

# ADSORÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO SANGUÍNEO HUMANO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES

D. R. GONDIM, S. O. SANTOS, T. N. B. RODRIGUES, N. A. DIAS, J. E. AGUIAR, I. J. SILVA JR.

Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia  
E-mail para contato: ivanildo@gpsa.ufc.br

**RESUMO** – O objetivo deste trabalho foi sintetizar HDL e avaliar a adsorção das proteínas IgG e HSA. O HDL foi sintetizado pelo método de co-precipitação a pH variável com a inserção dos cátions metálicos Zn e Al na razão molar 2:1. O material foi previamente analisado para a determinação das características químicas e estruturais. Foram realizados estudos em batelada utilizando tanques agitados para avaliar o efeito do pH, o tempo de contato e a concentração inicial na adsorção das proteínas. De acordo com os resultados, a adsorção da HSA ocorreu preferencialmente no pH 4,8 e da IgG no pH 7,0. A fim de favorecer a adsorção de IgG, devido a sua maior importância medicinal, utilizou-se o pH 7,0. O modelo de Langmuir se ajustou aos dados experimentais proporcionando os parâmetros de equilíbrio. As quantidades máximas de adsorção foram em torno de 100,00 mg/g tanto na adsorção de IgG como na adsorção de HSA. O parâmetro  $K_D$  (constante de dissociação) foi na ordem de  $10^{-6}$  indicando uma forte ligação entre HDL-proteína.

## 1. INTRODUÇÃO

Os HDLs são tipo de material em camadas, fazem parte de uma classe das argilas aniônicas com estrutura de base de brucite ( $Mg(OH)_2$ ) (Lv *et al.*, 2012) como camadas, no qual alguns dos cations bivalentes foram substituídos por cations trivalentes produzindo folhas carregadas positivamente (Kuang *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2011). As identidades dos cations bivalentes e trivalentes ( $M^{II}$  e  $M^{III}$ , respectivamente) e o anion intercalar ( $A^{n-}$ ), em conjunto com o valor do coeficiente estequiométrico ( $x$ ), podem ser variadas dando origem a uma grande classe de materiais isoestruturais (Roeffaers *et al.*, 2006; Wang e Ohare, 2012). Devido à capacidade de intercalação de uma ampla variedade de ânions, moléculas orgânicas ou inorgânicas, HDL's têm uma ampla gama de aplicações em processo de separação (Zhang *et al.*, 2013) no tratamento de águas (Wang e Gao, 2006; Gong *et al.*, 2011; Forano, 2004), captura de  $CO_2$  (Wang *et al.*, 2013), catálise (Wang *et al.*, 2012), polimerização fotoquímica e eletroquímica (Maretti *et al.*, 2009; Lonkar *et al.*, 2010; Morimoto *et al.*, 2011; Tanaka *et al.*, 2011), magnetização, polímero e nanocompósito (Leroux, Illaik e Verney, 2009; Lv *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2010; Herrero *et al.*, 2011; Tanaka *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2011; Chiang, Chen e Wu, 2012; Li *et al.*, 2012), ciências biomédicas (Cao *et al.*, 2011), liberação controlada de drogas (Zhang *et al.*, 2010). As necessidades recentes de isolamento e recuperação em grande escala de bioprodutos resultantes da indústria biotecnológica, como é o caso das proteínas por suas propriedades enzimáticas e

terapêuticas, têm-se buscado inovações importantes nas operações unitárias necessárias para os esquemas de tratamento e purificação de proteínas, envolvendo em geral, uma sequencia extensiva de etapas, o que acarreta custos elevados.

Devido a grande aplicabilidade desse material bem como a escassez de publicações sobre o uso do HDL para adsorção de proteínas, esse trabalho tem como objetivo sintetizar e caracterizar o HDL (Zn/Al). Além de realizar estudos do pH, cinética e isoterma de adsorção com as proteínas padrão HSA e IgG em batelada.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Material

2.1.1 Reagentes: Albumina do Soro Humano (HSA) e as Imunoglobulinas do isotipo G (IgG) foram obtidos da Sigma-Aldrich (EUA). Os outros reagentes utilizados foram todos de grau analítico e para a preparação de todas as soluções utilizou-se a água ultrapura MiliQ (Milipore, EUA).

### 2.2. Síntese do HDL

O HDL (Zn/Al) 2:1 foi preparado pelo método de co-precipitação a pH variável, seguido por tratamento hidrotérmico a 80 °C. A fase  $[\text{ZnAl}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  foi preparada através da obtenção de uma solução aquosa de 0,0614 mol de  $\text{ZnCl}_2$  e 0,0307 mol de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  para uma razão molar 2:1, as quais foram adicionadas gota a gota a 100 mL de uma solução aquosa contendo 0,153 mol de  $\text{NaHCO}_3$  a 60 °C, sob vigorosa agitação. O material cristalino foi, em seguida, recuperado por filtração, lavado com água deionizada e finalmente seco a 80 °C por 96 h. O material obtido não foi calcinado.

### 2.3. Caracterização Química e Estrutural

Inicialmente, o material foi caracterizado quanto ao  $\text{pH}_{\text{ZPC}}$ . Conforme Órfão *et al.* (2006), para determinação do Ponto de Carga Zero (ZPC) de um sólido, 50 ml de soluções de 0,01 N de NaCl deve ser preparados e adicionado em uma série de becker de 100 mL. Em seguida, os seus valores de pH foram ajustados na faixa entre 2 e 12, utilizando solução de NaOH e de HCl 0,01 N. O pH inicial das soluções foram medidos com o medidor de pH (Digimed-Brasil) e anotada como  $\text{pH}_{\text{inicial}}$  para em seguida colocar em contato com 0,15 g de HDL Zn/Al (2:1). O pH da solução foi medido apos 48 h e anotada como  $\text{pH}_{\text{final}}$ , em seguida, plotou-se um gráfico em função do  $\text{pH}_{\text{inicial}}$  versus a diferença do  $\text{pH}_{\text{inicial}}$  e  $\text{pH}_{\text{final}}$ .

O material também foi caracterizado quanto ao espectro da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) a fim de identificar os grupos característicos do HDL. Foi utilizado o espectrômetro do modelo Shimadzu 8500, disponível no Departamento de Química Inorgânica e Orgânica da Universidade Federal do Ceará, Laboratório de Bioinorgânica. Os espectros de FTIR foram obtidos utilizando pastilhas de 1% em KBr, o qual foi previamente seco

em estufa Tecnal TE-394/2 a 150 °C e resfriado em dessecador até a temperatura ambiente. O adsorvente em forma de pó e o KBr foram macerados em amofariz de ágata, para completa homogeneização. Em seguida, o material foi prensado em uma prensa hidráulica e analisado no FTIR. Para a determinação da distribuição do tamanho de partícula dos materiais foi utilizado um equipamento de análise por espalhamento de laser tipo Hydro 2000MU, modelo Mastersizer (Malvern Instruments) com faixa de medida de 0,020 a 2000 µm. A amostra de HDL obtida também foi caracterizada por difração de raios-X em um difratômetro Philips X'Pert X-ray Diffraction System com tubo de cobre CuK $\alpha$  ( $\lambda = 0,1542\text{nm}$ ) operando com uma voltagem de 40 kV e uma corrente de 40 mA (Departamento de Química da UMA).

## 2.4. Métodos

2.2.1 Efeito do pH e cinética de adsorção: Os ensaios de adsorção foram realizados em duplicata, em um sistema de agitação rotatório (TECNAL, modelo TE-165) a 18 rpm e temperatura de 22 °C. Foram adicionados 15 mg de HDL em tubos de acrílico juntamente com 3 mL da solução de proteína (IgG ou HSA). A faixa de pH estudada foi de 4,0 à 8,0 e foram utilizados os tampões acetato e fosfato de sódio 25 mM. O sistema permaneceu sob agitação constante (18 rpm) durante o período de duas horas. Para a cinética de adsorção foram utilizadas duas concentrações (1,0 e 2,0 mg/mL) de IgG ou HSA e o tempo de análise variou-se de 5 à 180 min. Em seguida, as amostras foram coletadas e centrifugadas em microcentrífuga (CT-15000R CIENTEC) por 10 min com rotação igual a 10000 rpm e a absorbância foi lida para cada amostra. Os valores foram convertidos para concentração a partir de uma curva de calibração previamente obtida. A quantidade de proteína adsorvida foi calculada por meio de um balanço de massa, sendo a equação 1 descrita a seguir:

$$q^* = \frac{V_{\text{SOL}} (C_0 - C_{\text{EQ}})}{m_{\text{ads}}} \quad (1)$$

em que  $q^*$  é a quantidade de proteína adsorvida por grama de adsorvente (mg/g),  $C_{\text{EQ}}$  é a concentração de proteína na fase líquida (mg/mL) em equilíbrio com  $q$ ,  $C_0$  é a concentração inicial de proteína na fase líquida (mg/mL),  $m_{\text{ads}}$  é a massa de HDL (g) e  $V_{\text{SOL}}$  é o volume da solução (mL) para o contato com o HDL.

2.2.2 Isotermas de adsorção: As concentrações de proteínas utilizadas nos experimentos variaram de 0,5 à 7,0 mg/mL. O modelo de Langmuir (Equação 2) foi utilizado para ajustar aos dados experimentais. As constantes da quantidade máxima de adsorção ( $q_m$ ) e da constante de dissociação ( $K_D$ ) são os parâmetros mais importantes a serem discutidos.

$$q = \frac{q_m C_{\text{eq}}}{K_D + C_{\text{eq}}} \quad (2)$$

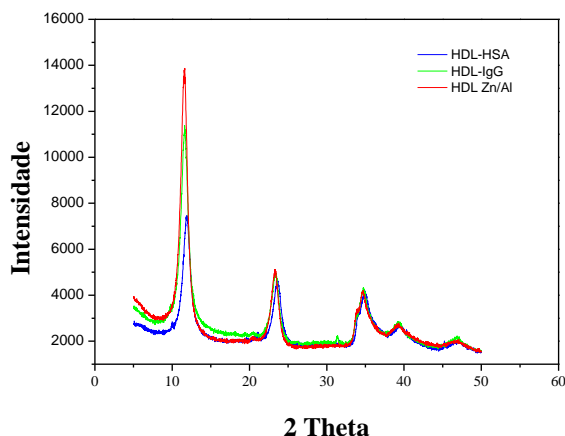
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Características Químicas e Estruturais

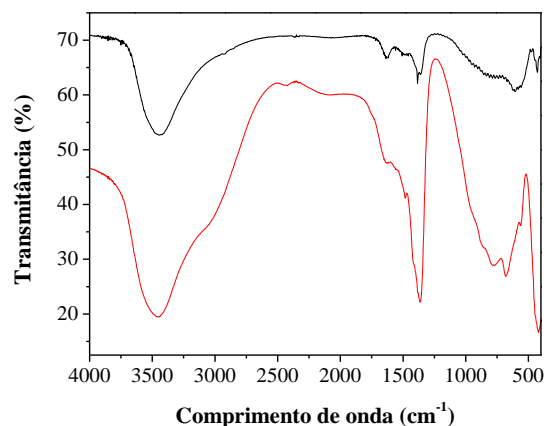
O processo de síntese por co-precipitação a pH variável proporcionou a obtenção de cristais e um particulado de HDL Zn/Al com um diâmetro médio de 30,7  $\mu\text{m}$ , evidenciando uma alta propensão a material cristalino. O ponto de carga zero foi determinado pelo método do pH diferencial após adsorção de um eletrólito. Valores de pH superiores ao  $\text{pH}_{\text{zpc}}$  a superfície está carregada negativamente e a adsorção de cátions é favorecida. Para valores de pH inferiores ao  $\text{pH}_{\text{zpc}}$  a superfície se apresenta carregada positivamente e, nesse caso, a adsorção de ânions é favorecida como discutido por Al-Degs *et al.* (2000) e Al-Degs *et al.* (2008). Nesse trabalho o  $\text{pH}_{\text{zpc}}$  do HDL foi no pH 6,0 (dados não apresentados).

A Figura 1 apresenta os difratogramas de RX obtidos para o material antes e após o processo de adsorção das proteínas HSA e IgG. Os difratogramas do material puro exibem reflexões de material do tipo HDL com uma série de picos de intensidade característicos de material cristalino. Nos demais picos apresentados nos difratogramas após o processo de adsorção é possível observar um alargamento representativa nas intensidades devido a possível assimilação das biomoléculas.

Para os espectros FTIR das amostras HDL Zn/Al e HDL Zn/Al-IgG apresentados na Figura 2 pode-se observar uma banda intensa em cerca de  $3451\text{ cm}^{-1}$  o que é atribuída ao grupamento  $\text{OH}^-$  que ocorre devido a vibração de alongamento de tais grupos moleculares e pela junção dos grupos hidroxilo e água carcerísticos de camadas da brucita. O ombro em torno de  $3000\text{ cm}^{-1}$  é atribuído a ligações de hidrogênio entre água interlamelar e  $\text{CO}_3^{2-}$ . A sequência de vibração que se move entre  $1480\text{ cm}^{-1}$  até uma diminuição do número de onda de até  $1363\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao alongamento do grupo molecular  $\text{CO}_3^{2-}$ , seguido pela absorção a  $1318$  e  $955\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao modo de deformação de Al-OH e Zn-OH, respectivamente. Duas bandas, cerca de  $551$  e  $766\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídos ao modo de tradução de Al-OH. Estas bandas confirmam a formação da rede do HDL característico, enquanto que aqueles a  $430\text{ cm}^{-1}$  foram devida ao modo de deformação OH-Al-Zn-OH, seguido por outras vibrações de menor intensidade. Uma forte interação da molécula de IgG pode ter ocorrido, quando se observa uma alteração na transmitância do material a  $1400$  e  $900\text{ cm}^{-1}$  após o processo de purificação da biomolécula. Isso ocorre devido principalmente à presença de uma grande quantidade de ânions carbonato e moléculas de água no interior das lamelas que pode interagir por ligações de hidrogênio.



**Figura 1** - Difratogramas para o HDL Zn/AL antes e após adsorção das biomoléculas HSA e IgG; Pontos vermelhos (HDL Zn/Al); Pontos verdes (HDL-IgG); Pontos azuis (HDL-HSA).



**Figura 2** – Espectros de FTIR para HDL Zn/Al e HDL Zn/Al-IgG: Linha negra (HDL Zn/Al); Linha vermelha (HDL Zn/Al-IgG)

### 3.2. Estudo do pH e da cinética de IgG e HSA

O principal mecanismo de adsorção nos processos neste caso se deve às interações eletrostáticas entre os elétrons deslocados nos planos superficiais do HDL e os electrons livres das moléculas das proteínas, sendo principalmente responsáveis os grupos sulfonatos e carboxilícos presentes nas proteínas. Porém no caso das biomoléculas e em especial proteínas o pI deve-se ser levado em consideração, visto que a adsorção ocorre preferencialmente no pI ou em valores próximos ao pI. Neste caso o diferencial de cargas no meio pode promover interações hidrofóbicas e de hidrogênio.

A Figura 3 apresenta valores de quantidade adsorvida de IgG e HSA em uma faixa de pH de 4 à 8 utilizando dois tampões, acetato (4,0-5,8) e fosfato de sódio (6,0-8,0). As proteínas padrão IgG e HSA possuem pontos isoelétricos (pI) distintos. HSA possui pI 4,9, enquanto que a IgG apresenta um pI variável entre 6,3 à 9,0 (Bresolin *et al.*, 2010). O ponto isoelétrico de uma proteína representa o pH a qual há um balanceamento igual das cargas da proteína. Pelo gráfico da Figura 3 verificou-se que a adsorção de HSA teve maior adsorção no pH 4,8, com quantidade adsorvida de 85,68 mg/g. Para a proteína IgG verificou-se que o pH 7,0 apresentou o maior valor de quantidade adsorvida de IgG, em torno de 82,99 mg g. Normalmente o pH de maior adsorção ocorre no pI das proteínas ou próximo ao pI fato esse observado neste trabalho. Para os ensaios posteriores escolheu-se trabalhar no pH 7,0 para priorizar a adsorção da IgG em relação a HSA.

As curvas de cinética de adsorção são necessárias para interpretar como ocorre a adsorção com o tempo e definir o tempo de equilíbrio. Foram utilizadas duas concentrações (1,0 e 2,0 mg/mL de) distintas de IgG ou HSA para acompanhar a cinética com cada uma das proteínas (IgG e HSA) no tampão fosfato de sódio 25 mM (pH 7,0). Pela cinética de adsorção (Figura 4)

constatou-se que HSA possui perfis similares nas duas concentrações com baixa adsorção por essa proteína. Observou-se que para as curvas de IgG ocorreu um declínio maior indicando que a IgG foi adsorvida em maior quantidade nas mesmas condições da HSA. O tempo de equilíbrio foi de aproximadamente 2,0 h de contato.

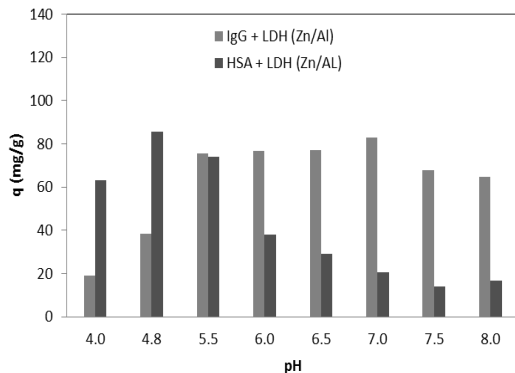


Figura 3 – Efeito da variação do pH de 4,0 à 8,0 nos tampões acetato e fosfato de sódio na adsorção de IgG (cinza) e HSA (preta) em HDL Zn/Al.

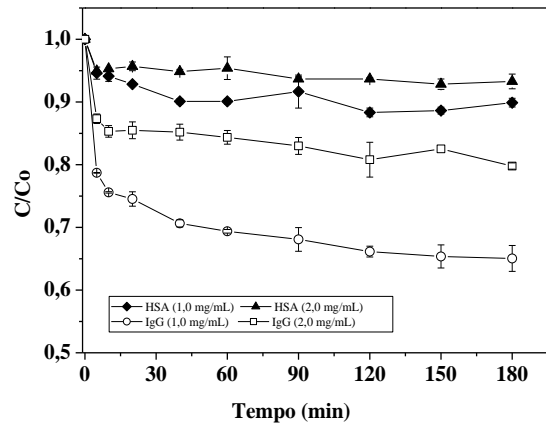


Figura 4 – Cinética da adsorção de IgG (1,0 mg/mL (○) e 2,0 mg/mL (□)) e HSA (1,0 mg/mL (◆) e 2,0 mg/mL (▲)) em HDL Zn/Al.

### 3.3. Isotermas de adsorção de IgG e HSA

De acordo com a Figura 5 verificou-se que para a IgG em baixas concentrações a adsorção atingiu altos valores de quantidade adsorvida e pouco se alterou com o aumento da concentração de IgG. O comportamento para a isoterma de HSA foi diferente, tendo um aumento significativo de adsorção de HSA em concentrações elevadas se aproximando a isoterma de IgG. O modelo de Langmuir é muito utilizado nesses sistemas de adsorção para encontrar os parâmetros de ajuste e para esse trabalho foi bem ajustado por esse modelo. Os parâmetros de ajuste estão apresentados na Tabela 1. As quantidades máximas adsorvidas foram próximas para ambas as proteínas, no valor de 109,0 e 101,1 mg/g, respectivamente para IgG e HSA. Outro parâmetro relevante foi o  $K_D$  onde avalia quão forte é a ligação entre a proteína e o adsorvente e quanto menor o valor desta constante maior a interação entre proteína-adsorvente. Os valores de  $K_D$  foram  $1,1 \times 10^{-6}$  e  $3,74 \times 10^{-5}$  M, respectivamente na adsorção de IgG e HSA. O  $K_D$  para IgG foi inferior ao da HSA indicando que o HDL foi mais seletivo para IgG, pois a ligação HDL-IgG foi mais forte quando comparado a ligação entre HDL-HSA.

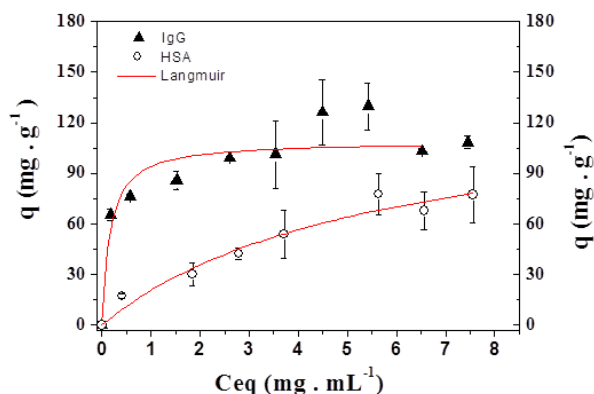


Tabela 1 - Parâmetros de ajuste do modelo de Langmuir

Parâmetros	IgG	HSA
$q_{\max}$ (mg/g)	109.0	101.1
$K_D$ ( $\times 10^6$ )	1.1	37.4
$\text{Chi}^2$	156.8	34.32
$R^2$	0.92	0.96

Figura 5 - Isotherma de adsorção com as proteínas IgG (▲) e HSA (○) em HDL Zn/Al.

## 4. CONCLUSÃO

A partir das análises para caracterizações químicas e texturais confirmou-se que o material apresentou características de um HDL típico. Conclui-se também nesse trabalho que as proteínas do soro humano IgG e HSA foram adsorvidas no HDL Zn/AL com elevada quantidade adsortiva. A adsorção dessas proteínas foram influenciadas pela variação do pH e pelo pI característica da proteína. O modelo de Langmuir se ajustou aos dados experimentais proporcionando valores de quantidades máximas adsorvidas para essas proteínas na ordem de 100 mg/g para HSA e IgG.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRESOLIN, I. T.; SOUZA, M. C. M.; BUENO, S. M. A. A new process of IgG purification by negative chromatography: adsorption aspects of human serum proteins onto  $\omega$ -aminodecyl-agarose. **Journal Chromatography B**, v. 878, p. 2087-2093, 2010.
- CAO, F. et al. Zn-Al-NO<sub>3</sub>-layered double hydroxides with intercalated diclofenac for ocular delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1-2, p. 250-256, 2/14/ 2011.
- CHIANG, M.-F.; CHEN, E.-C.; WU, T.-M. Preparation, mechanical properties and thermal stability of poly(l-lactide)/ $\gamma$ -polyglutamate-modified layered double hydroxide nanocomposites. **Polymer Degradation and Stability**, v. 97, n. 6, p. 995-1001, 6// 2012.
- FORANO, C. Environmental remediation involving layered double hydroxides. In: (Ed.). **Interface Science and Technology**: Elsevier, v. Volume 1, 2004. p.425-458. ISBN 1573-4285.
- GONG, J. et al. Efficient Removal of Heavy Metal Ions from Aqueous Systems with the Assembly of Anisotropic Layered Double Hydroxide Nanocrystals@Carbon Nanosphere. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 14, p. 6181-6187, 2011/07/15 2011.
- KUANG, Y. et al. Morphologies, Preparations and Applications of Layered Double Hydroxide Micro-/Nanostructures. **Materials**, v. 3, n. 12, p. 5220-5235, 2010. ISSN 1996-1944.

LEROUX, F.; ILLAIK, A.; VERNEY, V. A comprehensive study of an unusual jammed nanocomposite structure using hybrid layered double hydroxide filler. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 332, n. 2, p. 327-335, 4/15/ 2009. ISSN 0021-9797.

LI, H. et al. Fabrication and capacitance of Ni<sup>2+</sup>-Fe<sup>3+</sup> LDHs/MnO<sub>2</sub> layered nanocomposite via an exfoliation/reassembling process. **Materials Science and Engineering: B**, v. 177, n. 1, p. 8-13, 1/25/ 2012. ISSN 0921-5107.

LONKAR, S. P. et al. Photooxidation of polypropylene/layered double hydroxide nanocomposites: Influence of intralamellar cations. **European Polymer Journal**, v. 46, n. 7, p. 1456-1464, 7// 2010. ISSN 0014-3057.

LV, K. et al. Molecular simulation studies for intercalation of photoactive dyes into layered double hydroxide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 402, n. 0, p. 108-116, 5/20/ 2012. ISSN 0927-7757.

LV, S. et al. Preparation and properties of polymer/LDH nanocomposite used for UV curing coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 65, n. 4, p. 450-456, 8// 2009. ISSN 0300-9440.

MARETTI, L. et al. Laser flash photolysis of dioxo iron phthalocyanine intercalated in hydrotalcite and its use as a photocatalyst. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 205, n. 1, p. 19-22, 6/10/ 2009. ISSN 1010-6030.

MORIMOTO, K. et al. Adsorption and photodegradation properties of anionic dyes by layered double hydroxides. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 72, n. 9, p. 1037-1045, 9// 2011. ISSN 0022-3697.

ROEFFAERS, M. B. J. et al. Spatially resolved observation of crystal-face-dependent catalysis by single turnover counting. **Nature**, v. 439, n. 7076, p. 572-575, 02/02/print 2006. ISSN 0028-0836.

TANAKA, T. et al. Fabrication of layered double hydroxide/photoresponsive dendron nanocomposite multilayer film by electrostatic layer-by-layer assembly. **Materials Letters**, v. 65, n. 15-16, p. 2315-2318, 8// 2011. ISSN 0167-577X.

WANG, K.-Y. et al. Layered indium chalcogenidoantimonates [Me<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>In<sub>2</sub>Sb<sub>2</sub>S<sub>7</sub>-xSex (x = 0, 2.20, 4.20, 7) with tunable band gaps and photocatalytic properties. **CrystEngComm**, v. 14, n. 1, p. 90-94, 2012.

WANG, Q. et al. Synthesis of nano-sized spherical Mg<sub>3</sub>Al-CO<sub>3</sub> layered double hydroxide as a high-temperature CO<sub>2</sub> adsorbent. **RSC Advances**, v. 3, n. 10, p. 3414-3420, 2013.

WANG, Q.; OHARE, D. Recent advances in the synthesis and application of layered double hydroxide (LDH) nanosheets. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 7, p. 4124-4155, // 2012. ISSN 00092665 (ISSN).

WANG, Y.; GAO, H. Compositional and structural control on anion sorption capability of layered double hydroxides (LDHs). **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 301, n. 1, p. 19-26, 9/1/ 2006. ISSN 0021-9797.

XU, S. et al. Engineered morphologies of layered double hydroxide nanoarchitected shell microspheres and their calcined products. **Chemical Engineering Science**, v. 66, n. 10, p. 2157-2163, 5/15/ 2011. ISSN 0009-2509.

ZHANG, J.-P. et al. Preparation and swelling properties of pH-sensitive sodium alginate/layered double hydroxides hybrid beads for controlled release of diclofenac sodium. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 92B, n. 1, p. 205-214, 2010. ISSN 1552-4981.

ZHANG, T. et al. Biomimetic fabrication of hierarchically structured LDHs/ZnO composites for the separation of bovine serum albumin. **Chemical Engineering Journal**, v. 219, n. 0, p. 278-285, 3/1/ 2013. ISSN 1385-8947. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138589471300034X> >.

ZHAO, J. et al. Water dispersible avermectin-layered double hydroxide nanocomposites modified with sodium dodecyl sulfate. **Applied Clay Science**, v. 51, n. 4, p. 460-466, 3// 2011. ISSN 0169-1317.

ZHOU, Q. et al. Strong interfacial attrition developed by oleate/layered double hydroxide nanoplatelets dispersed into poly(butylene succinate). **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 349, n. 1, p. 127-133, 9/1/ 2010. ISSN 0021-9797.

ÓRFÃO, J. J. M. et al. Adsorption of a reactive dye on chemically modified activated carbons—Influence of pH. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 296, n. 2, p. 480-489, 4/15/ 2006. ISSN 0021-9797.