalyptus citriodora*

Entendendo que os taninos vegetais são solúveis em água, os extratos aquosos das fibras da casca do *Eucalyptus citriodora*, das que tiveram seus taninos imobilizados e da resina composta por 10% de fibras e 90% de taninos mimosa, foram analisados por Espectroscopia UV-Vis e comparados com compostos de referência (Figura 11). O principal grupo de cromóforos desses extratos são os anéis aromáticos, que nos taninos apresentam dois picos de absorção característicos, um em região próxima a 280 nm, relativo aos condensados, enquanto os hidrolisáveis absorvem em picos de aproximadamente 270 nm, como averiguou Grasel, Ferrão e Wolf (2016a).

Figura 11 - Espectros UV-Vis de extratos aquosos das fibras naturais de eucalipto e modificadas por policondensação e das soluções aquosas de compostos tânicos de referência



Foram identificados picos característicos da presença de taninos entre 250 e 300 nm no extrato das fibras naturais e nos compostos tânicos, ácidos gálico e

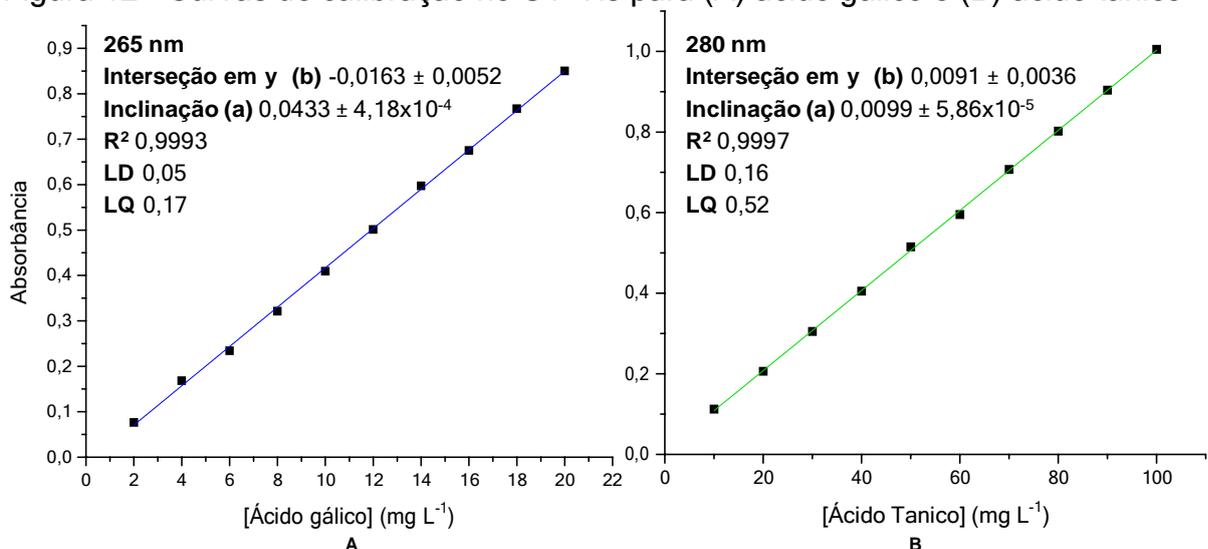
tânico e tanino mimosa. Entre as soluções de referência o ácido gálico (AG) teve pico em 265 nm, o ácido tânico (AT) e o tanino mimosa em 280 nm. Já nas fibras naturais o pico mais evidente ficou em 275 nm com a região de 265 nm sobreposta, indicando presença de taninos condensados e hidrolisáveis. Por outro lado, no espectro do extrato da resina composta por 10% fibra 90% tanino mimosa e no das fibras que passaram pelo processo de imobilizando dos seus próprios taninos via reação de policondensação por formaldeído, houve deformação das bandas características de absorção. A falta dos máximos de absorção nesses dois extratos indica a inexistência de taninos livres, ou seja, a reação de polimerização via formaldeído em meio ácido torna os taninos insolúveis, tanto aqueles contidos no interior da fibra natural, quanto aqueles a ela acrescentados.

O desaparecimento da forte coloração indicativa da presença de taninos, inicialmente notada nos extratos das fibras naturais, foi, também, uma evidência de que a resina composta por 10% fibra 90% tanino mimosa e as fibras com taninos imobilizados retinham os taninos no sólido lavado, mesmo submetido à extração aquosa quente.

5.1.1 Estimativa de taninos e sólidos totais nas fibras da casca do *Eucalyptus citriodora*

As curvas de calibração produzidas para os compostos de referência de composição tânica junto aos seus dados analíticos são representadas na Figura 12.

Figura 12 - Curvas de calibração no UV-Vis para (A) ácido gálico e (B) ácido tânico



Fonte: própria autora a partir de dados da pesquisa

Tendo como base as equações das curvas de calibração dos AT e AG foram mensuradas as massas de taninos condensados e hidrolisáveis extraídos em relação a massa da fibra natural seca, a mesma relação foi utilizada para quantificar os sólidos solúveis totais (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios de taninos e sólidos solúveis extraídos por peso seco da fibra da casca do *Eucalyptus citriodora*

Componentes da fibra da casca do <i>Eucalyptus citriodora</i>	Média ± desvio padrão	
	g g ⁻¹ de massa seca	% de massa seca
Taninos hidrolisáveis	0,0002 ± 4,1x10 ⁻⁷	0,0190 ± 4,1x10 ⁻⁵
Taninos condensados	0,0009 ± 1,6x10 ⁻⁶	0,0905 ± 2x10 ⁻⁴
Sólidos solúveis totais	0,1179 ± 2x10 ⁻³	11,789 ± 2x10 ⁻¹

Fonte: própria autora a partir de dados da pesquisa

O valor de taninos condensados e hidrolisáveis, bem como dos demais componentes das fibras das cascas do *Eucalyptus citriodora* variam quando comparados a outras espécies e mesmo em árvores da mesma espécie, isso ocorre inevitavelmente pelo cunho natural dessa matéria-prima, a localização geográfica, a idade das árvores, a falta de uniformidade de concentração dos componentes químicos nas partes da árvore, a sazonalidade, assim, os valores aqui determinados caracterizam a amostra de cascas tratadas e utilizadas neste trabalho, e não podem ser determinantes para caracterizar a espécie de eucalipto utilizada.

Trugilho et al. (2003) realizou um trabalho de quantificação de taninos nas cascas de 25 espécies de cultivo brasileiro, acerca do *Eucalyptus citriodora* a equipe demonstrou que a extração de taninos condensados apresenta melhores resultados em água quente se comparadas ao uso dos solventes tolueno e etanol, e que o teor de taninos condensados nas cascas, com base na massa seca, foi de 1,06%, estando no grupo dos menores percentuais tânicos dentre as amostras das espécies estudadas.

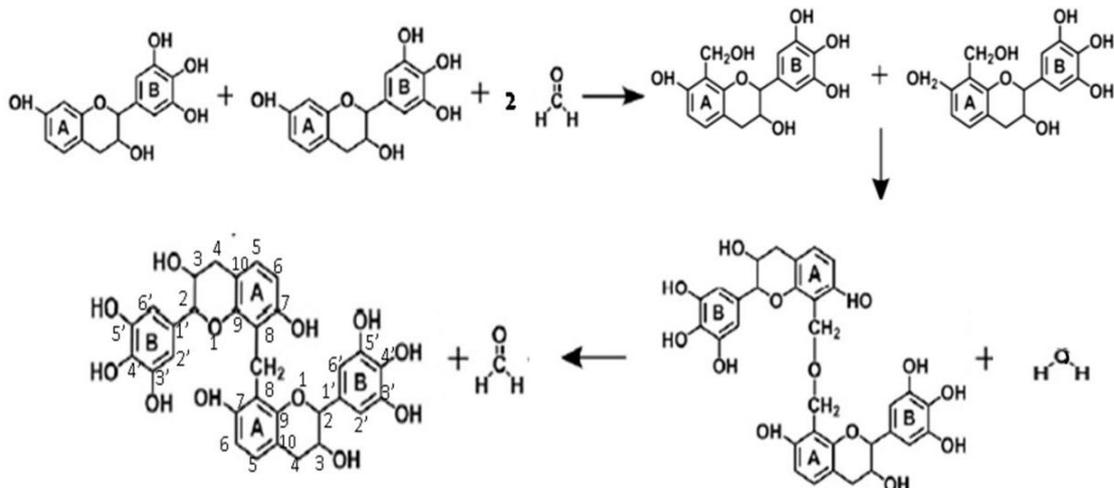
Neste trabalho os sólidos solúveis totais quantificados a partir do extrato das fibras naturais do eucalipto tiveram o percentual em massa seca de 11,789 ± 0,2016%. Esse dado ilustra a importância da realização da extração aquosa das fibras lignocelulósicas naturais ou do adsorvente produzido a partir das mesmas, essa prática lhes agrega valor para aplicações comerciais e analíticas, pois, reduz a

possibilidade de interferentes tanto no tratamento da solução quanto na quantificação final do analito.

5.2 Síntese da resina de tanino e fibras tratadas da casca do *Eucalyptus citriodora*

Os estudos indicaram que a reação tanino-formaldeído é possível e viável e que as fibras de eucalipto carregam um teor de taninos que também enriqueceram a resina além dos 90% de tanino mimosa a ela acrescentada. Os testes de imobilização de taninos, bem como a obtenção da resina basearam-se em descrições bem estabelecidas na literatura (TORRES et al., 1999; MIRANDA et al. 2000; Pizzi, 2003; Luzardo et al., 2004; 2017), segue ilustração da reação tanino-formaldeído via monômeros catequina (Figura 13).

Figura 13 - Resumo da reação monoflavonoide de tanino condensado-formaldeído



Fonte: adaptado de Pizzi (2003) e Arbenz e Avérous (2015)

A reação de policondensação dos taninos poliflavonoides (condensados) com formaldeído em meio ácido ocorrem preferencialmente nas posições C6 e C8 no anel A, gerando como subprodutos comuns aos reagentes o próprio formaldeído e água (PIZZI, 2003). Pode-se dizer que a reação se autoajuda deslocando o equilíbrio para a formação de mais produtos. Isso a faz mais rápida e rentável, contudo, gera resinas com alto grau de dureza, que necessitam de moinhos para gerar grão menores, como fez Luzardo et al. (2017).

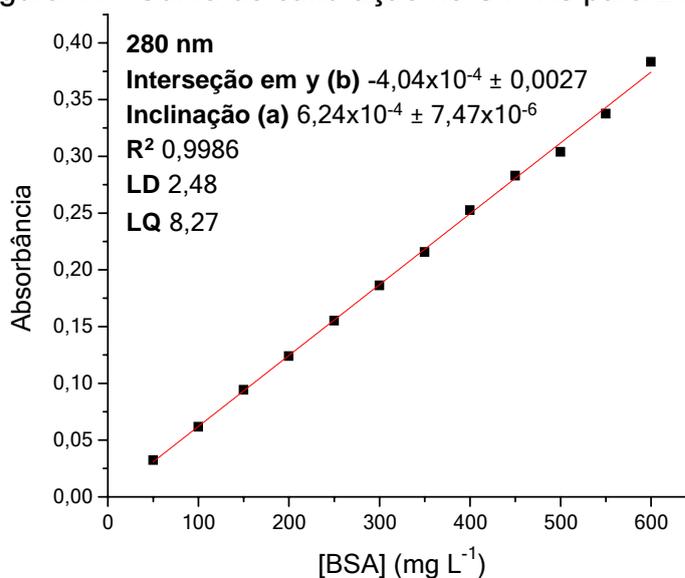
No intuito de preparar uma resina com menor rigidez aplicou-se a reação uma quantidade de água suficiente para umidificar os reagentes sólidos antes de

acrescentar o formaldeído, essa água somada a que foi liberada pela reação de condensação tornou o meio aquoso e retardou a reação, gerando um produto menos rígido, passível de ser macerado com pistilo, facilitando o processo, reduzindo perdas e gastos energéticos. A melhor relação de reagentes para a resina foi de 0,9 g de tanino mimosa, 0,1 g de fibras de eucalipto, 1,5 mL de formaldeído 37%, 0,1 mL de ácido clorídrico 37% e 2,5 mL de água deionizada.

5.3 Estudo do percentual de remoção das fibras e da resina tanino-fibras

A quantificação das concentrações de BSA no início e no final dos testes foi feita a partir da sua curva de calibração no UV-Vis, a mesma, junto aos dados analíticos seguem na Figura 14.

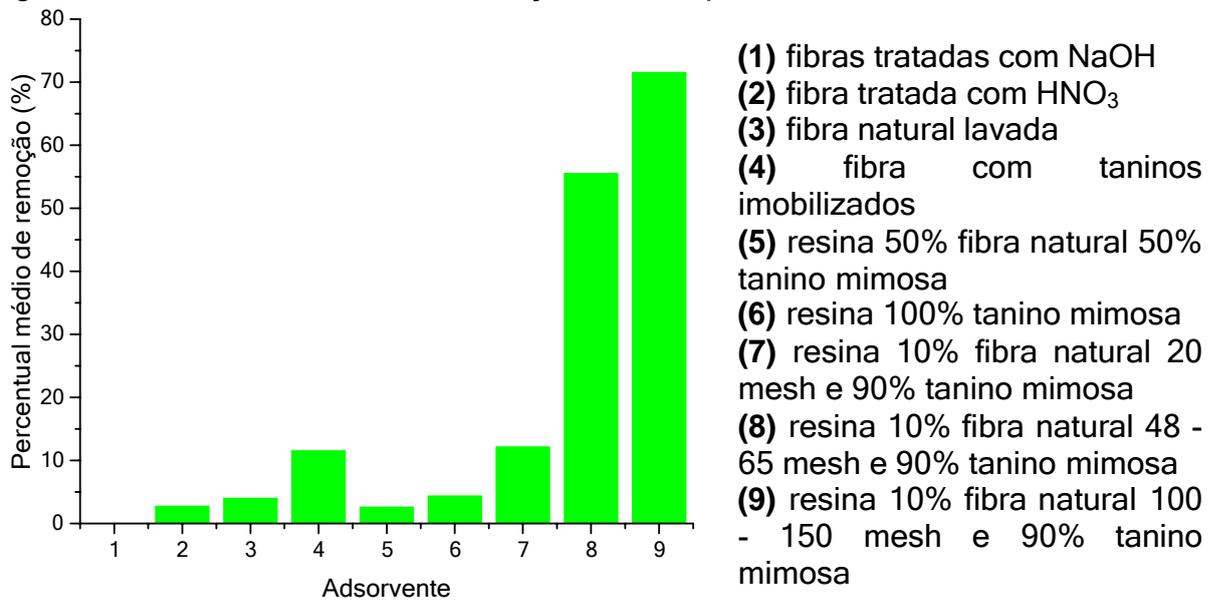
Figura 14 - Curva de calibração no UV-Vis para BSA



Fonte: própria autora a partir de dados de pesquisa

Segundo Pizzi (2019), sínteses e aplicações de resinas baseadas em tanino e outros componentes estão em crescente estudo. Entendendo a necessidade de realização de testes em materiais lignocelulósicos para a adsorção de proteínas, haja vista a escassez dos mesmos, então, 9 variantes foram preparadas, incluindo resinas além e distintos tratamentos das fibras, todos tiveram o percentual médio de remoção da BSA em solução aferido (Figura 15) com base nas concentrações iniciais e no equilíbrio quantificadas pela medição da absorbância em 280 nm aplicada na equação da curva de calibração da BSA no UV-Vis (Figura 14).

Figura 15 - Percentual médio de remoção da BSA por adsorvente



Fonte: propria autora a partir de dados de pesquisa

Todos os experimentos foram conduzidos nas mesmas condições, com pH de $\sim 5,32 \pm 0,02$, usando apenas água deionizada e agitação de 70 rpm por 30 min sob temperatura de 20 ± 1 °C. As melhores respostas analíticas para fibras tratadas foram para taninos imobilizados, seguidas pelas resinas compostas em 10% por fibras e 90% por taninos, nestas, obteve-se o resultado ideal para continuidade da pesquisa usando a menor granulometria das fibras (entre 100 e 150 mesh), provavelmente, a influência positiva seja a maior superfície de contato e a uniformidade entre as partículas do extrato do tanino e da fibra moída das cascas do eucalipto. Foi alcançado $71,6 \pm 2,78\%$ de remoção de BSA em solução concentrada de 260 mg L^{-1} . Esse é um resultado animador, representa uma nova perspectiva na adsorção de proteínas em meio aquoso por adsorventes de fontes naturais, uma área onde a produção científica ainda se encontra escassa.

A literatura aponta técnicas tradicionais de remoção de proteínas em soluções de descarte, como a ultrafiltração variando de 30 até 95% ou a precipitação entre 50 e 81% de rendimento (YADAV et al., 2020). Se tratando de processos de adsorção para separação e purificação de proteínas, Shi et al. (2019) alcançou 78,2% de remoção de BSA pura via cromatografia usando uma resina de gel de agarose, triptamina, tetrametoxissilano e feniltrietoxissilano, customizada de forma específica

para BSA em pH 5 e, também, 71.2% de recuperação para a imunoglobulina bovina G pura em pH 7 usando a resina customizada para essa proteína.

O resultado alcançado na presente pesquisa é próximo a outros publicados em literaturas recentes, tornando-o mais relevante, pois, não são reportadas superfícies para adsorção de proteínas similares a que foi desenvolvida nessa pesquisa, a base de taninos vegetais e fibras lignocelulósicas. Portanto, o adsorvente aqui proposto é diferenciado dentre os que geralmente são reportados por outros autores, pois ele se mostrou funcional, de baixo custo e produzido via matéria-prima renovável nacional.

5.4 Caracterizações físicas da resina

As características e tratamentos dos componentes da resina com melhor resposta experimental para a adsorção da BSA (10% fibras 100 -150 mesh e 90% tanino mimosa) a conferiram propriedades físicas particulares. A Tabela 6 traz os resultados para testes de grau de inchamento, densidade aparente e densidade de pacote com valores médios \pm desvios padrões.

Tabela 6 - Propriedades físicas da resina 10% fibras 100 -150 mesh e 90% tanino mimosa

Propriedade	Valor médio \pm desvio padrão
Grau de Inchamento (g g^{-1})	$0,0624 \pm 0,0087$
Densidade aparente (g cm^{-3})	$0,3872 \pm 0,0029$
Densidade de pacote (g cm^{-3})	$0,2517 \pm 0,0019$
Massa Específica (g cm^{-3})	$1,6779 \pm 0,0126$

Fonte: própria autora a partir de dados da pesquisa

Chama atenção o fato do valor da massa específica ser maior que 1 g cm^{-3} (referência da água pura), essa característica física faz com que a resina permaneça preferencialmente embaixo do fluxo da água durante o tratamento, isso contribui positivamente na aplicação do produto e na separação do leite líquido tratado da fase sólida adsorvente, evitando maiores perdas do adsorvente no processo. Pensando no emprego futuro desta resina em uma grande quantidade de água, em tanques de tratamento, por exemplo, possivelmente, a união de operações unitárias,

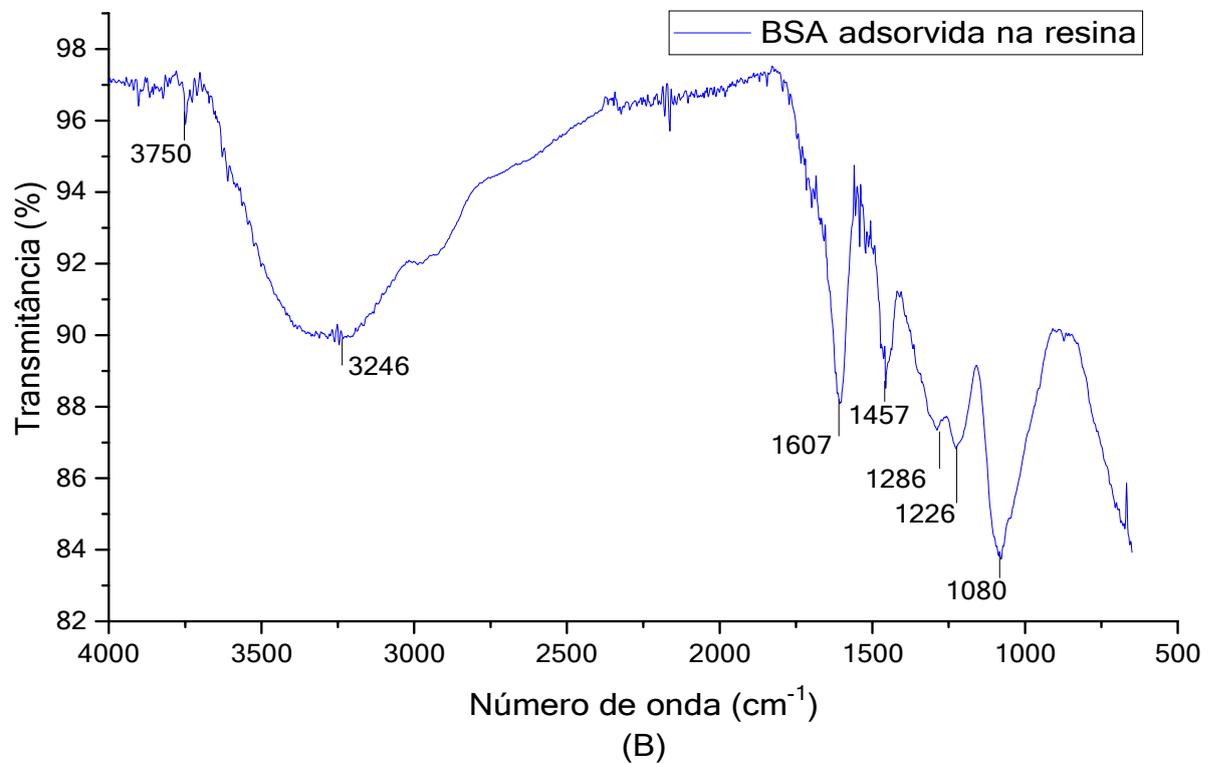
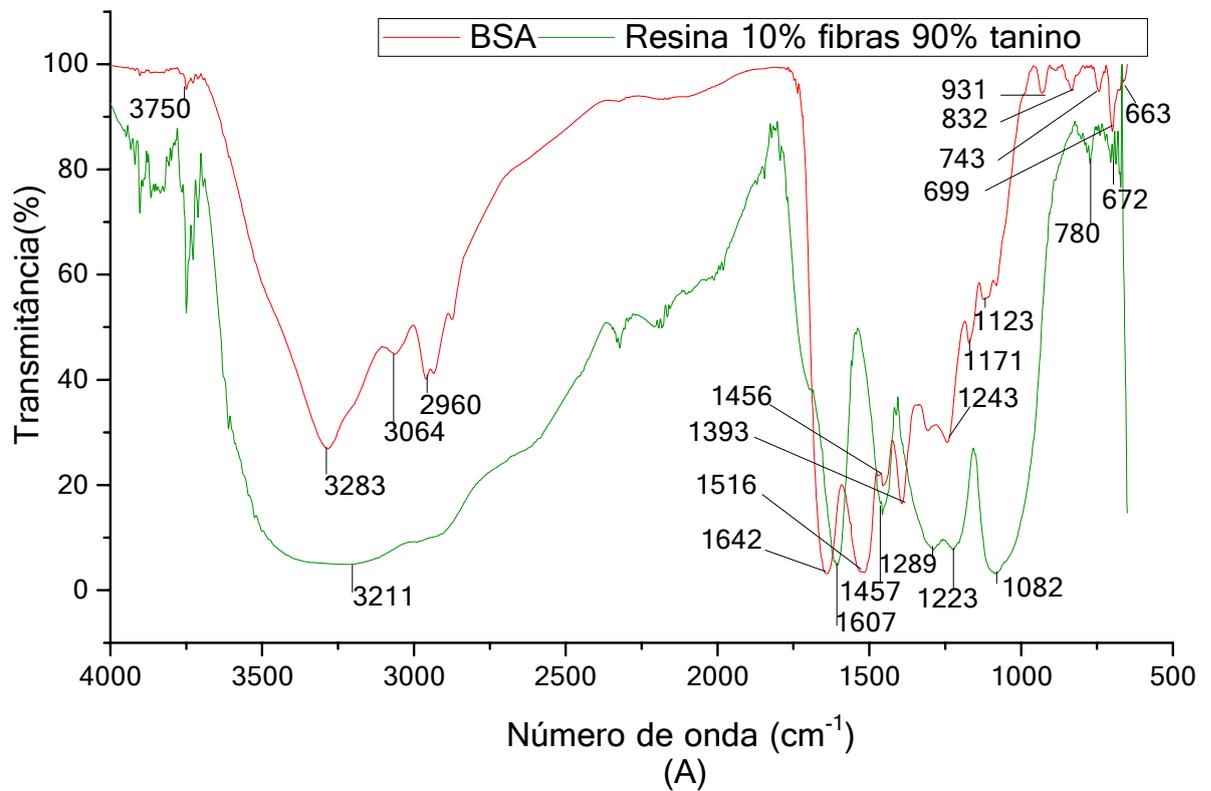
como agitação, decantação e sifonação, seriam suficientes para separar o adsorvente da água pós tratamento.

O valor alto da massa específica, junto aos baixos valores das demais propriedades, grau de inchamento, densidades aparente e de pacote, indicam capacidade de decantar em água, baixa absorção de água e alta capacidade de empacotamento. Segundo Luzardo et al. (2017) esses dados são vantajosos para adsorção e futuras aplicações em colunas, uma vez que facilitam o escoamento da água, portanto, reduzindo a perda de vazão.

5.5 Caracterização da resina antes e pós adsorção usando FTIR-ATR

A resina sintetizada contém as características dos seus componentes, no entanto, bandas são deslocadas, desaparecem ou surgem. O componente de maior concentração na resina é o tanino mimosa, composto principalmente por taninos condensados, seguido das fibras do eucalipto, compostas por taninos, lignina, celulose, hemicelulose, açúcares, proteínas vegetais, compostos inorgânicos, entre outros. O espectro da resina sintetizada (Figura 16A) apresenta características similares aos já relatados na literatura, tal como na resina de tanino mimosa-fibras de coco-nanotubos de carbono reportada por Luzardo et al. (2017), nesta, de tanino mimosa-fibras de eucalipto, uma nova banda surgiu entre $600-700\text{ cm}^{-1}$ com pico em 672 cm^{-1} , correspondendo a deformação fora do plano de grupos hidroxila (OH) de ligações de hidrogênio.

Figura 16 - Espectros FTIR-ATR da BSA e resina antes (A) e depois (B) da adsorção



Fonte: própria autora a partir de dados da pesquisa

A banda em 780 cm^{-1} é característica de benzenos mono e dissubstituídos, correspondendo a deformação fora do plano no caso de compostos aromáticos, também pode ser relacionada com o deslocamento de bandas entre $815\text{-}819\text{ cm}^{-1}$ relacionadas ao benzeno para-substituído com deformações C-H fora do plano que aparecem no tanino mimosa e são correspondentes a proantocianidinas (flavonoides com dois ou três grupos hidroxila no anel B) e podem estar presentes nos compostos dos taninos condensados oligoméricos complexos da casca de eucalipto, como identificou Luzardo et al. (2015).

Tanto o tanino mimosa quanto o eucalipto apresentam uma banda entre $1029\text{-}1032\text{ cm}^{-1}$ sugerindo a presença de deformação nas ligações CO do anel heterocíclico presente nos taninos condensados, conforme Luzardo et al. (2015). No espectro da resina essa banda se mantém expressiva, deslocada para 1082 cm^{-1} . Esses dois componentes ocasionaram no espectro da resina picos em bandas que lhes são características, nas proximidades de 1200 , 1300 , 1400 e 1600 cm^{-1} , eles sugerem, respectivamente, a presença de grupos fenólicos no eucalipto; alongamento do hidrogênio fenólico dos compostos tânicos; deformação angular de ligações OH de ácido carboxílico no eucalipto; e vibrações de ligações conjugadas CC em anel aromático fenólico ou vibração OH fora do plano. Essas mesmas características foram apontadas por Sartori et al. (2018), Correia et al. (2018) e Santos et al. (2019) em distintas espécies de eucalipto e em suas comparações com taninos de referência.

O espectro da resina não registrou banda em aproximadamente 1700 cm^{-1} , que poderia indicar a presença do grupo carbonila do aldeído componente da síntese da resina, e tal como em Luzardo et al. (2017), o espectro IV da resina produzida não gerou esse grupo, sugerindo que a reação de condensação ocorre entre o grupo metila do formaldeído e os poli-hidroxifenóis da mimosa, não conservando o grupo carbonila, como ilustra a Figura 13.

Após o processo de adsorção pela BSA a resina apresentou (Figura 16B) inexistência de bandas na região entre $800\text{-}655\text{ cm}^{-1}$, no espectro da resina pura essa área indica a existência de grupos OH e C-H característicos dos taninos. Também, na análise da BSA importantes grupos funcionais dos seus aminoácidos perderam característica, NH e C=O, segundo Kong e Yu (2007), eles podem ser

identificados a partir de estiramentos do NH em aproximadamente 3100 cm^{-1} e do C=O em $1600\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$.

Chama atenção o maior percentual de transmitância em todo o espectro da resina adsorvida pela BSA, assinalando menor concentração dos grupos funcionais que caracterizaram a resina pura, isso sugere que grupos CH, OH e CO da resina apresentam menor liberdade de vibração e novas interações e ligações químicas fortes com os grupos funcionais da BSA, CH, NH e C=O, possivelmente formando complexos, como concluiu Sekowski et al. (2018) estudando taninos hidrolisáveis interagindo com albumina humana.

A alta transmitância exibida pelo espectro da resina adsorvida por BSA pode conduzir a uma estimativa da baixa concentração dos grupos funcionais anteriormente identificados, isso leva a uma interpretação prática da investigação computacional de Codorniu-Hernández et al. (2005) a qual concluiu que as interações tanino-aminoácidos, independente do grupo de aminoácidos, são hidrofóbicas e hidrofílicas simultaneamente, ocorrem entre grupos hidroxila, éter e prótons dos anéis dos monômeros flavonoides e grupos amina e/ou amida, ácido carboxílico e cadeias C-H dos aminoácidos.

Neste trabalho, apesar de identificados na resina pós adsorção os picos em bandas entre $1080\text{--}1607\text{ cm}^{-1}$ comuns a resina pura, bem como a banda em 3750 cm^{-1} da BSA, as demais bandas desapareceram e outras estão indefinidas entre $1467\text{--}1607\text{ cm}^{-1}$ e $1607\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$, que provavelmente se referem aos traços dos aminoácidos, todas essas bandas apresentaram baixas concentrações. Isso caracteriza fortes interações resina-BSA, inclusive por ligações de hidrogênio entre os grupos amida e/ou amina e ácido carboxílico dos aminoácidos e os grupos OH fenólicos da resina, somadas as demais interações possíveis por meio dos grupos C-H e C-O da resina e C-H das cadeias peptídicas proteicas.

As bandas suprimidas do espectro da BSA adsorvida na resina provam a adsorção via interação dessas espécies, em especial, em aproximadamente 1600 cm^{-1} para a BSA característica de amida I e em aproximadamente 700 cm^{-1} para resina, que se relacionam com a existência de grupos fenólicos. Esses são os grupos funcionais mais ativos nas proteínas e na resina de taninos condensados, respectivamente, e dão margem para induzir que espécies orgânicas

funcionalizadas por grupos NH_2 sejam possíveis adsorbatos para a resina preparada.

Os cinco constituintes em maiores percentuais na BSA são leucina, ácido glutâmico, lisina, alanina e ácido aspártico (MAJOREK et al., 2012). Nas investigações de Codorniu-Hernández et al. (2005) a lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico, histidina e arginina foram os aminoácidos que interagiram com mais força e estabilidade tanto com os taninos resorcinólicos quanto com os fluroglucinólicos. Analisando apenas essa categoria de aminoácidos existe uma similaridade de 60% entre os cinco mais abundantes aminoácidos da BSA e os cinco melhores complexantes de taninos condensados. Em termos das características químicas nenhum desses aminoácidos citados apresenta grupo aromático e somente histidina possui uma cadeia fechada na sua estrutura. Provavelmente o menor efeito do impedimento estérico que limitaria a interação aminoácido-tanino tenha relação com esse ranqueamento dos melhores aminoácidos.

Em termo dos grupos de aminoácidos que compõem as proteínas, Codorniu-Hernández et al. (2005) afirmou que os melhores resultados são obtidos para os hidrofílicos ácidos e hidrofílicos básicos, que estão em percentuais relevantes na BSA, juntos são 33.98% de cada macromolécula. Os alifáticos são os mais abundantes na BSA, 34.63%, e o alifático leucina é o aminoácido mais abundante na biomolécula. Codorniu-Hernández et al. (2005) mostrou que os complexos com leucina são os mais estáveis do seu grupo para ambas as espécies flavonoides.

5.6 Influência da variação de pH na adsorção

Os grupos funcionais componentes da resina e também da proteína são alterados eletrostaticamente em função da variação de pH. A formação do complexo tanino-proteína é dependente do pH, máxima e ideal em torno do ponto isoelétrico (pI) da proteína (COGLITORE; JANOT; BALME, 2019) que para a BSA está na faixa de pH de 4,9-5,5 (LI et al., 2013).

Aqui foram realizados testes na faixa de pH 3-9. Somente em pH's 4, 5 e 6 os resultados foram positivos, mas não capazes de melhorar o resultado alcançado no meio livre de tampões. Segundo Latour (2020) cátions e ânions de sais dissociados em solução difundem a uma taxa muito mais rápida do que uma proteína, assim, antes da interação proteína-adsorvente, os sítios dos grupos funcionais carregados,

tanto da proteína quanto da superfície do material adsorvente, são ocupados com íons de carga oposta. Chama atenção que no pH 5 para ambos, independente do tampão utilizado, o percentual de remoção foi positivo, condição ligada ao pI da proteína. No trabalho de Shi et al. (2019) além de o melhor pH para a adsorção da BSA ser o 5, a adição salina reduziu a capacidade de adsorção da proteína na resina. Tomando esses resultados como base, as soluções de BSA continuaram sendo preparadas unicamente com água deionizada, que a conferiram pH de $\sim 5.32 \pm 0,02$, valor próximo ao pI da proteína.

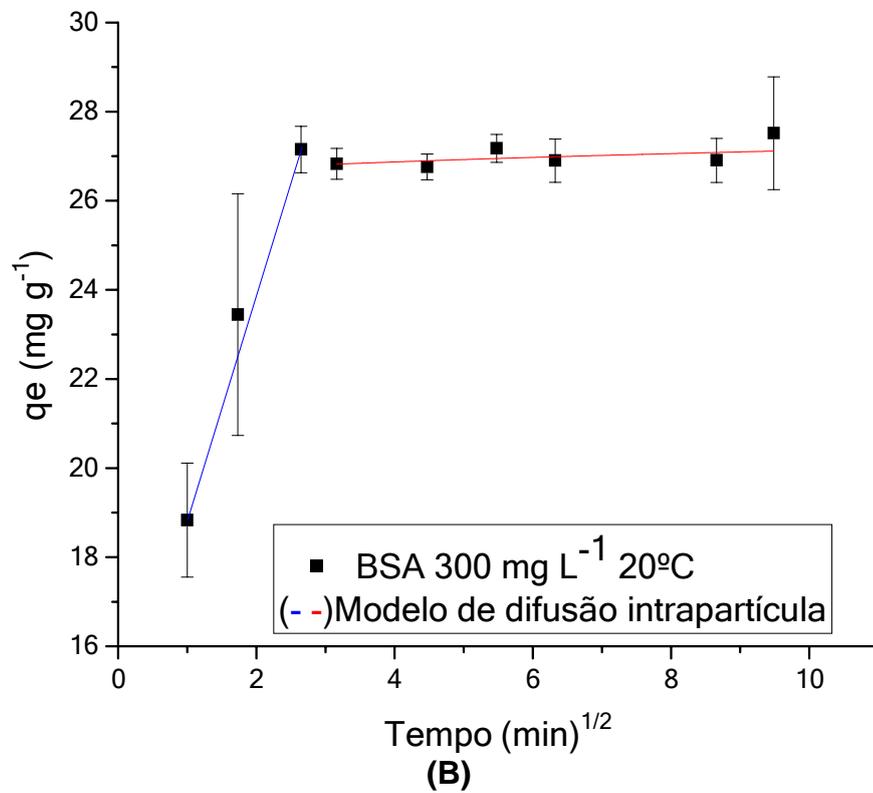
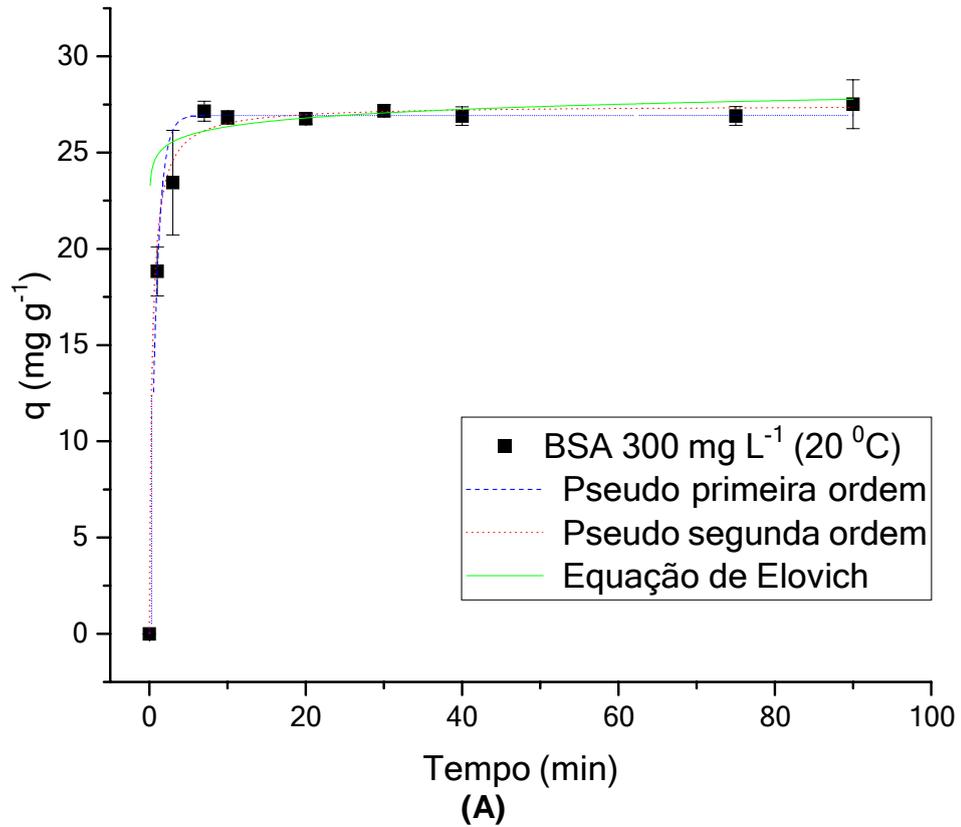
Os testes de dessorção não foram realizados nesse trabalho, no entanto, os dados de adsorção em função do pH dão a perspectiva de que a adsorção da proteína possa ser reversível em função da alteração do pH do meio para valores diferentes do pI. Isso pode aumentar a vida útil de adsorção da resina a partir da sua reutilização.

5.7 Estudo cinético da adsorção BSA-resina

Os estudos cinéticos e sucessivamente os isotérmicos foram realizados com experimentos em ambiente de temperatura controlada em 20 ± 1 °C, sob agitação constante de 70 rpm e em meio aquoso livre de íons. Aos dados cinéticos foi aplicado o procedimento de comparação múltipla para determinar quais médias tinham diferença mínima significativa de Fisher (LSD) com um nível de confiança de 95.0%, concluindo que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas para as médias experimentais de q a partir dos 7 minutos, Figura 17A.

O pequeno intervalo de tempo para o alcance do equilíbrio de adsorção, 7 min, é uma vantagem para a aplicação prática da resina e pode ser relacionado a grande afinidade existente entre taninos e proteínas, elevando a energia favorável para a ocorrência e velocidade da adsorção resina-BSA. Os modelos teóricos de cinética de adsorção foram aplicados aos dados experimentais a fim de gerar indicativos acerca do mecanismo de adsorção em função do tempo.

Figura 17 - Modelos teóricos frente aos dados experimentais da cinética de adsorção



Fonte: própria autora a partir de dados da pesquisa

O estudo dos dados cinéticos via pseudo primeira e segunda ordem, bem como pela equação de Elovich tiveram valores de R^2 próximos da unidade, no entanto, a equação de Elovich apresentou correlação forçada para o conjunto de dados, assim, o teste estatístico Qui-quadrado (3^2) foi analisado para os dados frente aos modelos de pseudo primeira e segunda ordem, sendo conclusivo por indicar menores discrepâncias entre os valores experimentais e os previstos teoricamente, desta forma o modelo de pseudo primeira ordem apresentou melhor ajuste, com R^2 mais próximo do valor 1 e 3^2 mais próximo de zero. Os parâmetros dos modelos cinéticos seguem dispostos na Tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros cinéticos frente aos modelos teóricos

Modelos de Cinética	Parâmetros			
Pseudo primeira ordem	q ($mg\ g^{-1}$)	$26,9 \pm 0,08$	R^2	0,9999
	k_1 (min^{-1})	$1,18 \pm 0,09$	3^2_{red}	0,3076
Pseudo segunda ordem	q ($mg\ g^{-1}$)	$27,5 \pm 0,20$	R^2	0,9998
	k_2 ($g\ mg^{-1}min^{-1}$)	$0,10 \pm 0,02$	3^2_{red}	0,9753
Equação de Elovich	a ($mmol\ g^{-1}min^{-1}$)	$2,9 \times 10^{16} \pm 7,0 \times 10^{17}$	R^2	0,9990
	Q ($g\ mmol^{-1}$)	$1,54 \pm 0,93$	3^2_{red}	3,9682
Modelo de Difusão Intrapartícula	K_{d1} ($mg\ g^{-1}min^{\frac{1}{2}}$)	$13,2 \pm 0,32$	K_{d2} ($mg\ g^{-1}min^{\frac{1}{2}}$)	$0,23 \pm 0,23$
	R^2_1	0,9994	R^2_2	0,1964
	$3^2_{red\ 1}$	0,0221	$3^2_{red\ 2}$	0,2529

Fonte: própria autora a partir de dados de pesquisa

O modelo cinético de pseudo primeira ordem descreve e representa a maior parte das interações que ocorreram no sistema de adsorção resina-BSA, quer dizer que, neste caso, a capacidade da superfície do sólido foi maior para estabelecer interações sem propriamente a ocorrência de ligações químicas entre os grupos funcionais da proteína e do adsorvente. Essa resposta experimental foi, também, averiguada por Anirudhan, Rejeena e Tharun, (2012) quando sintetizaram um adsorvente composto por tanino para a BSA em meio aquoso, a síntese se deu por reação de copolimerização de enxerto de glicidilmetacrilato em celulose densificada

com óxido de zircônio (ZDC) na presença de N,N-metilenobisacrilamida como reticulante seguido de imobilização de tanino, o sistema foi melhor representado pelo modelo de pseudo primeira ordem e o equilíbrio foi alcançado em 30 min.

A literatura apresenta trabalhos onde a quimissorção, representada por cinética de pseudo segunda ordem e/ou equação de Elovich foram majoritárias para adsorventes similares ao tratado nesta pesquisa, contudo, aplicados a adsorbatos com forte tendência a estabelecer ligações químicas iônicas, como o estudo de Sengil e Özacar (2009) para adsorção de íon Cu por meio de resina de taninos hidrolisáveis, onde o equilíbrio ocorreu a partir de 60 min ou a investigação de Luzardo et al. (2017) para a resina taninos condensados-fibras de coco-nanotubos de carbono adsorvente de íons Pb, onde o equilíbrio foi alcançado a partir de 24 h, sem agitação. Essas situações experimentais são, portanto, diferentes da interação resina taninos condensados-fibras de eucalipto com a proteína BSA.

Somente o modelo de pseudo primeira ordem é insuficiente para tratar de todas as especificidades de um processo de adsorção, assim, a análise via difusão intrapartícula se faz necessária e complementar. Os gráficos de difusão intrapartícula (Figura 17B) ilustram três estágios de adsorção: o primeiro minuto, onde a adsorção ocorre com rapidez, essa conclusão vem dos dados apresentados a partir do primeiro minuto, onde já se encontra um percentual de massa de proteína adsorvida, possivelmente a maior concentração de proteínas no meio faz com que as mesmas migrem para a superfície do sólido a uma alta taxa desde os primeiros segundos de contato físico sob agitação, vencendo e ocupando o lugar da água que rodeia e interage com o sólido.

Segundo a Figura 17B de difusão intrapartícula, os 6 minutos após o primeiro representam o segundo estágio de adsorção, uma crescente interação da superfície com a BSA, onde a proteína difunde para poros e fissuras encontradas na estrutura das partículas heterogêneas e sem uniformidade do adsorvente. Os parâmetros tabelados (Tabela 7) apontam que esses dados correlacionaram bem com o modelo de difusão intrapartícula, com R^2 0,9994 e baixo 3^2 , o que não ocorreu para o último estágio a partir dos 7 minutos, esse consiste na fase lenta, pois é o momento de equilíbrio da adsorção/dessorção e o adsorvente chega a sua capacidade máxima de adsorção. Nesta fase o modelo de difusão intrapartícula não convergiu bem, todavia, isso é compreensível, pois essa já não é uma etapa controlada por forças

de difusão, mas provavelmente por forças de equilíbrio da adsorção/dessorção na superfície.

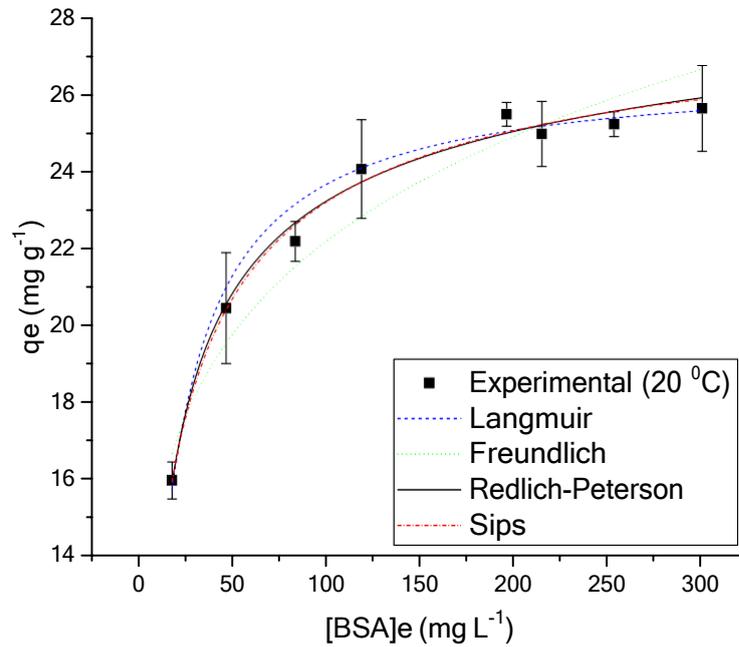
Segundo Bazzaz et al. (2018) matematicamente, se os gráficos de q_t versus $t^{1/2}$ passarem pela origem, então, a difusão intrapartícula é a única etapa de controle da taxa de adsorção. Portanto, segundo os dados (Figura 17B) nenhuma das retas passa pela origem, então, outros fatores podem exercer controle na adsorção da BSA pela resina, como a ocupação da superfície adsorvente pelo desdobramento das proteínas adsorvidas (LATOURET, 2020), assim, os espaços e conseqüentemente os sítios ativos são preenchidos rapidamente por uma mesma quantidade de proteínas.

A hipótese de que os grupos funcionais dos aminoácidos da BSA poderiam interagir fortemente com os sítios ativos da resina de tanino-fibras de eucalipto via ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e hidrofílicas se prova positiva, pois a transferência de massa de proteína em solução para a superfície e porosidades do adsorvente foi o mecanismo de determinação do processo de adsorção em vez de quimissorção. Os experimentos apontam que a adsorção BSA-resina cresceu com o aumento da concentração de taninos e maior superfície de contato no adsorvente (Figura 15), por outro lado, caiu com o aumento da carga iônica no meio como mostrou o estudo da adsorção em função do pH, conclui-se que a composição e disponibilidade dos sítios ativos da superfície são cruciais nessa adsorção, como mostra o espectro no IV da resina pós adsorção (Figura 16B), onde os sítios ativos livres antes caracterizados foram ocupados e perderam concentração.

5.8 Estudo isotérmico da adsorção BSA-resina

Os modelos de isoterma de adsorção ilustrados na Figura 18 complementados pelos seus parâmetros (Tabela 8) explanam o esperado, dada a natureza heterogênea da resina produzida a partir de matrizes naturais complexas, taninos condensados mimosa-fibras das cascas de eucalipto. Os modelos que melhor convergiram com os dados foram aqueles baseados na junção dos modelos de Langmuir e Freundlich, portanto, o de Redlich Peterson e o de Sips. Numa ordem de melhores ajustes pode-se descrever que Sips > Redlich Peterson > Langmuir > Freundlich.

Figura 18 - Modelos teóricos e modelo experimental da isoterma de adsorção



Fonte: própria autora a partir de dados de pesquisa

Tabela 8 - Parâmetros isotérmicos frente aos modelos teóricos

Modelos de Isoterma	Parâmetros (20 °C)			
Experimental	$q_{experimental} (mg g^{-1})$	$25,3 \pm 0,68$		
Langmuir	$q_m (mg g^{-1})$	$26,7 \pm 0,29$	R^2	0,9810
	$K_L (L mg^{-1})$	$0,08 \pm 0,01$	3^2_{red}	1,0523
	$K_F (mg g^{-1}) / (L mg^{-1})^{1/n}$	$10,2 \pm 0,90$	R^2	0,9550
	n	$5,96 \pm 0,61$	3^2_{red}	2,4933
	$K_R (L g^{-1})$	$2,73 \pm 0,72$	R^2	0,9858
Redlich-Peterson	$a_R (mg L^{-1})$	$0,13 \pm 0,06$	3^2_{red}	0,9406
	g	$0,95 \pm 0,04$		
Sips	$q_s (mg g^{-1})$	$28,6 \pm 1,98$	R^2	0,9873
	$a_s (L g^{-1})$	$0,15 \pm 0,06$	3^2_{red}	0,8461
	n_s	$1,39 \pm 0,34$		

Fonte: própria autora a partir de dados da pesquisa

Para Coglitore, Janot e Balme (2019) esforços são necessários para definir um novo modelo de isoterma para substituir os modelos de Langmuir e Freundlich no caso da adsorção de proteínas, pois, seus significados físicos são insuficientes

por não incluírem a heterogeneidade dos materiais adsorventes junto as possíveis orientações e conformação das diferentes proteínas. Nesse sentido, modelos resultantes da união dos de Langmuir e Freundlich já são um avanço mais condizente com a realidade das especificidades da adsorção de proteínas, especialmente em superfícies complexas.

Neste caso experimental, os melhores ajustes para os dados experimentais foram alcançados pelo modelo teórico de Sips, com maior R^2 0.9873 e menor χ^2 0.8461. Esse modelo assemelha-se com a isoterma de Freundlich em menor concentração de soluto e com a isoterma de Langmuir em maior concentração de soluto, baseia-se na teoria de que os sítios ativos do adsorvente possuem energias heterogêneas (ANIRUDHAN e SENAN, 2011). A diversidade da composição química da resina adsorvente taninos condensados-fibras das cascas de eucalipto, resultando em distintos sítios ativos hidrofóbicos e hidrofílicos, torna condizente a modelagem da sua interação com a BSA via a teoria do modelo de Sips.

O modelo de Langmuir, no entanto, melhor se aplicou para determinar a capacidade máxima de adsorção q_{mL} , 26.7 ± 0.29 , com menor desvio padrão calculado para q e valor mais próximo do obtido experimentalmente na faixa de equilíbrio de adsorção. A aplicação de mais de um modelo ajustável aos dados experimentais é comum, especialmente a fim de caracterizar a interação superfície-proteína frente a um modelo e calcular q_m a partir da isoterma de Langmuir, como fez Anirudhan, Rejeena e Tharun (2012) e Bazzaz et al. (2018).

A Tabela 9 a seguir compara os resultados desse trabalho com outros já publicados para a BSA. Alguns materiais comerciais ou em desenvolvimento apresentam q_{mL} maiores que o aqui alcançado, outros são similares ou menores. Chama atenção a comparação da resina funcionalizada com ácido tânico de Li et al. (2020) com a descrita neste trabalho, a segunda possui capacidade de adsorção para a BSA muito maior.

Acrescenta-se que todos os trabalhos, com exceção deste, precisaram de tampão para encontrar o melhor pH de adsorção e nenhum deles obteve tempo de equilíbrio de adsorção tão baixo quanto a resina aqui descrita. A rápida cinética da resina tanino-fibras de eucalipto é um diferencial que agrega maior eficiência na adsorção.

Tabela 9 - Comparação das capacidades de adsorção de Langmuir para BSA de diferentes adsorventes comerciais e em desenvolvimento

Adsorvente	pH/ tempo/ °C	q _{mL} (mg/g)	Fonte
Resina comercial Nuvia cPrime Nuvia com p-aminohippuric acid	pH 4,0/ 4 h/ 25 °C	122,6	(YAN et al., 2014)
	pH 5,0/ 20 min/ 25 °C	59,74	
Resina agarose-brometo de alila- N-bromossuccinimida- triptamina	pH 6,0/ 20 min/ 25 °C	51,81	(SHI et al., 2019)
	pH 7,0/ 20 min/ 25 °C	46,80	
Feltro de nanofibra de celulose eletrofiado	pH 8,0/ 24h/ --	40	(MENKHAUS; FONG, 2019)
Membrana comercial de celulose regenerada	pH 8,0/ 24h/ --	33,5	(MENKHAUS; FONG, 2019)
Resina comercial Nuvia cPrime Nuvia com p-aminohippuric acid	pH 6,0/ 4 h/ 25 °C	28,1	(YAN et al., 2014)
Resina tanino-fibras de eucalipto	pH 5,3/ 7 min/ 20 °C	26,7	Este trabalho
Feltro de microfibra de celulose regenerada	pH 8,0/ 24h/ --	14,5	(MENKHAUS; FONG, 2019)
Bola de algodão	pH 8,0/ 24h/ --	15,5	(MENKHAUS; FONG, 2019)
Resina quitosana-ácido tânico	--/ --/ 25 °C	1,094	
	--/ --/ 35 °C	1,487	(LI et al., 2020)
	--/ --/ 45 °C	1,694	

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nos experimentos realizados mostraram que é possível imobilizar taninos no interior de fibras lignocelulósicas naturais, bem como sintetizar resina polimérica de taninos condensados naturais-fibras das cascas de eucalipto-formaldeído mantendo impressas no material as características químicas dos componentes do mesmo, como os seus grupos funcionais.

As fibras das cascas de eucalipto foram incorporadas na composição da resina agregando concentração tânica, com forte expressão dos grupos OH, bem como características físicas importantes, além de ancorarem os taninos em sua superfície conferiram mais maciez para a resina produzida, reduzindo os custos de moagem do produto.

As características de composição deram à resina propriedades físicas interessantes, a mesma é mais densa que a água, permanecendo embaixo do fluxo em tratamento, reduzindo perdas e etapas para a sua posterior separação, e possui boas propriedades para empacotamento em colunas cromatográficas.

A resina apresentou boa remoção de moléculas de BSA em água com boa capacidade de adsorção em curto tempo de contato. O melhor percentual de remoção por pH foi obtido na faixa do pI da BSA, $\sim 5,32 \pm 0,02$, usando solução da BSA em água deionizada. Este estudo aponta que a dessorção da BSA e possível reutilização da resina é uma possibilidade via extração com solvente aquoso em pH diferente do pI. A perspectiva desse trabalho é, ainda, de que a resina adsorvida de proteína possa ser reutilizada na geração de adesivos, géis, entre outros.

O espectro FTIR-ATR da BSA mostrou que seus grupos amina e amida são ativos e expressivos, do mesmo modo que o espectro da resina produzida apresentou características tânicas fortes, como grupos éter e hidroxilas fenólicas, no entanto, no espectro da BSA adsorvida na resina algumas bandas desapareceram, especialmente em aproximadamente 1600 cm^{-1} para a BSA e 700 cm^{-1} para resina. Esses dados dão margem para induzir que espécies orgânicas funcionalizadas por grupos NH_2 sejam possíveis adsorbatos para a resina preparada.

A resina sintetizada pode atingir uma capacidade máxima de adsorção em 7 min. Os ajustes aos modelos de isoterma seguem a sequência Sips > Redlich Peterson > Langmuir > Freundlich. O melhor ajuste para a isoterma corresponde ao

modelo de Sips que caracteriza o sistema e superfície adsorvente como heterogêneos. O modelo de Langmuir, no entanto, foi mais condizente para a determinação da capacidade máxima de adsorção da BSA, $\sim 26,7 \text{ mg g}^{-1}$. A cinética de adsorção que melhor se ajustou aos dados foi a pseudo primeira ordem, descrevendo as interações resina-BSA como prioritariamente físicas, sem trocas de elétrons.

O modelo de difusão intrapartícula complementou a análise cinética, mostrou que a adsorção se deu rapidamente a partir dos primeiros segundos de contato resina-BSA e nos seguintes 6 minutos ocorreu a difusão das moléculas de proteína para superfície, poros e fissuras das partículas de proteínas, seguida da zona de equilíbrio adsorção/dessorção, etapa lenta e que não se ajusta bem ao modelo de difusão intrapartícula.

A resina sintetizada apresenta uma nova perspectiva para produção de superfícies adsorventes para proteínas, sua composição baseada em produtos de fonte natural junto aos resultados do teste de adsorção aqui relatado a tornam comparável a outros materiais, tanto de linhas industriais quanto em desenvolvimento.

Os positivos resultados quanto a eficácia da adsorção da BSA como proteína padrão favorece as expectativas de aplicações dessa resina para outras proteínas, pois a mesma é constituída pelos 20 aminoácidos essenciais, assim, outras proteínas ou compostos proteicos que possam vir a ser testados terão um percentual de similaridade com a proteína padrão BSA já testada.

Com base nos resultados obtidos sobre sua capacidade de adsorção, é possível concluir que a nova resina sintetizada é uma boa alternativa para futura utilização no tratamento de água, fluidos biológicos e demais misturas contendo proteínas ou espécies proteicas, que contenham em sua estrutura maiores percentuais dos aminoácidos lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico, histidina e arginina e/ou daqueles com características alifáticas, hidrofílicas ácidas e/ou hidrofílicas básicas, ademais as perspectivas são promissoras para positivos resultados de adsorção de moléculas contendo grupos NH_2 ativos.

A expectativa é de que fluidos hospitalares, laboratoriais, de laticínios, abatedouros, domésticos, entre outros, são candidatos promissores para possível descontaminação baseada nos teores de proteínas e de espécies proteicas. Estudos complementares são necessários para averiguar a aplicabilidade da resina como

recheio de colunas cromatográficas a fim de auxiliar a identificar, separar, purificar e/ou concentrar proteínas específicas, haja vista a dependência da adsorção de proteínas pelo pl.

Dada a natureza polimérica da resina e ainda a manutenção das características táticas na mesma, ensaios biológicos e toxicológicos, são necessários a fim de ampliar as possibilidades de aplicações desse material, inclusive para testes de incorporação a outros materiais na geração de produtos bioativos, como plásticos, tecidos, novas resinas.

A resina aqui descrita e testada para a adsorção da proteína padrão BSA apresentou resultados analíticos e características físicas e químicas que a dão possibilidades além da adsorção da proteína BSA em meio aquoso laboratorial. Novos estudos e testes são necessários tomando como base os dados aqui relatados que são promissores para a geração de novos materiais e aplicações desta resina em métodos além dos que foram aqui testados.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, O. N.; MENEZES, R. M.; NUNES, L. S. LEMOS, V. A.; LUZARDO, F. H. M.; VELASCO, F. G. Conversion of an invasive plant into a new solid phase for lead preconcentration for analytical purpose. **Environmental Technology & Innovation**, v. 21, p. 336-346, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101336>.

ALMEIDA, O. N.; LUZARDO, F. H. M.; AMORIM, F. A. C. , VELASCO, F. G.; GONZÁLEZ, L. N. Use of fiberglass support in the application of dried-spot technique with dispersion liquid-liquid microextraction for the determination of Co , Cr, Cu , Ni and Pb by Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 150, p. 92-98, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2018.10.013>.

ANIRUDHAN, T. S.; REJEENA, S. R.; THARUN, A. R. Preparation, characterization and adsorption behavior of tannin-modified poly(glycidylmethacrylate)-grafted zirconium oxide-densified cellulose for the selective separation of bovine serum albumin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 93, p. 49-58, 2012. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2011.12.010](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.12.010).

ANIRUDHAN, T. S.; SENAN, P. Adsorptive potential of sulfonated poly(glycidylmethacrylate)-grafted cellulose for separation of lysozyme from aqueous phase: Mass transfer analysis, kinetic and equilibrium profiles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 377, p. 156-166, 2011. DOI: [10.1016/j.colsurfa.2010.12.041](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.12.041).

ARAÚJO, C. S. T.; MELO, E. I.; ALVES, V. N.; COELHO, N. M. M. Moringa oleifera Lam. seeds as a natural solid adsorbent for removal of AgI in aqueous solutions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 1727-1732, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000900019>.

ARBENZ, A.; AVÉROUS, L. Chemical modification of tannins to elaborate aromatic biobased macromolecular architectures. **Green Chemistry**, v. 15, p. 2626-2646, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C5GC00282F>.

ARTAN, M.; LI, Y.; KARADENIZ, F.; LEE, S.-H.; KIM, M.-M.; KIM, S.-K. Anti-HIV-1 activity of phloroglucinol derivative , 6,6'-bieckol, from *Ecklonia cava*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 7921-7926, 2008. DOI: [10.1016/j.bmc.2008.07.078](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.078).

BALANDRÁN-QUINTANA, R. R. Recovery of proteins from cereal processing by-products. In: GALANAKIS, C. M. **Sustainable Recovery and Reutilization of Cereal Processing By-Products**. Elsevier, 2018, cap. 5, p. 125-157. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102162-0.00005-8>

BAZZAZ, F.; BINAËIAN, E.; HEYDARINAB, A.; GHADI, A. Adsorption of BSA onto hexagonal mesoporous silicate loaded by APTES and tannin: Isotherm, thermodynamic and kinetic studies. **Advanced Powder Technology**, v. 29, p. 1664-1675, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apt.2018.04.001>.

BEART, J. E.; LILLEY, T. H.; HASLAM, E. Polyphenol Interactions. Part 2. Covalent

Binding of Procyanidins to Proteins during Acid-catalysed Decomposition; Observations on Some Polymeric Proanthocyanidins. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, v. 11, p. 1-5, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1039/P29850001439>.

BEHERE, K.; YOON, S. n-Layer BET adsorption isotherm modeling for multimeric Protein A ligand and its lifetime determination. **Journal of Chromatography B**, v. 11, 62, p. 122-133, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122434>.

BETHI, C. M. S.; NARAYAN, B.; MARTIN, A.; KUDRE, T. G. Recovery, physicochemical and functional characteristics of proteins from different meat processing wastewater streams. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 25119-25131, 2020. DOI:10.1007/s11356-020-08930-x.

BOFILL-MAS, S.; CLEMENTE-CASARES, P.; ALBIÑANA-GIMÉNEZ, N.; PORTA, C. M. DE M.; GONFA, A. H.; LLOP, R. G. Efectos sobre la salud de la contaminación de agua y alimentos por virus emergentes humanos. **Revista española de salud pública**, v. 79, p. 253-269, 2005. DOI:10.1590/S1135-57272005000200012.

BOULOS, S. P.; DAVIS, T. A.; YANG, J. A.; LOHSE, S. E.; ALKILANY, A. M.; HOLLAND, L. A.; MURPHY, C. J. Nanoparticle-protein interactions: A thermodynamic and kinetic study of the adsorption of bovine serum albumin to gold nanoparticle surfaces. **Langmuir**, v. 29, p. 14984-14996, 2013. DOI: [dx.doi.org/10.1021/la402920f](https://doi.org/10.1021/la402920f).

BRAGHIROLI, F. L.; AMARAL-LABAT, G.; BOSS, A. F. N.; LACOSTE, C.; PIZZI, A. Tannin Murphy in Gels and Their Carbon Derivatives: A Review. **Biomolecules**, v. 9, p. 1-34, 2019. DOI:10.3390/biom9100587.

BRASIL. Ministro de Estado da Saúde. **Portaria MS n. 2914/2011**. Diário Oficial da União, 14 dez, p. 1-16, 2011.

BREATHNACH, A. S.; CUBBON, M. D.; KARUNAHARAN, R. N.; POPE, C. F.; PLANCHE, T.D. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in two hospitals: association with contaminated hospital waste-water systems. **Journal of Hospital Infection**, v. 82, p. 19-24, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2012.06.007>.

BITTON, G. Adsorption of viruses onto surfaces in soil and water. **Water Research**, v. 9, p. 473-484, 1975. DOI:10.1016/0043-1354(75)90071-8.

BITTON, G.; PANCORBO, O.; GIFFORD, G. E. Factors affecting the adsorption of polio virus to magnetite in water and wastewater. **Water Research**, v. 10, p. 973-980, 1976. DOI:10.1016/0043-1354(76)90075-0.

BUJACZ, A. Structures of bovine, equine and leporine serum albumin. **Acta Crystallographica Section D**, v. 68, p. 1278-1289, 2012. DOI:10.1107/S0907444912027047.

CHAI, W.; WEI, Q.-M.; DENG, W.-L.; ZHENG, Y.-L.; CHEN, X.-Y.; HUANG, Q.; OUYANG, C.; PENG, Y.-Y. Function anti-melanogenesis properties of condensed tannins from *Vigna angularis* seeds with potent antioxidant and DNA damage protection activities. **Food & Function**, v. 22, p. 99-111, 2018. DOI:

10.1039/c8fo01979g.

CHANG, M.; QIN, Q.; WANG, B.; XIA, T.; LV, W.; SHI, X. X.; XU, GUOWANG. Carboxymethylated polyethylenimine modified magnetic nanoparticles specifically for purification of His-tagged protein. **Journal of Separation Science**, v. 42, p. 744-753, 2019. DOI: 10.1002/jssc.201800969.

CHONOVA, T.; KECK, F.; LABANOWSKI, J.; MONTUELLE, B.; RIMET, F.; BOUCHEZ, A. Science of the total environment separate treatment of hospital and urban wastewaters: A real scale comparison of effluents and their effect on microbial communities. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 965-975, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.161>.

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G. Are tannins a sword in biology and health? **Food Science & Technology**, v. 9, p. 168-175, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00028-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00028-4).

CODORNIU-HERNÁNDEZ, E.; MESA-IBIRICO, A.; MONTERO-CABRERA, L. A.; MARTÍNEZ-LUZARDO, F.; BORRMANN, T.; STOHRER, W.-D. Theoretical study of flavonoids and proline interactions. Aqueous and gas phases. **Journal of Molecular Structure**, v. 623, p. 63-73, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(02\)00663-2](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(02)00663-2).

CODORNIU-HERNÁNDEZ, E.; MESA-IBIRICO, A.; HERNÁNDEZ-ANTIESTEBAN, R.; MARTÍNEZ-LUZARDO, F.; MONTERO-CABRERA, L. A.; SANTANA-ROMERO, J. L.; BORRMANN, T.; STOHRER, W.-D. Essential Amino Acids Interacting with Flavonoids: A theoretical Approach. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 103, p. 82-104, 2005. DOI: 10.1002/qua.20391.

COGLITORE, D.; JANOT, J.; BALME, S. Protein at liquid solid interfaces: Toward a new paradigm to change the approach to design hybrid protein / solid-state materials. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 270, p. 278-292, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.07.004>.

CONAMA. **Resolução n. 357, 18 de março de 2005**. Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 2005.

CONAMA. **Resolução n. 430, de 13 de maio de 2011**. Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 2011.

CORREIA, I. K. DA S.; SANTOS, P. F.; SANTANA, C. S.; NERIS, J. B.; LUZARDO, F. H. M.; VELASCO, F. G. Application of coconut shell, banana peel, spent coffee grounds, eucalyptus bark, piassava (*Attalea funifera*) and water hyacinth (*Eichornia crassipes*) in the adsorption of Pb²⁺ and Ni²⁺ ions in water. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, p. 2319-2334, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.033>.

DAS, B.; SARKAR, S.; SARKAR, A.; BHATTACHARJEE, S.; BHATTACHARJEE, C. Recovery of whey proteins and lactose from dairy waste: A step towards green waste management. **IChemE - Process Safety and Environmental Protection**, v. 101, p. 27-33, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2015.05.006>.

DHABHAI, R.; NIU, C. H.; DALAI, A. K. Agricultural byproducts-based biosorbents for

purification of bioalcohols: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, p. 1-14, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40643-018-0223-7>.

DI PALMA, G.; KOTOWSKA, A.; HART, L.; SCURR, D.; RAWSON, F. J.; TOMMASONE, S.; MENDES, P. M. Reversible, high-affinity surface capturing of proteins directed by supramolecular assembly. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 11, p. 8937-8944, 2019. DOI: 10.1021/acsami.9b00927.

EL-DESOKY, H. S.; GHONEIM, M. M.; KHATTAB, A. E. A first efficient voltammetric approach for detection of octreotide, an octapeptide analogue of somatostatin natural hormone, in sandostatin intramuscular injection and human plasma based on modification free electrochemical sensor. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 166, p. 276-289, 2019. DOI: 10.1149/2.0911904jes.

FIOCRUZ. Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (EPSJV), 2020. **Geosmina**: a ponta do iceberg. Disponível em <<https://www.epsjv.fiocruz.br/noticias/reportagem/geosmina-a-ponta-do-iceberg>>. Acesso em: 13 nov. 2020.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, p. 2-10, 2010. DOI:10.1016/j.cej.2009.09.013.

FUNKE, J.; PRASSE, C.; EVERSLOH, C. L.; TERNES, T. A. Oxypurinol e A novel marker for wastewater contamination of the aquatic environment. **Water research**, v. 74, p. 257-265, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.007>.

GRASEL, F. dos S.; FERRÃO, M. F.; WOLF, C. R. Ultraviolet spectroscopy and chemometrics for the identification of vegetable tannins. **Industrial Crops & Products**, v. 91, p. 279-285, 2016a. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.022>.

GRASEL, F. dos S.; FERRÃO, M. F.; WOLF, C. R. Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 153, p. 94-101, 2016b. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.08.020>

HAGERMAN, A. E. **Tannin Chemistry**. Oxford: Miami University, 2002. [s.n.]. Disponível em: <www.users.muohio.edu/hagermae/>. Acesso em: 15 nov. 2019.

HASLAM, E. Vegetable tannins - Lessons of a phytochemical lifetime. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2713-2721, 2007. DOI:10.1016/j.phytochem.2007.09.009.

HUA, M.; LU, J.; QUA, D.; LIUA, Q.; ZHANGA, L.; LIA, S.; CHENA, J.; SUNA, Y. Structure, physicochemical properties and adsorption function of insoluble dietary fiber from ginseng residue: A potential functional ingredient. **Food Chemistry**, v. 286, p. 522-529, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.114>.

HUANG, Q.; LIU, X.; ZHAO, G.; HU, T.; WANG, T. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. **Animal Nutrition**, v. 4, p. 137-150, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.004>.

HWANG, J.; ZHANG, L.; SEO, S.; LEE, Y.-W.; JAHNG, D. Protein recovery from excess sludge for its use as animal feed. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8949-

8954, 2008. DOI:10.1016/j.biortech.2008.05.001.

IP, A. W. M.; BARFORD, J. P.; MCKAY, G. A comparative study on the kinetics and mechanisms of removal of Reactive Black 5 by adsorption onto activated carbons and bone char. **Chemical Engineering Journal**, v. 157, p. 434-442, 2010. DOI:10.1016/j.cej.2009.12.003.

KHANBABAEE, K.; REE, T. VAN. Tannins: Classification and definition. **Nat. Prod. Rep.**, v. 18, p. 641-649, 2001. DOI: 10.1039/b101061l.

KONG, J.; YU, S. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, 2007, v. 39, p. 549-559, 2007. DOI: 10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x.

KURUP, G. G.; ADHIKARI, B.; ZISU, B. Recovery of proteins and lipids from dairy wastewater using food grade sodium lignosulphonate. **Water Resources and Industry**, v. 22, p. 100-114, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wri.2019.100114>.

LACOSTE, C.; BASSO, M.C.; PIZZI, A.; CELZARD, A.; LABORIE, M-P. Natural albumin / tannin cellular foams. **Industrial Crops & Products**, v. 73, p. 41-48, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.087>.

LAHRICH, S.; LAGHRIB, F.; FARAHI, A.; BAKASSE, M.; SAQRANE, S.; EL MHAMMEDI, M. A. Review on the contamination of wastewater by COVID-19 virus: Impact and treatment. **Science of The Total Environment**, v. 751, p. 1-9, 2021. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.142325.

LARGITTE, L.; PASQUIER, R. A review of the kinetics adsorption models and their application to the adsorption of lead by an activated carbon. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 109, p. 495-504, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2016.02.006>.

LATOURE, R. A. Fundamental Principles of the Thermodynamics and Kinetics of Protein Adsorption to Material Surfaces. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 191, p. 992-1002, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.110992>.

LAU, H. H.; MURNEY, R.; YAKOVLEV, N. L.; NOVOSELOVA, M. V.; LIM, S. H.; ROY, N.; SINGH, H.; SUKHORUKOV, G. B.; HAIGH, B.; KIRYUKHIN, M. V. Protein-tannic acid multilayer films: A multifunctional material for microencapsulation of food-derived bioactives. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 505, p. 332-340, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2017.06.001>.

LEADER, B; BACA, Q. J; GOLAN, D. E. Protein Therapeutics Summary. **Nature reviews Drug discovery**, v. 7, p. 21-39, 2008. DOI:10.1038/nrd2399.

LI, H.; WANG, D.; WANG, X.; XU, Y.; ZHANG, L.; LIU, B. Study on preparation and properties of tannins immobilized chitosan-Ce⁴⁺ resins. **Journal of Rare Earths**, v. 28, p. 144-148, 2010. DOI: 10.1016/S1002-0721(10)60287-6.

Li, H. -Y.; LIU, R. M.; ZHAO, Q. Adsorption of bovine serum albumin onto tannic acid-immobilized chitosan resin. **Fibers and Polymers**, v. 21, p. 2440-2447, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12221-020-9667-4>.

LI, J.; LIAO, X.-P.; ZHANG, Q.-X.; SHI, B. Adsorption and separation of proteins by

collagen fiber adsorbent. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 928, p. 131-138, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.03.031>

LIMA, L.; OLIVARES, S.; MARTINEZ, F.; TORRES, J.; ROSA, D. de la; SEPTILVEDA, C. Use of immobilized tannin adsorbent for removal of Cr(VI) from water. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 231, p. 35-40, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02388001>.

LUZARDO, F. H. M.; VELASCO, F. G.; ALVES, C. P.; CORREIA, I. K. da S.; CAZORLA, L. L. Chemical characterization of agroforestry solid residues aiming its utilization as adsorbents for metals in water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, p.77-83, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n1p77-83>.

LUZARDO, F. H. M.; VELASCO, F. G.; CORREIA, I. K. da S.; SILVA, P. M.S.; SALAY, L. C. Removal of lead ions from water using a resin of mimosa tannin and carbon nanotubes. **Environmental Technology and Innovation**, v. 7, p. 219-228, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eti.2017.03.002>.

LUZARDO, F. H. M.; HERNÁNDEZ, J. T.; CAZORLA, L. T.; MAYWORM, M. A. S.; ARRUDA, J. N. D. DE T.; CESTARI, A. C. **Método químico de inmovilización de taninos en la corteza y su utilización para remover metales pesados de aguas**. Depositantes: Instituto Superior de Ciencias y Tecnología Nucleares (Cu); Organização Santamarense de Educação e Cultura (Br). CU n. 22929 A3, Depósito: 26 abr. 2001, Concessão: 20 fev. 2004. Disponível em: <http://www.ocpi.cu/patentes/textos/t01-0100.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2019.

MAJOREK, K. A.; POREBSKI, P. J.; DAYAL, A.; ZIMMERMAN, M. D.; JABLONSKA, K.; STEWART, A. J.; CHRUSZCZ, M.; MINOR, W. Structural and immunologic characterization of bovine, horse and rabbit serum albumins. **Molecular Immunology**, v. 52, p. 174-182, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2012.05.011>

MARHOL, M. Physical, physico-chemical and chemical properties of ion exchange resins and their determination. **Comprehensive Analytical Chemistry**, Elsevier, 1982, cap 3, p. 81-133. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-99717-3.50010-3>.

MARQUES, G. S.; MONTEIRO, R. P. M.; LEÃO, W. de F.; LYRA, M. A. M.; PEIXOTO, M. S.; ROLIM-NETO, P. J.; XAVIER, H. S.; SOARES, L. A. de L. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata*. **Química Nova**, v. 35, p. 517-522, 2012. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/default.asp?ed=135>. Acesso em: 13 jan. 2020.

MCMANUS, J. P.; DAVIS, K. G.; BEART, J. E.; GAFFNEY, S. H.; LILLEY, T. H.; HASLAM, E. Polyphenol interactions. Part 1. Introduction; some observations on the reversible complexation of polyphenols with proteins and polysaccharides. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, v. 28, p. 1429-1439, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1039/P29850001429>.

MENKHAUS, T. J.; FONG, H. Electrospun Nanofibers for Protein Adsorption. In:

DING, B.; WANG, X.; YU, J. **Micro and nano technologies, electrospinning: Nanofabrication and applications**. Elsevier, 2019, cap 16, p. 517-542. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51270-1.00016-9>.

METCALF, L.; EDDY, H.P. **Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery**. 4th ed. Asia: McGraw-Hill Education, 2002.

MIRANDA, C. E. S.; OLIVARES, S.; REIS, B. F.; LUZARDO, F. M. On-line Preconcentration Employing a Tannin Resin for Copper Determination in Plant Material and Food Stuff by Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, p. 44-49, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532000000100009>.

MONTEIRO, M. S.; FARIAS, R. F. de; CHAVES, J. A. P.; SANTANA, S. A.; SILVA, H. A. S.; BEZERRA, C. W. B. Wood (*Bagassa guianensis Aubl*) and green coconut mesocarp (*cocos nucifera*) residues as textile dye removers (Remazol Red and Remazol Brilliant Violet). **Journal of Environmental Management**, v. 204, p. 23-30, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.08.033>.

NERIS, J. B.; LUZARDO, F. H. M.; SILVA, E. G. P. da; VELASCO, F. G. Evaluation of adsorption processes of metal ions in multi-element aqueous systems by lignocellulosic adsorbents applying different isotherms: A critical review. **Chemical Engineering Journal**, v. 357, p. 404-420, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.125>.

NERIS, J. B.; LUZARDO, F. H. M.; SANTOS, P. F.; ALMEIDA, O. N. de; VELASCO, F. G. Evaluation of single and tri-element adsorption of Pb^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} ions in aqueous solution on modified water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) fibers. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 1, p. 885-903, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.102885>.

OKUDA, T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 66, n. 2012, p. 2012-2031, 2005. DOI: [10.1016/j.phytochem.2005.04.023](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.023).

PAES, J. B. et al. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **CERNE**, v. 12, p. 232-238, 2006. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=74412304>. Acesso em: 12 abr. 2020.

PALLADINO, P.; BRITTOLI, A.; PASCALE, E.; MINUNNI, M.; SCARANO, S. Colorimetric determination of total protein content in serum based on the polydopamine/protein adsorption competition on microplates. **Talanta**, v. 198, p. 15-22, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.095>.

PETRUCCIOLI, M.; RAVIV, M.; SILVESTRO, R. D.; DINELLI, G. Agriculture and Agro-Industrial Wastes, Byproducts, and Wastewaters: Origin, Characteristics, and Potential in Bio-Based-Compounds Production. In: MOO-YOUNG, M. **Comprehensive Biotechnology**. Elsevier, 2011, cap. 6.42, p.531-545. DOI: [10.1016/B978-0-08-088504-9.00389-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00389-5).

PIZZI, A. Tannins: Prospectives and Actual Industrial Applications. **Biomolecules**, v. 9, p. 1-29, 2019. DOI: [10.3390/biom9080344](https://doi.org/10.3390/biom9080344).

PIZZI, A. Natural Phenolic Adhesives I: Tannin. In: PIZZI, A.; MITTAL, K. L. **Handbook of adhesive Technology**: Second Edition, Revised and Expanded. 2th ed. New York: Basel, 2003, cap. 27, p. 568-582. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780203912225>.

PIZZI, A. Types, processing and properties of bioadhesives for wood and fibers. In: Waldron, K. **Advances in biorefineries**: Biomass and waste supply chain exploitation: Elsevier, 2014, cap. 23, p. 736-770. DOI: 10.1533/9780857097385.2.736.

PIZZI, A.; STEPHANOU, A. A comparative ^{13}C NMR study of polyflavonoid tannin extracts for phenolic polycondensates. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 50, p. 2105-2113, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.1993.070501209>.

RAMSDEN, J. J. Experimental methods for investigating protein adsorption kinetics at surfaces. **Quarterly Reviews of Biophysics**, v. 27, p. 41-105, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0033583500002900>.

REN, P.-F.; YANG, H.-C.; LIANG, H.-Q.; XU, X.-L.; WAN, L.-S.; XU, Z.-K. Highly stable, protein-resistant surfaces via the layer-by-layer assembly of poly(sulfobetaine methacrylate) and tannic acid. **Langmuir**, v. 31, p. 5851-5858, 2015. DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b00920.

SADEGH, H.; SAHAY, R.; SONI, S. Protein-polymer interaction: Transfer loading at interfacial region of PES-based membrane and BSA. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, p. 1-12, 2019. DOI: 10.1002/app.47931.

SALEMDEEB, R.; ERMGASSEN, E. K. H. J. Z.; KIM, M. H.; BALMFORD, A.; AL-TABBAA, A. Environmental and health impacts of using food waste as animal feed: a comparative analysis of food waste management options. **Journal of Cleaner Production**, v. 140, p. 871-880, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.05.049>.

SANTIAGO, S. B.; GONÇALVES, F. G.; PAES, J. B.; LELIS, R. C. C.; VIDAURRE, G. B.; ARANTES, M. D. C. Condensed Tannins Extracted From Eucalyptus Bark Waste. **Floresta**, v. 49, p. 49-56, 2019. DOI: 10.5380/rf.v49i1.56141.

SANTOS, P. F.; NERIS, J. B.; LUZARDO, F. H. M.; VELASCO, F. G.; TOKUMOTO, M. S.; CRUZ, R. S. da. Chemical modification of four lignocellulosic materials to improve the Pb^{2+} and Ni^{2+} ions adsorption in aqueous solutions. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, p. 103-112, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103363>.

SARTORI, C. J.; Mota, G. S.; Miranda, I.; Mori, F. A.; Pereira, H. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two eucalyptus urophylla hybrids. **BioResources**, v. 13, p. 4820-4831, 2018. DOI: 10.15376/biores.13.3.4820-4831.

SEKOWSKI, S.; BITIUCKI, M.; IONOV, M.; ZDEB, M.; ABDULLADJANOVA, N.; RAKHIMOV, R.; MAVLYANOV, S.; BRYSZEWSKA, M.; ZAMARAEVA, M. Influence of valoneoyl groups on the interactions between Euphorbia tannins and human serum albumin. **Journal of Luminescence**, v. 194, p. 170-178, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jlumin.2017.10.033>.

SEIGLER, D. S. Tannins. In: SEIGLER, D. S. **Plant Secondary Metabolism**, Boston: Springer, 1998, cap. 12, p. 193-214. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4913-0_12.

SENGIL, I. A.; ÖZACAR, M. Competitive biosorption of Pb^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} ions from aqueous solutions onto valonia tannin resin. **Journal of Hazardous Materials**, v.166, p. 1488-1494, 2009. DOI:10.1016/j.jhazmat.2008.12.071.

SHI, W.; LI, M.; JIANG, C.; SHEN, J.; LI, K.; ZHANG, S.; ZHANG, J.; HAN, D. Adsorption-selectivity customization and competitive adsorption of tryptamine-based mixed-mode chromatography. **Biochemical Engineering Journal**, v. 150, p. 107-118, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107267>.

SIGMA-ALDRICH. **Product Information**: Albumin From Bovine Serum. 2000. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/life-science/biochemicals/biochemical-products.html?TablePage=103994915>>. Acesso: 05 ago. 2019.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic chemistry**. 10th ed. United States of America: John Wiley & Sons, v. 2, 2009.

SOTERO-MARTINS, A.; CARVAJAL, E.; SANTOS, J. A. A. dos; MOURA, P. G.; HANDAM, N. B.; KOTOWSKI-FILHO, N. P.; JARDIM, R. Events linked to geosmin and 2-methylisoborneol (2-MIB) in a water supply source in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a case study. **SciELO Preprints**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.2091>.

SPIEGLER, V.; LIEBAU, E.; HENSEL, A. Medicinal plant extracts and plant-derived polyphenols with anthelmintic activity against intestinal nematodes. **Natural Product Reports**, v. 34, p. 627-643, 2017. DOI: 10.1039/c6np00126b.

SRISOD, S.; MOTINA, K.; INPRASIT, T.; PISITSAK, P. A green and facile approach to durable antimicrobial coating of cotton with silver nanoparticles, whey protein, and natural tannin. **Progress in Organic Coatings**, v. 120, p. 123-131, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2018.03.007>.

SZEKERES, E.; BARICZ, A.; CHIRIAC, C. M.; FARKAS, A.; OPRIS, O.; SORAN, M.-L.; ANDREI, A.-S.; RUDI, K.; BALCAZAR, J. L.; DRAGOS, N.; COMAN, C. Abundance of antibiotics, antibiotic resistance genes and bacterial community composition in wastewater effluents from diferente Romanian hospitals. **Environmental Pollution**, v. 225, p. 304-315, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.054>.

TENORIO, A. T.; GIETELING, J.; JONG, G. A. H. DE; BOOMA, R. M.; GOOT, A. J. van der. Recovery of protein from green leaves: Overview of crucial steps for utilisation. **Food Chemistry**, v. 203, p. 402-408, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.092>.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v.74, p. 835-855, 2002. DOI:10.1351/pac200274050835.

TIEN, C. **Introduction to Adsorption**: Basics, analysis, and applications. Elsevier, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2018-0-00297-2>.

- TORRES, J.; OLIVARES, S.; ROSA, D. de la; LIMA, L.; MARTINEZ, F.; MUNITA, C. S.; FAVARO, D. I. T. Removal of mercury (II) and methylmercury from solution by tannin adsorbents Adsorbent synthesis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 240, p. 361-365, 1999. DOI: 0236-5731/99/USD 17. 00.
- TONDI, G. Tannin-Based Copolymer Resins: Synthesis and Characterization by Solid State ¹³C NMR and FT-IR Spectroscopy. **Polymers**, v. 9, p. 1-17, 2017. DOI:10.3390/polym9060223.
- TRUGILHO, P. F.; MORI, F. A.; LIMA, J. T.; CARDOSO, D. P. Determinação do teor de taninos na casca de *Eucalyptus spp.* **CERNE**, v. 9, p. 246-254, 2003. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=74409211>>. Acesso em: 15 nov. 2020.
- TUNG, H. Y. L.; LIMTUNG, P. Biochemical and Biophysical Research Communications Mutations in the phosphorylation sites of SARS-CoV-2 encoded nucleocapsid protein and structure model of sequestration by protein. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 532, p. 6-10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.08.024>.
- TYE, Y. Y.; LEE, K. T.; ABDULLAH, W. N. W.; LEH, C. P. The world availability of non-wood lignocellulosic biomass for the production of cellulosic ethanol and potential pretreatments for the enhancement of enzymatic saccharification. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 60, p. 155-172, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.01.072>.
- VERMA, A.; KUMAR, Shashi; KUMAR, Surendra. Statistical modeling, equilibrium and kinetic studies of cadmium ions biosorption from aqueous solution using *S. filipendula*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, p. 2290-2304, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2017.03.044>.
- VOGLER, E. A. Biomaterials Protein adsorption in three dimensions. **Biomaterials**, v. 33, p. 1201-1237, 2012. DOI:10.1016/j.biomaterials.2011.10.059.
- VITAL, M.; STUCKI, D.; EGLI, T.; HAMMES, F. Evaluating the Growth Potential of Pathogenic Bacteria in Water. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, p.77-84, 2010. DOI: 10.1128 / AEM.00794-10.
- WEN, Y.; SCHOUPS, G.; VAN DE GIESEN, N. Organic pollution of rivers: Combined threats of urbanization, livestock farming and global climate change. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-9, 2017. DOI: 10.1038/srep43289.
- XIAO, K.; ZHOU, Y. Protein recovery from sludge: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 249, p. 1-50, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119373>.
- YADAV, B.; CHAVAN, S.; ATMAKURI, A.; TYAGI, R. D.; DROGUI, P. A review on recovery of proteins from industrial wastewaters with special emphasis on PHA production process: Sustainable circular bioeconomy process development. **Bioresour Technol**, v. 317, p. 124-136, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124006>.
- YAN, J.; ZHANG, Q.-L.; LIN, D.-Q.; YAO, S.-J. Protein adsorption behavior and immunoglobulin separation with a mixed-mode resin based on p-aminohippuric acid.

Journal of Separation Science, v. 37, p. 2474-2480, 2014. DOI 10.1002/jssc.201400520.

YANG, X.; HUANG, P.; WANG, H.; CAI, S.; LIAO, Y.; MO, Z.; XU, X.; DING, C.; ZHAO, C.; LI, J. Antibacterial and anti-biofouling coating on hydroxyapatite surface based on peptide-modified tannic acid. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 160, p. 136-143, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.09.006>.

ZHOU, X.; LI, H.; LIU, Y.; HAO, J.; LIU, H.; LU, X. Improvement of stability of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* against UV-irradiation by adsorption on sepiolite. **Adsorption Science and Technology**, v. 36, p. 1233-1245, 2018. DOI: 10.1177/0263617418759777.