



Densidade e Velocidade do Som em Soluções Aquosas de Sulfato de Amónio contendo Serina ou Treonina

Paula Cristiana Alves Mota

Relatório Final da Dissertação apresentada à
Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Bragança
Instituto Politécnico de Bragança

para obtenção do grau de Mestre em

Engenharia Química

Orientado por

Professor Doutor Simão Pinho

Professora Doutora Maria Olga Ferreira

Professor Doutor Ivan Cibulka

Setembro 2012

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar ao Professor Simão Pinho pela ajuda fundamental para que fosse possível fazer esta dissertação em mobilidade Erasmus em Praga e também pela sua orientação durante todo o percurso. Sem a sua ajuda não teria sido possível.

Ao Professor Ivan Cibulka e Professor Lubomír Hnedkovský pelo apoio e disponibilidade que tiveram durante todo o desenvolvimento experimental do projeto, nos seus laboratórios.

Aos meus pais, irmão e avó, um sincero obrigado por todo o carinho demonstrado durante este período que sem dúvida foi muito importante.

Quero também agradecer a todos que me apoiaram e acreditaram na concretização desta dissertação.

Um muito obrigada a todos!

Para os meus pais e irmão.

Resumo

Neste trabalho faz-se uma breve apresentação das aplicações industriais dos aminoácidos e relevância do estudo de soluções aquosas contendo aminoácidos, em particular da serina ou da treonina.

Estudar a interação de compostos modelo é importante pois tanto os aminoácidos, como péptidos, e seus derivados, constituem parte das estruturas das proteínas. Nesse sentido, foram estudadas as metodologias experimentais que permitem determinar a densidade e a velocidade do som. As propriedades derivadas como volumes molares parciais e compressibilidade adiabática são interpretadas em termos de química-física das soluções.

Neste trabalho foram realizadas medições experimentais da densidade e velocidade do som em soluções aquosas de sulfato de amónio, a diferentes molalidades, contendo serina ou treonina, a cinco temperaturas diferentes, numa gama entre 278.15 K a 318.15 K. A partir destes dados, foram calculados os volumes molares parciais dos aminoácidos em estudo, de modo a compreender as propriedades físico-químicas das soluções.

É também apresentado todo o desenvolvimento experimental, bem como os resultados obtidos e a interpretação teórica dos fenómenos.

Palavras-chave: Densidade, Velocidade do Som, Aminoácidos, Volumes Molares Parciais, Eletrólitos.

Abstract

This work makes a brief presentation of industrial applications and relevance of amino acids, and studies of aqueous solutions containing amino acids, in particular with serine or threonine.

The study of model compounds such as amino acids, peptides or their derivatives, as they constitute part of protein structures, is of extreme importance. Accordingly, the experimental methodologies for measuring the density and sound speed were studied. The properties derived such as partial molar volumes and adiabatic compressibility are interpreted in terms of the physical-chemistry of solutions.

In this work, experimental values for the density and speed of sound in aqueous solutions of ammonium sulphate at different molalidades, containing serine or threonine, at five different temperatures in a range between 278.15 K to 318.15 K were measured. From these data, partial molar volumes of the amino acids were calculated. From the detailed analysis of that data the physical-chemistry of the solutions was interpreted.

It is also presented, carefully, the intensive experimental development, adapted protocol and the theoretical analysis and graphical interpretations of phenomena.

Keywords: Density, Speed of Sound, Amino Acids, Partial molar volumes, electrolytes.

Índice

Índice de Figuras	iv
Índice de Tabelas.....	vi
Lista de Abreviaturas	vii
✓ Nomenclatura.....	vii
✓ Índices gregos	viii
✓ Índices inferiores	viii
1. Introdução.....	1
1.1. Importância e Motivação	1
1.2. Objetivos.....	2
2. Termodinâmica em Solução Contendo Aminoácidos.....	3
2.1. Introdução	3
2.2. Produção e Utilização dos Aminoácidos	4
2.3. A Química dos Aminoácidos.....	5
2.4. Estado da Arte	7
2.4.1. Métodos experimentais	7
2.4.2. Dados experimentais	9
2.4.2.1. Água/Aminoácido	9
2.4.2.2. Água/Sal/Aminoácido	9
2.4.3. Forças intermoleculares.....	11
2.4.4. Modelação e propriedades derivadas	13
2.4.4.1. Volume molar parcial.....	13

2.4.4.2.	Compressibilidade adiabática.....	14
2.4.4.3.	Interpretação das interações moleculares.....	14
a)	Volumes de transferência.....	14
b)	Número de hidratação.....	16
c)	Constante de Hepler.....	19
3.	Dados Experimentais.....	21
3.1.	Introdução.....	21
3.2.	Metodologia Experimental.....	21
3.2.1.	Substâncias.....	21
3.2.2.	Descrição do equipamento.....	22
3.2.3.	Procedimento.....	24
3.2.3.1.	Preparação das soluções.....	24
3.2.3.2.	Procedimento experimental.....	26
4.	Resultados Experimentais.....	29
4.1.	Dados Experimentais.....	29
4.1.1.	Volumes molares parciais.....	29
4.1.2.	Compressibilidade adiabática.....	30
4.2.	Análise Crítica dos Resultados.....	33
5.	Análise Teórica.....	37
5.1.	Introdução.....	37
5.2.	Modelo da sobreposição das esferas.....	37
5.3.	Número de hidratação.....	40
5.4.	Efeito da temperatura.....	41

6.	Conclusões	44
6.1.	Conclusões principais	44
6.2.	Sugestões de trabalho futuro.....	46
	Referências Bibliográficas	47
	Anexos.....	49
	Anexo A – Propriedades dos aminoácidos.....	50
	Anexo B – Dedução da fórmula do volume molar parcial.....	53
	Anexo C – Valores das densidades.	55
	Anexo D – Valores das velocidades do som.	58

Índice de Figuras

Figura 1 - Estrutura geral do sulfato de amónio.....	1
Figura 2 - Estrutura geral de um aminoácido na forma zwitteriónica.....	3
Figura 3 - Estrutura molecular geral de α -aminoácidos.....	6
Figura 4 - Estrutura geral da serina (a) e treonina (b).....	6
Figura 5 - Picnómetro: a) vazio e b) cheio.....	8
Figura 6 - Interações zwitterião-zwitterião, zwitterião-anião e zwitterião-catião através da hidratação da sobreposição das esferas e alterações de volume, resultando em soluções aquosas de sais.....	18
Figura 7 - Medidor de densidades e velocidade do som Anton Paar DSA 5000.....	22
Figura 8 - Computador para aquisição de dados (lado esquerdo) e sistema de água ultra pura <i>Milli-Q RG</i> (lado direito).....	23
Figura 9 - Balança analítica de 2 casas decimais (lado esquerdo) e balança analítica de 4 casas decimais (lado direito).....	23
Figura 10 - Banho de ultra sons de frente (lado esquerdo) e com a amostra, visto de cima (lado direito).....	24
Figura 11 - Resultados obtidos experimentalmente para a serina a 0.0 molal de sal.....	31
Figura 12 - Resultados obtidos experimentalmente para a serina a 2.0 molal de sal.....	31
Figura 13 - Resultados obtidos experimentalmente para a treonina a 0.0 molal de sal.....	31
Figura 14 - Resultados obtidos experimentalmente para a treonina a 2.0 molal de sal.....	32
Figura 15 - Volumes molares parciais (cm^3/mol) em função da molalidade de sal, às diferentes temperaturas, para a serina.....	33
Figura 16 - Volumes molares parciais (cm^3/mol) em função da molalidade de sal, às diferentes temperaturas, para a treonina.....	34
Figura 17 - Variação dos volumes molares parciais (cm^3/mol), em função da temperatura, para a serina.....	34

Figura 18 - Variação dos volumes molares parciais (cm^3/mol), em função da temperatura, para a treonina.	35
Figura 19 - Comparação dos volumes de referência (cm^3/mol) (Zhao, 2006) com os volumes medidos (cm^3/mol) experimentalmente para a serina e treonina.	35
Figura 20 - Variação dos volumes de transferência (cm^3/mol) da serina, em função da molalidade de sal, para as diferentes temperaturas.	38
Figura 21 - Variação dos volumes de transferência (cm^3/mol) da treonina, em função da molalidade de sal, para as diferentes temperaturas.	39

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Condições de operação do aparelho Anton Paar DSA 5000.....	9
Tabela 2 - Propriedades termodinâmicas de aminoácidos soluções aquosas.....	10
Tabela 3 - Propriedades termodinâmicas de aminoácidos em soluções aquosas com sais.....	10
Tabela 4 - Critérios de hidrofobicidade.....	19
Tabela 5 - Gama de concentrações de AA e sal.....	24
Tabela 6 - Valores dos volumes molares parciais (cm^3/mol) dos aminoácidos a diferentes molalidades de sal e temperaturas.....	29
Tabela 7 - Valor dos volumes de transferência (cm^3/mol) para a serina e treonina, às diferentes molalidades de sal e diferentes temperaturas.....	38
Tabela 8 - Coeficientes de interação do duplete e triplete para a serina e treonina às diferentes temperaturas.....	39
Tabela 9 - Número de hidratação para os AA's em estudo, às diferentes temperaturas e molalidades de sal.....	41
Tabela 10 - Valores das constantes a , b e c	42
Tabela 11 - Valor das derivadas dos volumes molares parciais.....	42
Tabela A.1 - Descrição das propriedades dos aminoácidos.....	50
Tabela C.1 - Valores das densidades (kg/m^3) às diferentes temperaturas e diferentes molalidades de sal para a serina e treonina.....	55
Tabela C.2 - Valores do a_v e r^2 para os AA's às diferentes temperaturas e molalidades de sal.....	57
Tabela D.1 - Valores da velocidade do som às diferentes temperaturas e diferentes molalidades de sal para a serina e treonina.....	58
Tabela D.2 - Valores do a_k e r^2 para os AA's às diferentes temperaturas e molalidades de sal.....	60

Lista de Abreviaturas

✓ Nomenclatura

a – Constante

AA – Aminoácido

a_k – Ordenada na origem

a_V – Ordenada na origem

b – Constante

b_k – Declive da reta

b_V – Declive da reta

c – Constante

M_i – Massa molar da espécie i (g/mol)

m_i – Molalidade da espécie i (mol_{soluto}/ kg_{H₂O})

n_3 – Número de moles do aminoácido

n_H – Número de hidratação

T – Temperatura (K)

u – Velocidade do som (m/s)

V – Volume do sistema ternário

V_{bin} – Volume do solvente (água + sal)

$V_{\phi,i}$ – Volume molar aparente da espécie i (cm³/mol)

$V_{\phi,i}^0$ – Volume molar parcial da espécie i (cm³/mol)

$V_{\phi,i}^0(crist)$ – Volume molar parcial na forma cristalina da espécie i (cm³/mol)

$V_{\phi,i}^0(elet)$ – Volume molar parcial eletrostático da espécie i (cm³/mol)

$V_{\emptyset,i}^0(int)$ – Volume molar parcial intrínseco da espécie i (cm^3/mol)

V_b^0 – Volume molar parcial de água em massa (cm^3/mol)

V_e^0 – Volume molar parcial de água na vizinhança do soluto (cm^3/mol)

w – Massa da espécie i

$Z_{AA|S}$ – Coeficiente de interação volumétrico do duplete ($\text{m}^3\text{kg}/\text{mol}^2$)

$Z_{AA|S|S}$ – Coeficiente de interação volumétrico do tripleto ($\text{m}^3\text{kg}^2/\text{mol}^2$)

✓ Índices gregos

ρ – Densidade da mistura (binária ou ternária)

ρ_0 – Densidade do solvente (água ou água +sal)

K_S – Compressibilidade adiabática

✓ Índices inferiores

i – 1 \equiv Água, 2 \equiv Sal, 3 \equiv Aminoácido

1. Introdução

1.1. Importância e Motivação

O estudo da química-física de soluções contendo aminoácidos é um tema que tem despertado interesse, e tem sido intensificado ao longo da última década. Em particular, o conhecimento da densidade e velocidade do som de soluções aquosas de eletrólitos contendo aminoácidos auxilia na compreensão das interações em solução, fornecendo pistas importantes para a análise da estabilidade conformacional do comportamento de proteínas globulares. As proteínas são compostas por aminoácidos e péptidos, e estes tem sido investigados em detalhe em relação às suas propriedades termodinâmicas em soluções aquosas [1]. As soluções aquosas de sal são conhecidas por influenciar a estrutura das proteínas. Tendo em conta isto, o presente estudo visa estudar as propriedades volumétricas (volume molar parcial e compressibilidade adiabática) de aminoácidos em soluções aquosas de sulfato de amónio.

No entanto, poucos estudos sobre as propriedades termodinâmicas de aminoácidos foram realizadas em soluções aquosas de sais, especialmente usando sulfato de amónio (Figura 1). Este sal, de fórmula geral $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, apresenta uma massa molecular de 132.14052 g/mol, foi selecionado uma vez que é usado geralmente para precipitação de proteínas [2]. O melhor conhecimento de suas interações com os diferentes grupos funcionais de aminoácidos é certamente um ponto interessante para aprofundar estudos sobre purificação de proteínas e sua precipitação.

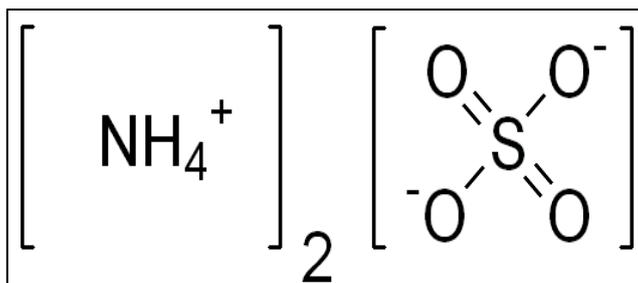


Figura 1 - Estrutura geral do sulfato de amónio.

1.2. Objetivos

O principal objetivo deste trabalho é a determinação experimental da densidade e velocidade do som em soluções aquosas de sulfato de amónio contendo serina ou treonina. Nesta secção vai ser apresentada a estrutura geral desta tese pelo desenvolvimento de cada tópico.

No capítulo 2 faz-se uma introdução à termodinâmica de soluções contendo aminoácidos, onde vão ser abordados sua produção e utilização, bem como a química de cada aminoácido em estudo e, por último, o estado da arte. No último tópico serão abordados os métodos experimentais, dados experimentais nos sistemas envolvidos e serão focadas também as propriedades derivadas como os volumes molares parciais e a compressibilidade adiabática molar parcial. As diversas interações moleculares como os volumes molares parciais, número de hidratação e a constante de Hepler serão de igual modo brevemente analisadas.

No capítulo 3, são descritas as metodologias experimentais, indicando as substâncias envolvidas, a descrição do equipamento utilizado para a realização do estudo e a metodologia para preparação das soluções bem como o procedimento experimental. Os resultados obtidos experimentalmente para os volumes molares parciais e compressibilidade adiabática e, por último, uma análise crítica desses é também efetuada.

No capítulo 4 é apresentada a análise teórica onde é abordado o método da sobreposição das esferas, número de hidratação, bem como o efeito da temperatura no volume molar parcial. Serão também efetuadas análises sobre a influência da temperatura e da molalidade do sal nos volumes de transferência.

No capítulo 5, são apresentadas as principais conclusões que foram derivadas do presente trabalho, e sugestões que podem ser consideradas como trabalho futuro.

2. Termodinâmica em Solução Contendo Aminoácidos

2.1. Introdução

O estudo de aminoácidos é de elevada importância devido à sua bioquímica de blocos constituintes de proteínas e biomoléculas e, tem vindo a despertar o interesse dos investigadores para descrever com rigor as suas propriedades físico-químicas [3].

Em 1806, Vauquelin e Robiquet, iniciaram os estudos dos aminoácidos tendo isolado o primeiro aminoácido [4]. Os aminoácidos são elementos básicos importantes de todas as formas de vida e também de grande importância em processos industriais, particularmente para produtos alimentares, químicos, médicos, farmacêuticos e cosméticos [5].

Em meio aquoso os aminoácidos exibem comportamento fortemente hidrofílico, dependendo da razão entre a parte de hidrocarboneto hidrofílico e hidrofóbico. O caráter hidrofílico é ainda mais acentuado pela dissociação interna dado que os aminoácidos existem na forma ionizada zwitteriônica (do alemão *zwitter*, que significa "híbrido"), em soluções aquosas [3]. A estrutura geral de um aminoácido na sua forma zwitteriônica está apresentada na Figura 2.

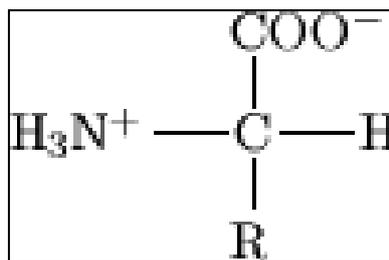


Figura 2 - Estrutura geral de um aminoácido na forma zwitteriônica.

2.2. Produção e Utilização dos Aminoácidos

A indústria de produção de aminoácidos é um exemplo ímpar de como se seleciona e manipula microorganismos para a produção de um produto comercializável. Existem 20 α -aminoácidos essenciais diferentes e todos são vendidos, mas cada um com quantidades bastante diferentes, sendo estes utilizados principalmente para aditivos de alimentos para animais (por exemplo a treonina), intensificadores de sabor (por exemplo a serina), e como nutrientes especiais no campo da medicina.

Em 1996, a produção anual global de aminoácidos estimada para os vinte α -aminoácidos foi de aproximadamente 1.65 milhões de toneladas, sendo que para a treonina foi de 4000 toneladas e a serina como uma produção de 200 toneladas [6]. Já em 2003, o consumo mundial de aminoácidos foi estimado em 2 milhões de toneladas. Em termos de valor de mercado, a L-lisina, DL-metionina, L-treonina e L-triptofano constituíram em 2004 a maior parcela com 56%, correspondendo aproximadamente a 3.4 bilhões de euros [4]. Os principais produtores de aminoácidos situam-se um pouco por todo o mundo, mas principalmente no Japão, os Estados Unidos da América, Coreia do Sul, China e Europa.

O valor dos aminoácidos na indústria alimentar é relacionando com o aroma, cada aminoácido tem seu sabor característico de doçura, acidez, salinidade, amargura e *umami*. Este último sabor, *umami*, torna os alimentos mais saborosos e é reconhecido como um gosto básico, independente dos outros quatro sabores clássicos [5].

Dos aminoácidos estudados neste trabalho verifica-se que a treonina tem um sabor doce forte e a serina tem sabor doce forte e *umami*.

Em termos de utilização mais frequente a L-treonina é o segundo aminoácido que, em quantidade, é adicionado para a fabricação de ração animal, principalmente para frangos e porcos. Em adição ao seu uso na nutrição clínica como componente da nutrição, a L-treonina é usado em produtos alimentícios, tais como alimentos e bebidas para a saúde e como aromatizante. É também usado para a síntese de vários produtos farmacêuticos [7]. É ainda utilizado como desintoxicante, ajudando a prevenir o aumento de gordura no fígado. É um componente importante do colagénio, sendo encontrado em baixos níveis entre os vegetarianos [8].

Por sua vez, a serina pode ser utilizada na nutrição clínica, incluindo infusões de aminoácidos, e preparações orais. Também é usada em alimentos para a saúde, em produtos cosméticos como um componente hidratante e também como aromatizante [9]. A serina também faz parte da composição da maioria dos glicolipídeos das células animais. Representa cerca de 4% dos aminoácidos das proteínas do nosso organismo. Os alimentos ricos neste aminoácido são o arroz, ovos e o leite [10]. É importante na produção de energia das células, ajuda a memória e funções do sistema nervoso. Melhora o sistema imunológico, produzindo imunoglobulinas e anticorpos [8].

2.3. A Química dos Aminoácidos

Os aminoácidos são moléculas orgânicas que possuem ligadas ao mesmo átomo de carbono um átomo de hidrogênio, um grupo amina, um grupo carboxilo e uma cadeia lateral R, característica para cada aminoácido onde outros grupos polares, como por exemplo –OH, –SH, podem ser substituídas e são predominantemente biologicamente significativos. Essa cadeia lateral é o que difere os aminoácidos em sua estrutura, tamanho, cargas elétricas e propriedades termofísicas.

Quando o grupo carboxilo de uma molécula reage com o grupo amina de outra molécula e liberta uma molécula de água, forma a designada ligação peptídica. Os aminoácidos presentes nas moléculas de proteínas são ligados covalentemente uns aos outros por essa ligação.

Todos os aminoácidos, a partir do qual as proteínas são derivadas, são α -aminoácidos e todos contêm uma função primária em conformidade com a estrutura molecular geral como é mostrada na Figura 3. Através dessa estrutura o radical, R, é substituído provocando a diferença física e química dos aminoácidos, bem como os seus nomes comuns, a sua natureza, abreviaturas, polaridade e acidez ou alcalinidade e estão apresentados na Tabela A.1 no apêndice A [11].

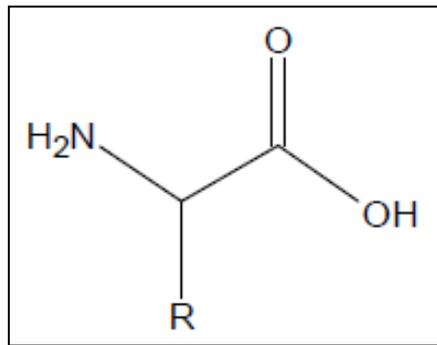


Figura 3 - Estrutura molecular geral de α -aminoácidos.

Dos vinte α -aminoácidos existentes, todos tem uma característica especial, pois eles são blocos de construção das proteínas e enzimas. Com exceção da glicina, todos os aminoácidos são opticamente ativos do tipo D ou L estereoisómeros. Os aminoácidos naturais estão apresentados com a configuração L.

Entre esses, vamos estudar em particular a serina e a treonina. As suas estruturas são muito semelhantes, a serina (radical, $-\text{CH}_2\text{OH}$) é o mais pequeno dos aminoácidos polares, difere da treonina (radical, $-\text{CH}_2\text{OHCH}_3$) em um grupo $-\text{CH}_3$ (grupo metilo) que substitui um H (hidrogénio) presente na molécula da serina. Na Figura 4 estão apresentadas a estruturas químicas gerais da serina e treonina. É a especificidade dessa diferença que vai ser estudada através das medições das densidades e velocidade do som em soluções aquosas diluídas de cada aminoácido.

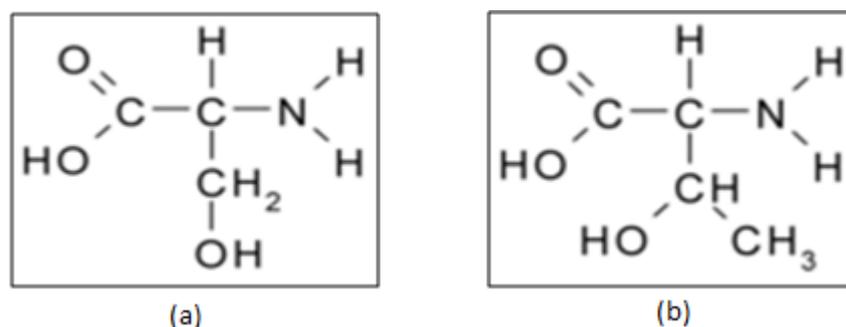


Figura 4 - Estrutura geral da serina (a) e treonina (b).

Para o ser humano dez dos aminoácidos são considerados essenciais [12] porque o nosso organismo não consegue sintetiza-los, assim é preciso ser complementado com os

restantes que são considerados naturais. Os aminoácidos polares são mais hidrofílicos que os aminoácidos apolares, visto que contem grupos funcionais que formam ligações de hidrogénio com a água e a sua polaridade é devida ao grupo hidroxilo [12]. Dos aminoácidos em estudo, a serina é um aminoácido natural enquanto a treonina é um aminoácido essencial, mas ambos são aminoácidos polares neutros [13].

A serina, de fórmula geral $C_3H_7NO_3$, apresenta uma massa molecular de 105.093 g/mol, também pode ser denominado de ácido 2-amino-3-hidroxi-propiónico ou ácido 2-amino-3-hidroxi-propanóico [14]. Por sua vez, a treonina, fórmula geral $C_4H_9NO_3$, apresenta uma massa molecular de 119.1192 g/mol e também é reconhecido como ácido 2-amino-3-hidroxi-n-butírico [15].

2.4. Estado da Arte

Neste tópico são numeradas e descritas as propriedades termodinâmicas de aminoácidos em soluções aquosas estudadas neste trabalho.

Foi essencial recolher uma série de referências bibliográficas, atualizadas, para que a elaboração desta dissertação fosse assertiva. Esse estudo prévio permitiu decidir quais os sistemas e as condições experimentais de operação, quais os métodos experimentais e as técnicas de análise a utilizar.

2.4.1. Métodos experimentais

Nesta secção vão ser brevemente apresentadas as metodologias que permitem determinar experimentalmente a densidade e a velocidade do som. Para a densidade as principais técnicas para a determinação experimental são a picnometria e a densimetria.

A picnometria é um método simples e económico para a determinação de densidades de líquidos. Consiste em medir corretamente o volume do picnómetro recorrendo à massa e

densidade de uma substância conhecida, por exemplo água, para posteriormente colocar o fluido que deseja conhecer a densidade e pesa-se novamente, como ilustrado na Figura 5.

Os cálculos são efetuados através de $\rho = \frac{m}{V}$. Este método é pouco preciso pelo que está em bastante desuso. Apesar de ser um método bastante simples, encher um picnómetro apresenta as suas dificuldades. É conveniente que o líquido escorra lentamente pela parede, para evitar a formação de bolhas de ar. As bolhas de ar são fonte de erros experimentais.

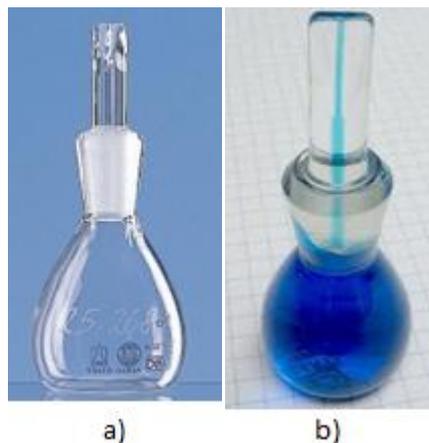


Figura 5 - Picnómetro: a) vazio e b) cheio.

Quando o picnómetro estiver completamente cheio, introduz-se a tampa com um movimento vertical rápido que obrigue o líquido a entrar para o capilar interior poderá, ainda assim, ser necessário utilizar pipeta de Pasteur para acrescentar mais líquido, para acertar pela marca sendo conveniente utilizar papel absorvente [17].

Devido à baixa precisão do picnómetro esse método não foi utilizado, a técnica mais eficaz e a que se adotou para a realização experimental para a medição da densidade foi a densimetria.

Tanto para as medições de densidade e velocidade do som utilizou-se o mesmo aparelho, Anton Paar DSA 5000. As condições de operação do densímetro, tais como a gama de medição, precisão e reprodutibilidade, são mostradas na Tabela 1 [17].

As medições através deste aparelho são bastante simples, visto que tem um carrocel onde se colocam os frascos contendo as amostras e este vai recolhendo amostra a amostra de forma automática e controlada.

Tabela 1 - Condições de operação do aparelho Anton Paar DSA 5000.

Gama de medição	
Densidade	0 a 3 g/cm ³
Velocidade do som	1000 a 2000 m/s
Temperatura	0 a 70 °C (273.15 a 343.15 K)
Precisão	
Densidade	0.000005 g/cm ³
Velocidade do som	0.5 m/s
Reprodutibilidade	
Densidade	0.000001 g/cm ³
Velocidade do som	0.1 m/s
Temperatura	0.001 °C

2.4.2. Dados experimentais

2.4.2.1. Água/Aminoácido

Ao longo do tempo, vários autores estudaram as propriedades, densidade e a velocidade do som em soluções aquosas. Na Tabela 2 estão apresentados alguns desses trabalhos que envolvem os aminoácidos que são âmbito do estudo nesta tese. Indicam-se os valores da temperatura, propriedades medidas e a referência bibliográfica.

2.4.2.2. Água/Sal/Aminoácido

Na Tabela 3 são apresentadas alguns dos estudos sobre as propriedades de soluções aquosas dos aminoácidos estudados com vários sais. De igual modo é indicado o sal, a gama

de temperaturas, e molalidades do sal, propriedade medida, bem como a referência bibliográfica.

Tabela 2 - Propriedades termodinâmicas de aminoácidos em soluções aquosas.

AA	Temperatura	Propriedade	Referência
Serina	278.15-308.15 K	ρ	Yan et al. 2004 [18]
	298.15 K		Romero e Negrete [19]
	298.15 K		Li et al. [20]
	298.62 K		Marriott et al. [21]
Treonina	288.15-308.15 K	ρ	Wadi e Goyal [22]
Serina e Treonina	298.15 K	ρ	Natarajan et al. [23]
	298.15 K		Ogawa et al. [24]
	298.15 K		Yuan et al. [25]
	298.15 K		Banipal et al. [1]

Tabela 3 - Propriedades termodinâmicas de aminoácidos em soluções aquosas com sais.

AA	Sal	Temperatura	Molalidades	Propriedade	Referência
Serina	CH ₃ COONa	298.15 K	1.0	ρ	Singh e Kishore [26]
	Guanidina.HCl	278.15-308.15 K	6.0		Yan et al. [18]
Treonina	KSCN	288.15-308.15 K	1.0, 3.0; 5.0	ρ	Wadi e Goyal [22]
Serina e Treonina	NaCl	298.15 K	0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0	ρ	Yuan et al. [25]
	NH ₄ Cl	298.15 K	0.25; 0.5; 1.25; 2.0		Natarajan et al. [23]
	LiCl, NaCl, KCl	298.15 K	1.0; 2.0		Ogawa et al. [24]
	NaCl	278.15-308.15 K	0.15; 2.0		Shen et al. [27]
	Mg(CH ₃ COO) ₂ CH ₃ COONa	298.15 K	0.5; 1.0; 2.0; 4.0	ρ e u	Banipal et al. [1]

2.4.3. Forças intermoleculares

Tanto os sólidos, como os líquidos ou os gases são constituídos por moléculas que se mantêm na vizinhança umas das outras por ação de forças atrativas, mais ou menos intensas. As forças são de natureza eletrostática, variam de intensidade, dependendo do tipo de molécula (polar ou apolar) e são designadas por forças intermoleculares [28].

As forças intermoleculares têm origem eletrônica, surgem de uma atração eletrostática entre nuvens de elétrons e núcleos atômicos. São fracas, se comparadas às ligações covalentes ou iônicas. As forças intermoleculares entre moléculas biológicas não são diferentes daquelas que surgem entre quaisquer outros tipos de moléculas. É devido à maior complexidade de macromoléculas biológicas e sistemas, que normalmente apresentam uma hierarquia de estruturas de automontagem que variam em tamanho de proteínas de membranas e células, aos tecidos e órgãos, e finalmente para os organismos. As interações biológicas são dinâmicas em vez de estáticas, os sistemas biológicos nunca estão em equilíbrio termodinâmico, e não são rigorosamente falando, sistemas fechados.

Existem vários tipos de forças intermoleculares, as estudadas são as forças e interações específicas e não específicas, forças de van der Waals (vdW), forças eletrostáticas e dupla camada (teoria DLVO) e forças de hidratação e hidrofóbicas (forças estruturais em água).

As forças não-específicas são aquelas que surgem entre os muitos tipos diferentes de átomos, moléculas, grupos moleculares ou superfícies, e que geralmente pode ser descritas em termos de um genérico potencial de interação. As interações específicas surgem quando uma combinação única de forças físicas ou obrigações entre duas macromoléculas agem de forma cooperativa no espaço para dar origem a ligações fortes não-covalentes. As interações específicas normalmente surgem a partir de uma sinergia de geométrica múltipla, estérica, ligações iônicas e direcional são também referidos como interações “complementares”.

Descrevem-se as forças já referidas e as suas implicações, mas limitamo-nos apenas à força “física”, aqueles em que as moléculas que interagem mantêm suas principais características, durante a interação. Evitam-se, assim, a consideração de ligações covalentes (química). No entanto, as ligações físicas podem ser tão fortes quanto as ligações covalentes ou químicas, especialmente no caso de ligações iônicas e complementares.

As forças de van der Waals, são forças de atração ou repulsão entre entidades moleculares diferentes daquelas que são devidas á formação de ligação, e também são conhecidas como forças intermoleculares. Estas podem surgir de três fontes. Em primeiro, as moléculas de alguns materiais, embora eletricamente neutras, podem possuir um dipolo elétrico permanente, devido a alguma distorção na distribuição da carga elétrica, um lado da molécula é ligeiramente mais "positivo" e o outro é ligeiramente mais "negativo". A tendência é estas moléculas se alinharem, e interagirem umas com as outras, por atração eletrostática entre os dipolos opostos. Esta interação é chamada de dipolo-dipolo. Em segundo, a presença de moléculas que tem dipolos permanentes podem distorcer a distribuição de carga elétrica em outras moléculas vizinhas, mesmo as que não possuem dipolos (apolares), através de uma polarização induzida. Esta interação é chamada de dipolo-dipolo induzido. E, em terceiro, mesmo em moléculas que não possuem momento de dipolo permanente existe uma força de atração, chamada forças de dispersão de London, também designadas por forças dipolo instantâneo-dipolo induzido. Estas são ligações intermoleculares muito fracas que surgem entre moléculas apolares ou de pouca polaridade. Neste tipo de moléculas, há simetria da nuvem eletrónica. No entanto, devido ao constante movimento dos eletrões, pode acontecer que, momentaneamente, haja uma distribuição desigual de cargas, originando um dipolo instantâneo. Este, por sua vez, vai interagir com a molécula vizinha levando ao aparecimento nesta partícula, de um dipolo induzido. A intensidade destas forças depende do tamanho das moléculas, sendo tanto mais intensas quanto maior for o tamanho das moléculas, e depende da ramificação das cadeias sendo mais intensas quanto menos ramificada for a cadeia.

Devido à sua alta polaridade, certas moléculas estabelecem ligações de dipolos permanentes muito fortes. Nestas ligações estão sempre presentes átomos H, que se ligam quase covalentemente, pelo que são denominadas pontes de hidrogénio. Uma ligação de hidrogénio estabelece-se fortemente nas moléculas de água (molécula polar) quando um polo positivo se defronta com um polo negativo. Cada átomo de oxigénio tem a capacidade para estabelecer duas pontes de hidrogénio com átomos H de outras moléculas. Quando ocorre um arrefecimento da água, estas ligações vão fixar-se, deixando consideráveis espaços vazios, pois a ocorrência destas ligações não vai permitir a existência de certas moléculas em determinado local, logo, estas moléculas vão causar um aumento do volume do gelo (gelo menos denso do que a água líquida). As ligações de hidrogénio surgem nos casos em que os átomos de H se ligam por covalência a átomos muito eletronegativos, como azoto (N), oxigénio (O) e flúor (F). Estas forças são tanto mais intensas quanto maior for a diferença de

eletronegatividade entre o H e o átomo a ele ligado e maior for o número de pontes de H estabelecidas por molécula.

2.4.4. Modelação e propriedades derivadas

2.4.4.1. Volume molar parcial

Para se calcular o volume molar parcial, $V_{\phi,3}^0$, através das medições de densidade foi necessário utilizar a seguinte expressão,

$$V_{\phi,3}^0 = \frac{M_3}{\rho_0} - (1 + m_2 M_2) \frac{a_V}{\rho_0^2} \quad (1)$$

Sendo que, M_3 é a massa molar do AA, ρ_0 é densidade do solvente (água ou água+sal), m_2 é a molalidade do sal, M_2 é a massa molar do sal e a_V é obtido pela regressão linear de,

$$\frac{\rho - \rho_0}{m_3} = a_V + b_V m_3 \quad (2)$$

Nessa relação, ρ é a densidade da mistura (binária ou ternária), ρ_0 é densidade do solvente (água ou água+sal), a_V a ordenada na origem, b_V o declive e m_3 a molalidade do AA.

A dedução da relação (1) está desenvolvida no Anexo B.

2.4.4.2. Compressibilidade adiabática

Para a compressibilidade adiabática, K_s^0 a equação referente ao seu cálculo, através das medições de densidade e velocidade do som é dada pela expressão (3):

$$K_s^0 = \frac{M_3}{(\rho_0 u_0)^2} - (1 + m_2 M_2) \frac{a_k}{(\rho_0 u_0)^4} \quad (3)$$

Onde, ρ_0 é a densidade do solvente (água ou água+sal), u_0 é a velocidade do som do solvente (água ou água+sal), M_3 é a massa molar do aminoácido, m_2 é a molalidade do sal, M_2 é a massa molar do sal e a_k é obtida através da regressão linear seguinte,

$$\frac{\Delta[(\rho u)^2]}{m_3} = \frac{(\rho u)^2 - (\rho_0 u_0)^2}{m_3} = a_k + b_k m_3 \quad (4)$$

Sendo, ρ é a densidade da mistura (binária ou ternária), ρ_0 é densidade do solvente (água ou água+sal), a_k é a ordenada na origem, b_k é o declive e m_3 é molalidade do aminoácido.

2.4.4.3. Interpretação das interações moleculares

a) Volumes de transferência

Os volumes de transferência, de aminoácidos definidos pela teoria de McMillian e Mayer [29] (equação 5), permite expressar e identificar se as interações predominantes são do tipo duplete ou tripleto.

$$\Delta V_{tr}^0 = 2Z_{AA|s} m_2 + 3Z_{AA|s|s} m_2^2 + \dots \quad (5)$$

Onde, AA é o aminoácido, s é o sal, m_2 é a molalidade do sal, $Z_{AA|s}$ é o coeficiente de interação volumétrico do duplete e $Z_{AA|s|s}$ é o coeficiente de interação volumétrico do tripleto.

Usualmente os valores de $Z_{AA|s}$ são positivos e os valores de $Z_{AA|s|s}$ são negativos. Os valores positivos do coeficiente de interação do duplete se forem grandes sugerem que as interações entre o AA e o sal sejam principalmente aos pares. Esta observação está em linha com a conclusão do modelo da sobreposição das esferas onde as interações soluto-soluto são denominadas de interações soluto-solvente. Segundo Banipal et al. [29] os valores de $Z_{AA|s}$ diminuem com o aumento da parte hidrofóbica e aumentam com um aumento da temperatura. O coeficiente de interação do tripleto é geralmente negativo e diminui com o aumento da temperatura.

Os volumes de transferência a diluição infinita, ΔV_{tr}^0 , da água para a solução aquosa de sulfato de amônio são calculados a partir da seguinte expressão:

$$\Delta V_{tr}^0 = V_{\phi,3}^0(\text{na solução aquosa de sulfato de amônio}) - V_{\phi,3}^0(\text{na água}) \quad (6)$$

Segundo, Banipal et al. [1] o modelo da sobreposição das esferas, quando duas partículas de solutos estão muito próximas, as partículas sobrepõem-se, algum material da esfera é deslocado e acompanhado pela mudança de parâmetros termodinâmicos.

Em sistemas ternários (AA+sal+água), as interações podem ser classificadas como:

- Interações ião carregado/ grupo hidrofílico entre iões de sulfato de amônio (NH_4^+ , SO_4^{2-}) e os grupos $-\text{OH}$, NH_3^+ e COO^- dos aminoácidos;
- Interações ião/ grupo hidrofóbico entre iões do sulfato de amônio e parte apolar do aminoácido.

Siddique and Naqvi [36] também propôs que o modelo da sobreposição das esferas pode ser utilizado para racionalizar os valores ΔV_{tr}^0 , em termos de interações soluto/co-soluto. A sobreposição de iões do co-soluto e aminoácidos entra em ação devido a interações entre:

- As extremidades dos aminoácidos carregados ($-\text{NH}_3^+$, $-\text{COO}^-$) e iões do co-soluto;

- As partes hidrofóbicas dos aminoácidos e iões do co-soluto e extremidades carregadas/partes hidrofílicas de aminoácidos e partes hidrofóbicas dos co-solutos;
- As partes hidrofóbicas dos aminoácidos e partes hidrofóbicas de iões de co-solutos.

De acordo com o modelo da sobreposição das esferas, as interações ião carregado/grupo hidrofílico resultam em valores positivos de ΔV_{tr}^0 , e as interações ião/grupo hidrofóbico resultam em valores negativos de ΔV_{tr}^0 .

b) Número de hidratação

O número de hidratação ou número de solvatação, n_H , revela o grau de hidratação de um soluto na água. O número de hidratação geralmente aumenta com o tamanho do aminoácido em água ou em soluções, e com a temperatura [30].

O número de hidratação para aminoácidos é calculado a partir dos volumes molares parciais, $V_{\phi,3}^0$ usando o método descrito por Millero et. al [31], através das seguintes expressões:

$$V_{\phi,3}^0 = V_{\phi,3}^0(int) + V_{\phi,3}^0(elect) \quad (7)$$

onde, $V_{\phi,3}^0$ é o volume molar parcial, $V_{\phi,3}^0(int)$ é o volume molar parcial intrínseco do AA e $V_{\phi,3}^0(elect)$ é o volume molar parcial eletrostático devido à hidratação do AA.

Outra abordagem que pode ser usada para estimar $V_{\phi,3}^0(int)$, é a partir do volume molar na forma cristalina, de modo a efetuar correções apropriadas para densidades de empacotamento. A densidade de empacotamento para moléculas orgânicas na forma cristalina

é de cerca de 0.7 e para esferas aleatórias é 0.634. Deste modo, Millero et. al [31] obteve o valor dos volumes molares, usando a relação,

$$V_{\phi,3}^0(int) = \frac{0.7}{0.634} V_{\phi,3}^0(crist) \quad (8)$$

Onde, $V_{\phi,3}^0(crist)$ é o volume molar parcial na forma cristalina que pode calcular usando as massas molares e densidades dos AA's, 0.7 é a densidade de empacotamento para a molécula de um cristal orgânico e 0.634 é a densidade de empacotamento para uma esfera aleatória.

As densidades dos aminoácidos para o cálculo do volume molar parcial na forma cristalina podem ser fornecidos por Berlin [32], e tem-se para a L-serina uma densidade de 1.582 g/cm³ e para a L-treonina 1.499 g/cm³.

Posteriormente, Millero et al. (1978) relatou uma relação entre o volume na vizinhança do soluto e o número de hidratação do não-eletrólito sendo,

$$V_{\phi,3}^0(elect) = n_H(V_e^0 - V_b^0) \quad (9)$$

Rearranjando a equação (9) obtêm-se a fórmula para o cálculo do número de hidratação,

$$n_H = \frac{V_{\phi,3}^0(elect)}{V_e^0 - V_b^0} \quad (10)$$

onde, V_b^0 é o volume molar de água em massa e V_e^0 é o volume molar de água na vizinhança do soluto.

Segundo Yan et al. [18] os valores de, $V_e^0 - V_b^0$, são constantes e normalmente negativos. Tendo-se uns valores de -2.6, -2.9, -3.3, -4.0 e -4.9 cm³/mol para 278.15, 288.15, 298.15, 308.15 e 318.15 K respectivamente. Para 318.15 K o valor foi obtido por extrapolação entre 278.15 e 318.15 K.

Riyazuddeen e Khan [37], relataram que algumas moléculas de água na vizinhança dos aminoácidos podem ser libertados para a água no estado bulk, na presença de alguns sais

(Figura 6). A presença do sal provoca um aumento do volume do solvente, reduzindo assim as interações fortes entre os aminoácidos e água. Para valores positivos do declive, as soluções, a todas as temperaturas, podem indicar a presença de interações fortes ião-ião e interações fortes zwitterião-zwitterião, em vez de interações apolares, variando com a temperatura, aminoácidos e solvente. Para valores positivos do volume molar parcial às temperaturas experimentais, estes indicam a presença de interações fortes entre $\text{NO}_3^- - \text{NH}_3^+$. Por sua vez, para valores negativos do declive, mostra que as interações são fracas e ocorre formação de iões menos complexos.

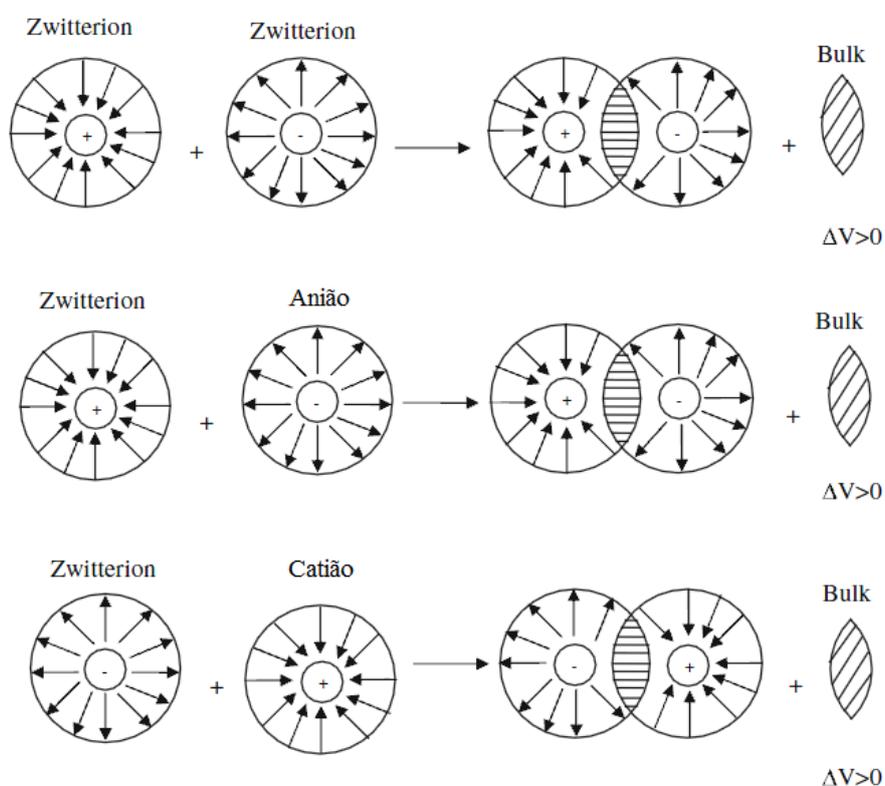


Figura 6 - Interações zwitterião-zwitterião, zwitterião-anião e zwitterião-catião através da hidratação da sobreposição das esferas e alterações de volume, resultando em soluções aquosas de sais.

c) Constante de Hepler

Os dados do volume molar parcial padrão, $V_{\phi,3}^0$, são muitas vezes incorporadas com informações importantes da hidrofobicidade do soluto, as propriedades de hidratação e interações soluto-solvente. As derivadas do volume molar parcial padrão com a temperatura refletem a hidrofobicidade do soluto, são chamados critérios hidrofobicidade (Tabela 4) [30].

Tabela 4 - Critérios de hidrofobicidade.

		$\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2}$	
		Positiva	Negativa
$\frac{\partial V_{\phi,3}^0}{\partial T}$	Positiva	-	Hidrofílica
	Negativa	Hidrofóbica	-

O método proposto por Hepler [33], diz que as soluções aquosas são interpretadas em termos da estruturação das soluções ou estrutura de quebra, que é característico para solutos diferentes.

Uma das primeiras explicações consistente em outras propriedades de soluções aquosas com eletrólitos que são solutos capazes de quebrar os agregados volumosos e, assim, diminuir a capacidade de calor eficaz da água. Dado que o aumento da pressão também faz quebrar os agregados volumosos, o mesmo raciocínio sugere que o calor da capacidade de água pura deve diminuir com aumento da pressão [33].

A hidratação de um soluto pode ser obtida pela expansão térmica de soluções aquosas usando a relação termodinâmica,

$$\left(\frac{\partial C_{p,3}^0}{\partial T}\right)_p = -T \left(\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2}\right)_p \quad (11)$$

onde se prevê que o valor de $\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2}$ para a água é positivo.

Com o aumento da temperatura rompem-se os agregados volumosos, esperamos que a magnitude de $\frac{\partial c_{p,3}^0}{\partial T}$ diminuía com o aumento da temperatura, o que requer que a $T \left(\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2} \right)_P$ também deve diminuir com o aumento da temperatura. É de esperar também que $T \left(\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2} \right)_P$, deve diminuir com o aumento da pressão.

Concluindo, temos que, um valor negativo de $\left(\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2} \right)_P$ parece associar-se com um soluto que provoca a rutura da estrutura da solução e um valor positivo está associado a um soluto que promove a estruturação da solução.

Para estudar o efeito da temperatura nas interações entre os aminoácidos, os volumes molares parciais de expansão $V_E^0 = \left(\frac{\partial c_{p,2}^0}{\partial T} \right)_P$ e $\left(\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2} \right)_P$ foram calculados utilizando-se o método dos mínimos quadrados, através da seguinte relação [29],

$$V_{\phi,3}^0 = a + bT + cT^2 \quad (12)$$

Onde, a , b e c são constantes e T é a temperatura.

Derivando a eq. (12), obtemos a expressão para o cálculo de $\frac{\partial V_{\phi,3}^0}{\partial T}$ tendo,

$$\frac{\partial V_{\phi,3}^0}{\partial T} = b + 2cT \quad (13)$$

Para saber o valor de $\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2}$ fez-se a derivada da eq. (13),

$$\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2} = 2c \quad (14)$$

3. Dados Experimentais

3.1. Introdução

Neste capítulo vão ser apresentadas as metodologias experimentais adotadas, apresentação do material utilizado para as experiências e o protocolo adotado.

Serão também apresentados os dados experimentais para soluções binárias (sistema: água + aminoácido) e soluções ternárias (sistema: água + aminoácido + sulfato de amónio).

Por fim são discutidos os resultados obtidos, resumidos em tabelas e gráficos para uma melhor e mais fácil interpretação.

3.2. Metodologia Experimental

3.2.1. Substâncias

As substâncias utilizadas neste trabalho são a L-serina, L-treonina, sulfato de amónio e água ultra pura.

A L-serina (código 56-45-1) e o sulfato de amónio (código 7783-20-2) são fornecidos pela *Sigma*, ambos com um grau de pureza de 99% e a L-treonina (código 72-19-5) é fornecida pela *Fluka* com um grau de pureza de 99%.

O sulfato de amónio é seco na estufa durante dois dias antes do uso. Neste trabalho utilizou-se água ultra pura que é obtida pelo sistema de água ultra pura *Milli-Q RG*.

3.2.2. Descrição do equipamento

Durante a realização do protocolo experimental utilizou-se uma série de material e aparelhos eletrônicos que serviram para as medições das soluções, bem como a recolha de dados.

O trabalho é executado com a ajuda de um aparelho adquirido à Anton Paar, que permite efetuar as medições de densidade e velocidade do som de soluções aquosas de sulfato de amónio, contendo aminoácidos, a diferentes temperaturas, como se mostra na Figura 7. Este aparelho combina a medição da densidade mais precisa com a medição da velocidade do som de alta precisão. Determina a densidade e a velocidade do som da amostra em um ciclo, e com as condições da mesma amostra. Esta combinação única de medição ainda reduz a margem de erro de medição da concentração de misturas binárias e é frequentemente utilizado em laboratórios químicos industriais [17].



Figura 7 - Medidor de densidades e velocidade do som Anton Paar DSA 5000.

Tem um enchimento simultâneo e automático, e de limpeza das células de medição, os resultados são precisos e rápidos com um pequeno volume de amostra. Também mostra e armazena imagens da amostra ao vivo no sensor do tubo oscilante em forma de U [17].

Para ajustar a temperatura do aparelho deve-se ir a “Menu” – “Temperature setting” – “Set temperature (°C)” e com a ajuda das teclas para cima, baixo, esquerda e direita ajusta-se para a temperatura pretendida (5, 15, 25, 35 ou 45 °C). Após o fim da leitura das amostras do carrocel, a recolha dos dados é feita via computador (Figura 8). Através do computador e da

ajuda do programa “*Memory Readout*” pressiona-se “*Run*” que faz a recolha dos dados. No fim da aquisição dos dados estar completa pressiona-se “*Stop*”. Posteriormente abre-se um ficheiro em bloco de notas chamado “*DSA 5000*” onde os dados estão armazenados, e arquiva-se com o nome do ficheiro pretendido, por exemplo “*SER1_05C*”. Para cada medição deve limpar-se a memória do aparelho Anton Paar, em “*Menu*” – “*Data memory*” – “*Browser*” – “*Clear*” – “*Yes*”, após estes passos o aparelho está apto para a nova medição, depois de ajustada a temperatura para a desejada.



Figura 8 - Computador para aquisição de dados (lado esquerdo) e sistema de água ultra pura *Milli-Q* *RG* (lado direito).

Para a preparação das soluções são necessárias duas balanças diferentes, para as pesagens dos aminoácidos (serina ou treonina) e sulfato de amónio (Figura 9). A balança analítica de quatro casas decimais para pesar as quantidades de aminoácido, e a balança de duas casas decimais para pesar a quantidade de sulfato de amónio e água ultra pura degaseificada necessária para cada solução desejada.



Figura 9 - Balança analítica de 2 casas decimais (lado esquerdo) e balança analítica de 4 casas decimais (lado direito).

A água ultra pura é obtida pelo aparelho Milli-Q RG (Figura 8).

Antes de cada medição os frascos que contem as soluções devem ser introduzidos no aparelho de ultra sons (Figura 10) para remover todas as bolhas de ar formadas dentro dos frascos.



Figura 10 - Banho de ultra sons de frente (lado esquerdo) e com a amostra, visto de cima (lado direito).

3.2.3. Procedimento

3.2.3.1. Preparação das soluções

Para este trabalho experimental foram definidos os padrões de concentrações de aminoácidos (serina e treonina) e sal (sulfato de amónio). Na Tabela 5 são ilustradas a gama de concentrações adotadas para o presente trabalho.

Tabela 5 - Gama de concentrações de AA e sal.

	Gama de concentrações (mol/kg H ₂ O)						
AA	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.40	0.50
Sal	0.0	0.1	0.3	0.7	1.0	1.3	2.0

Para as medições das densidades e velocidades do som foi necessário preparar uma série de soluções, entre elas as soluções binárias (água + aminoácido e água + sulfato de

amónio) e soluções ternárias (aminoácido + água + sulfato de amónio). Sendo apresentados de seguida os procedimentos adotados.

I. Procedimento experimental para a preparação das soluções de aminoácido (Sistema binário: H₂O + AA):

1. Inicialmente coloca-se um frasco vazio (de 1000mL) na balança (com 2 casas decimais) e tara-se;
2. Paralelamente pesa-se noutra balança (com 4 decimais) o peso necessário de AA pretendido;
3. Verte-se o AA pesado para o frasco com a ajuda de um funil de sólidos;
4. A massa de AA é calculada pela diferença do peso do frasco + AA acabado de pesar menos o peso do frasco + AA acabado de verter para o frasco;
5. Com a água ultra pura degaseificada lava-se o funil de sólidos para remover os restos de AA que está depositado na parede;
6. Após a lavagem do funil de sólidos colocar um funil de plástico para verter o resto da água ultra pura degaseificada até mais ou menos ao peso desejado;
7. Remover o funil de plástico e ajustar com uma seringa gota a gota para se obter o peso pretendido;
8. Registrar o valor da balança no ficheiro de Excel da preparação das soluções;
9. Pôr o frasco no agitador até a dissolução completa da solução;
10. Os frascos devem permanecer fechados até às medições.

II. Procedimento experimental para a preparação das soluções de sulfato de amónio (Sistema binário: $\text{H}_2\text{O} + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$):

1. Inicialmente coloca-se um frasco vazio (de volume 2000mL) na balança (com 2 casas decimais) e tara-se;
2. Colocar o funil de vidro no suporte de maneira que não toque no frasco e verter a quantidade de sulfato de amónio necessária, e voltar a tarar;
3. Remover o funil de vidro e colocar o funil de plástico (sem suporte) e verter água ultra pura desgaseificada até mais ou menos ao peso pretendido;
4. Igual ao procedimento I do ponto 7 ao 10.

III. Procedimento experimental para a preparação das soluções de ácido (Sistema ternário: $\text{H}_2\text{O} + \text{AA} + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$):

1. Igual ao procedimento I até ao ponto 4;
2. Com a solução de sulfato de amónio lava-se o funil de vidro para remover os restos de AA que está depositado na parede;
3. Igual ao procedimento I do ponto 6 ao 10, mas usando a solução binária água+sal.

3.2.3.2. Procedimento experimental

Inicialmente, o carrocel partia com 24 posições, e eram feitas três rondas de medições a cada amostra. Com o decorrer do estudo essas foram diminuindo, devido ao tempo que uma amostra tinha em contacto com a temperatura ambiente, fazendo com que as soluções sofressem evaporação da água e essas se tornassem mais concentradas. Realizou-se apenas uma ronda de medições para cada amostra e a uma concentração de sal de cada vez, para se obter uma boa qualidade dos resultados experimentais.

Durante o desenvolvimento experimental foram feitas algumas medições de pH utilizando o “Medidor de pH *PHI 04* com eletrodo de vidro combinado”, para estudar o efeito deste nas soluções, mas não se obteve conclusões acerca de eventuais fenômenos químicos em solução dado que na generalidade pouco se afasta do valor do ponto isoelétrico. Sabe-se que para a serina o ponto isoelétrico é de 5.68 [34] e para a treonina é 5.64 [35].

A máxima variação encontrada foi entre 5.36 e 5.88 ao variar a concentração da treonina (entre 0 e 0.5 molal) em solução de 0.7 molal de sulfato de amônio.

I. Procedimento no Anton Paar DSA 5000:

1. Ajustar a temperatura e apagar todos os dados no aparelho;
2. Colocar os frascos das soluções no banho de ultra sons durante 10 minutos;
3. Retirar os frascos do banho de ultra sons com cuidado para não agitar a solução;
4. Rodar horizontalmente e 360° o frasco para remover a solução condensada dentro do mesmo;
5. Verter a solução para um frasco do carrocel, lavando-o 2 vezes;
6. Encher o frasco até ao topo e tapar com uma cápsula e uma membrana com um orifício em cruz no meio;
7. Fazer o mesmo procedimento para todos os frascos necessários para as medições de densidade e velocidade do som;
8. Pressionar START e começa as medições.

II. Procedimento de lavagem do material:

1. Lavar os frascos com água da corrente por dentro e por fora;
2. De seguida lavar com água ultra pura 3 vezes;
3. Colocar os frascos de vidro na estufa a 110 °C até estar completamente seco;
4. Sendo necessárias as tampas com urgência lavar as tampas com metanol e colocar na estufa até secagem total;

Como o medidor da densidade e velocidade do som da Anton Paar DSA 5000 é um aparelho bastante preciso é necessário que tudo esteja feito com o maior rigor e são necessários alguns cuidados para se ter uma boa qualidade dos resultados. Mediante esta situação é necessário que as soluções estejam bem preparadas, o material utilizado esteja bem lavado, a gota que fica no tubo após cada amostragem também pode influenciar a medição seguinte, a evaporação da água dos frascos faz com que a concentração fique mais concentrada e com maior densidade, a má lavagem do aparelho entre cada amostra, e a formação de bolhas de ar também faz com que a leitura das amostras dê erro.

Antes de cada medição a amostra deve ser introduzida num banho de ultra sons durante 10 minutos para remover todas as bolhas de ar presentes na solução, pelo que quando se retira os frascos deve ser com o máximo cuidado para não mexer muito a solução pois movimentos muito bruscos faz com que volte a ganhar bolhas de ar.

4. Resultados Experimentais

4.1. Dados Experimentais

Os valores obtidos experimentalmente para as soluções aquosas de sulfato de amónio contendo serina ou treonina foram medidos numa gama de temperaturas entre 278.15 e 318.15 K.

4.1.1. Volumes molares parciais

Os valores medidos experimentalmente para a densidade, são expressos em kg/m^3 e estão apresentados na Tabela C.1 no Anexo C.

Através destas propriedades foram calculados os volumes molares parciais através de relações já anteriormente citadas e estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Valores dos volumes molares parciais (cm^3/mol) dos aminoácidos a diferentes molalidades de sal e temperaturas.

Serina							
T (K)	Molalidades de sal (mol/kg H ₂ O)						
	0.0	0.1	0.3	0.7	1.0	1.3	2.0
278.15	58.42	59.38	61.04	62.86	63.64	64.59	65.66
288.15	59.67	60.48	61.96	63.60	64.12	64.83	66.06
298.15	60.59	61.35	62.65	64.22	64.81	65.22	66.38
308.15	61.28	62.01	63.22	64.71	65.16	65.88	66.78
318.15	61.86	62.46	63.67	65.00	65.50	66.34	67.10

Treonina							
T (K)	Molalidades de sal (mol/kg H ₂ O)						
	0.0	0.1	0.3	0.7	1.0	1.3	2.0
278.15	75.00	75.70	76.92	78.68	79.54	80.68	81.64
288.15	76.08	76.75	77.95	79.26	80.14	80.91	82.07
298.15	76.92	77.59	78.53	79.91	80.67	81.74	82.38
308.15	77.60	78.15	79.13	80.41	81.08	82.07	82.82
318.15	77.98	78.64	79.66	80.83	81.44	82.50	83.22

Foram, também recolhidos todas as ordenadas na origem, a_v , juntamente com os valores do r^2 , onde estão apresentados na Tabela C.2 no Anexo C.

4.1.2. Compressibilidade adiabática

Relativamente á velocidade do som, as medições experimentais, são expressas em m/s, e estão apresentados na Tabela D.1 no Anexo D.

A partir destes dados experimentais calcula-se a compressibilidade adiabática de acordo com as expressões descritas anteriormente (equação 3). Na verdade, a partir desses resultados experimentais não foi possível recolher informação fidedigna quanto às compressibilidades adiabáticas. Na Figura 11 e Figura 12 estão apresentados dois exemplos dos valores experimentais obtidos para o cálculo da compressibilidade adiabática, para a serina, e, na Figura 13 e Figura 14 os valores obtidos para a treonina, ambas a 0.0 molal e 2.0 molal de sal, para melhor visualização do estudo.

Sabe-se que este tipo de medições são muito problemáticas e devido à extrema dificuldade em fazer medições desta propriedade é usual fazer um número de leituras até 10, para obter o valor médio nas condições em estudo, e ainda assim incertos. No presente trabalho não foi possível realizar tao elevado número de medições.

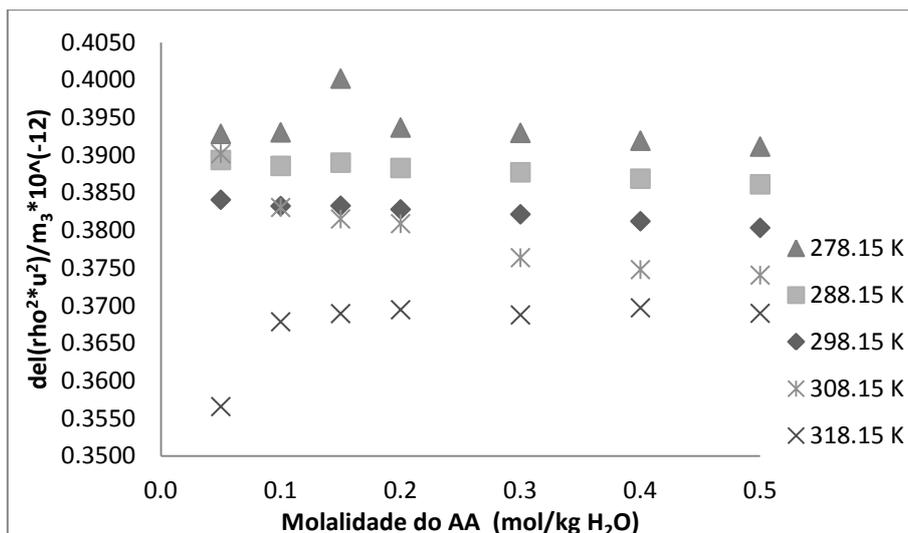


Figura 11 - Resultados obtidos experimentalmente para a serina a 0.0 molal de sal.

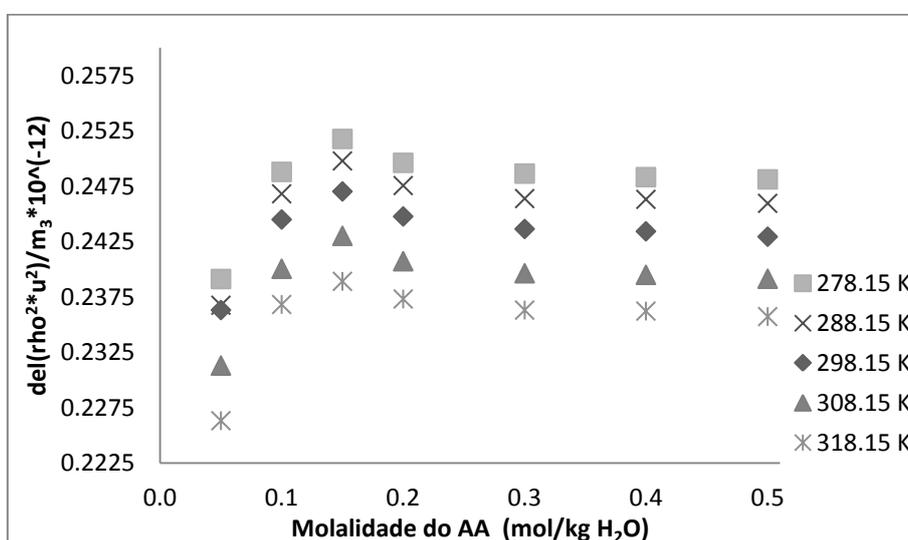


Figura 12 - Resultados obtidos experimentalmente para a serina a 2.0 molal de sal.

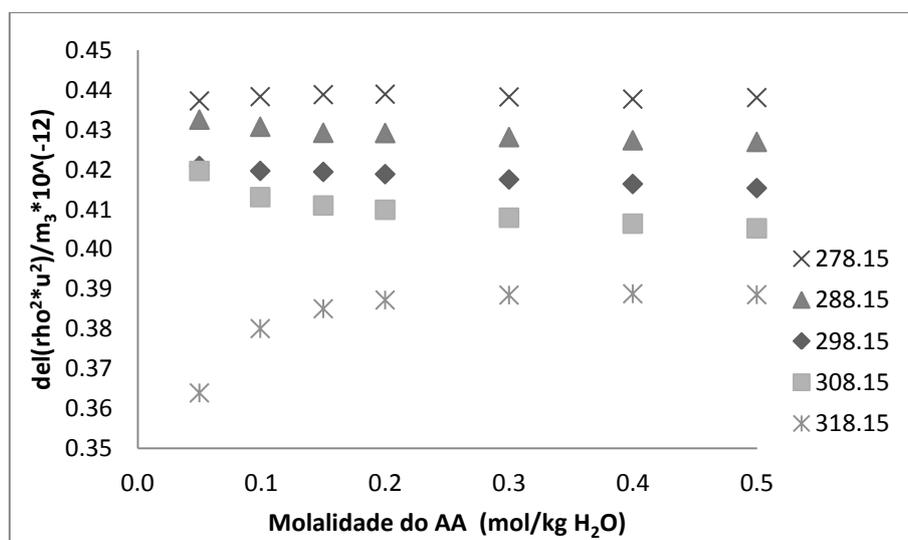


Figura 13 - Resultados obtidos experimentalmente para a treonina a 0.0 molal de sal.

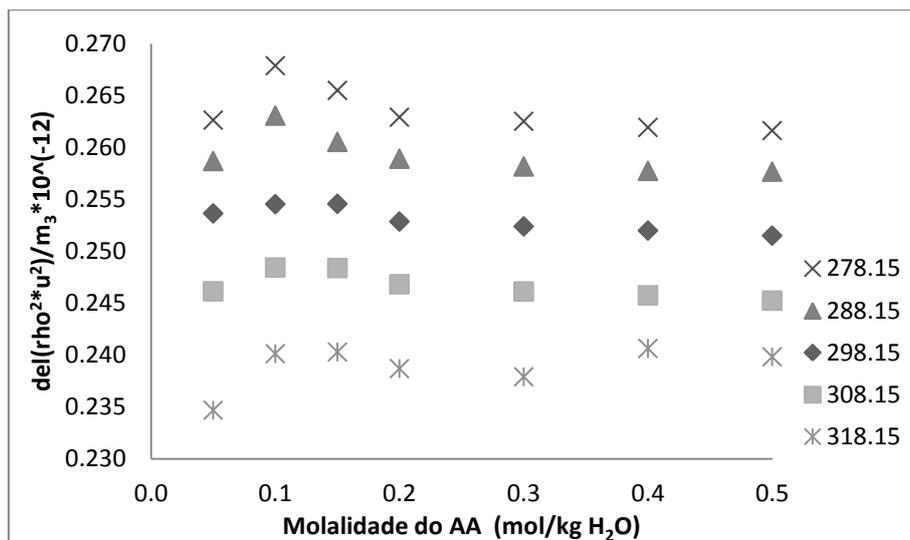


Figura 14 - Resultados obtidos experimentalmente para a treonina a 2.0 molal de sal.

Como é notório, pela observação das figuras anteriores verifica-se que a qualidade dos resultados não foi a desejada. A 0.0 molal de sal os resultados não sofrem grande variação, mas com o aumento da molalidade de sal os resultados não são os melhores. Pela visualização gráfica percebe-se que existe um máximo do valor de $\frac{\Delta[(\rho u)^2]}{m_3}$ que ronda o 0.15 molal de serina e para a treonina perto de 0.10 molal, havendo depois um decréscimo para ambos AA's. Para uma boa qualidade dos resultados seria de esperar que se obtivesse uma reta, mas de facto não é o que se obtém.

Para melhorar a qualidade dos mesmos, seria necessário aumentar o número de medições da velocidade do som. Por esta razão não se considerou os resultados obtidos durante todo o processo experimental.

Na Tabela D.2 no Anexo D, são apresentados os valores experimentais obtidos para as ordenadas na origem e r^2 .

4.2. Análise Crítica dos Resultados

Depois de todo o desenvolvimento experimental apresenta-se aqui os resultados obtidos graficamente para melhor análise.

Na Figura 15 e Figura 16 são apresentados os valores calculados para o volume molar parcial em função da molalidade de sal, às diferentes temperaturas para os dois aminoácidos. Pela análise desses, verifica-se que tanto para a serina como para a treonina, inicialmente a diferença entre os volumes molares parciais é maior, tornando-se cada vez mais homogêneo com o aumento da concentração de sal. Não se sabe se esses continuam diminuindo ou mesmo se eles são coincidentes em algum momento pois só foi possível estudar os volumes molares parciais até uma concentração máxima de sal de 2.0 molal.

Em suma, os volumes molares parciais aumentam com o aumento da concentração do sal e também aumentam com o aumento da temperatura.

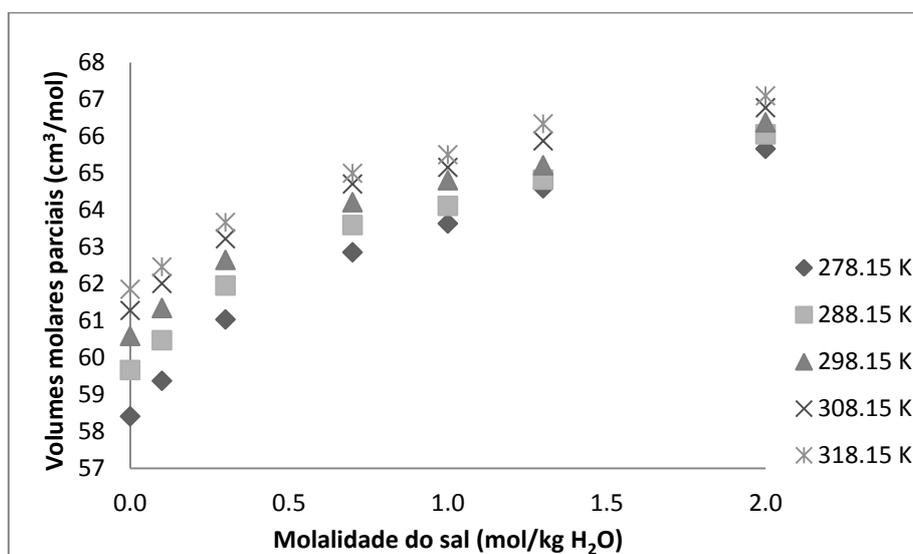


Figura 15 - Volumes molares parciais (cm^3/mol) em função da molalidade de sal, às diferentes temperaturas, para a serina.

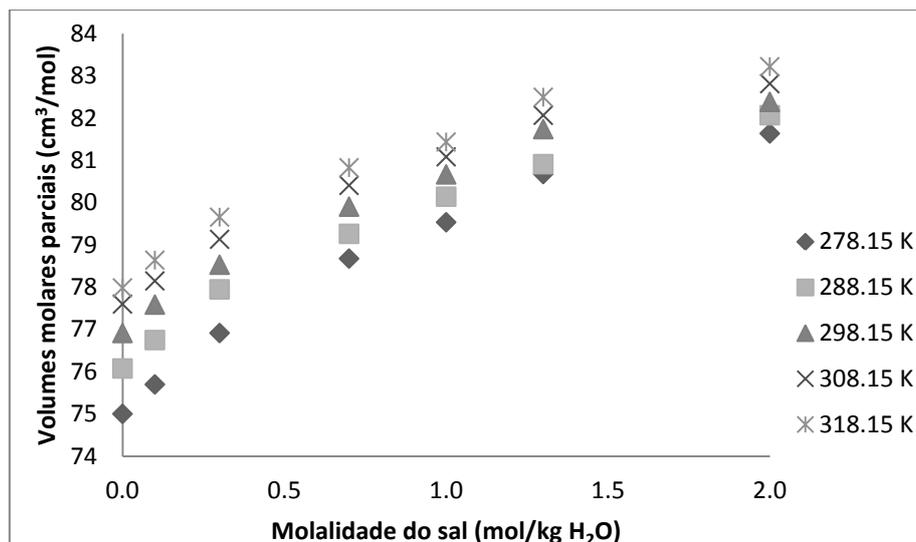


Figura 16 - Volumes molares parciais (cm³/mol) em função da molalidade de sal, às diferentes temperaturas, para a treonina.

De acordo com o proposto por Riyazuddeen e Khan [37], obteve-se valores positivos do declive a todas as temperaturas e valores positivos do volume molar parcial tanto para a serina como para a treonina, o que indica a presença de interações fortes ião-ião e interações fortes zwitterião-zwitterião, também indicando a presença de interações fortes entre SO_4^{2-} – NH_3^+ e NH_4^+ – COO^- .

Nas figuras que se seguem é mostrada a variação do volume molar parcial, em função da temperatura, às diferentes molalidades de sal para ambos aminoácidos em estudo.

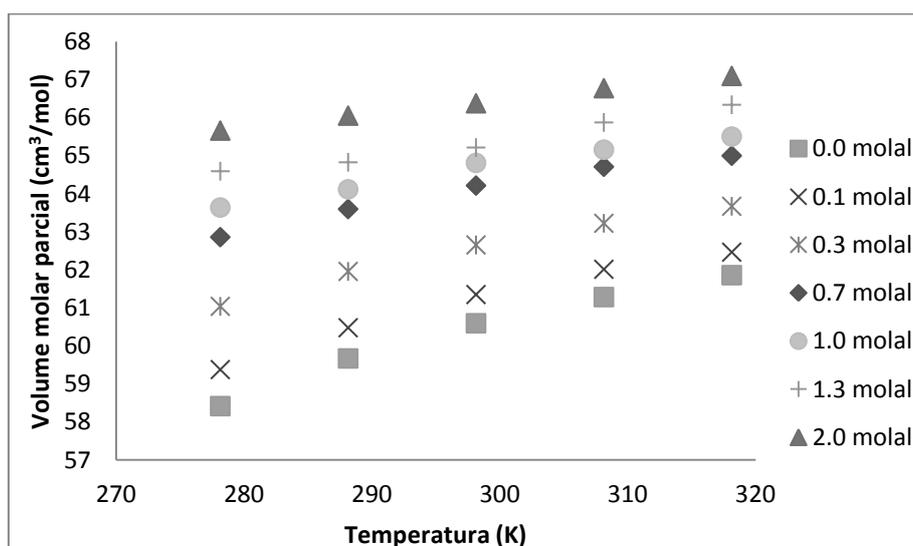


Figura 17 - Variação dos volumes molares parciais (cm³/mol), em função da temperatura, para a serina.

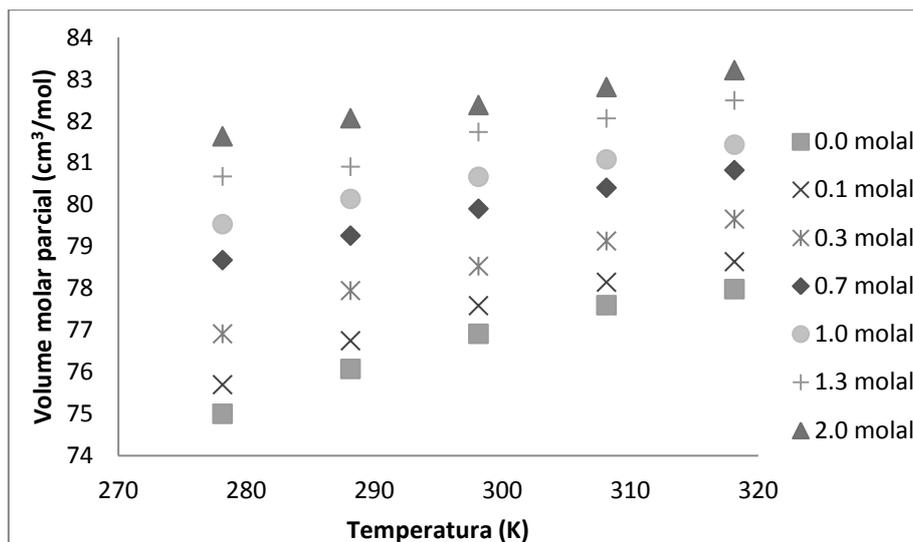


Figura 18 - Variação dos volumes molares parciais (cm^3/mol), em função da temperatura, para a treonina.

Pela análise gráfica das Figuras 17 e 18, verifica-se que tanto para serina como para a treonina a tendência é a mesma, aumentam com o aumento da temperatura.

Pode-se também comparar os volumes molares parciais medidos experimentalmente com os já avaliados por Zhao [30]. Para ambos aminoácidos, para a solução binária (de $\text{H}_2\text{O}+\text{AA}$), ou seja, 0.0 molal de sal, às diferentes temperaturas em estudo. Essa comparação está apresentada na Figura 19.

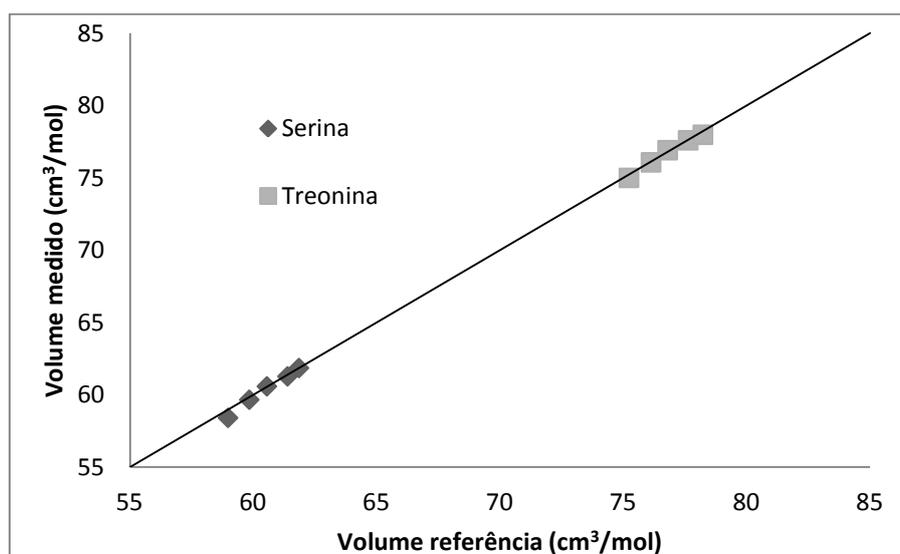


Figura 19 - Comparação dos volumes de referência (cm^3/mol) (Zhao, 2006) com os volumes medidos (cm^3/mol) experimentalmente para a serina e treonina.

Os valores dos volumes molares parciais tirados do Zhao foi uma média dos valores medidos a cada temperatura. É de conhecimento geral que, a linha diagonal representa que os valores do eixo do “Volume medido” são iguais aos valores do eixo “Volume referência”. Deste modo, pela observação do gráfico verifica-se que os valores medidos experimentalmente são muito próximos dos valores de referência. O que se conclui que existe uma boa concordância entre os dois estudos em causa.

5. Análise Teórica

5.1. Introdução

Nesta secção foram apresentados todos os resultados obtidos através das fórmulas anteriormente descritas, para o cálculo dos volumes de transferência, número de hidratação, bem como o efeito da temperatura. Também são mostradas as suas representações gráficas e observações apropriadas.

5.2. Modelo da sobreposição das esferas

Através das relações descritas anteriormente (equação 6) foi possível calcular os volumes de transferência, apresentados na Tabela 7, para cada aminoácido em estudo, às diferentes molalidades de sal e temperaturas.

Comparando os valores da L-serina e L-treonina para os volumes de transferência verifica-se que os valores da L-serina são maiores que os da L-treonina à mesma concentração.

Na Figura 20 e 21 está apresentada a variação dos volumes de transferência em função da molalidade de sal, para ambos os AA's, às diferentes temperaturas em estudo.

Os volumes de transferência aumentam com a molalidade do sal sendo um efeito mais evidente na serina. Relativamente ao efeito da temperatura existe uma manifesta tendência, na sua redução pelo aumento da temperatura que é mais dificilmente verificado no caso de sistemas contendo treonina e se a molalidade do sal for baixa. Claro que essa situação é aceitável atendendo que, independentemente da temperatura, o volume de transferência tende para zero quando a molalidade do sal for baixo.

Tabela 7 - Valor dos volumes de transferência (cm^3/mol) para a serina e treonina, às diferentes molalidades de sal e diferentes temperaturas.

Serina							
T (K)	Molalidade de sal ($\text{mol}/\text{kg H}_2\text{O}$)						
	0.0	0.1	0.3	0.7	1.0	1.3	2.0
278.15	0.00	0.96	2.62	4.44	5.22	6.18	7.25
288.15	0.00	0.81	2.29	3.93	4.45	5.16	6.39
298.15	0.00	0.76	2.06	3.62	4.22	4.62	5.79
308.15	0.00	0.73	1.94	3.43	3.88	4.59	5.49
318.15	0.00	0.60	1.81	3.14	3.64	4.48	5.24

Treonina							
T (K)	Molalidade de sal ($\text{mol}/\text{kg H}_2\text{O}$)						
	0.0	0.1	0.3	0.7	1.0	1.3	2.0
278.15	0.00	0.70	1.91	3.68	4.53	5.67	6.63
288.15	0.00	0.67	1.87	3.19	4.06	4.83	5.99
298.15	0.00	0.67	1.62	2.99	3.75	4.82	5.47
308.15	0.00	0.55	1.53	2.81	3.48	4.47	5.21
318.15	0.00	0.66	1.67	2.84	3.45	4.51	5.23

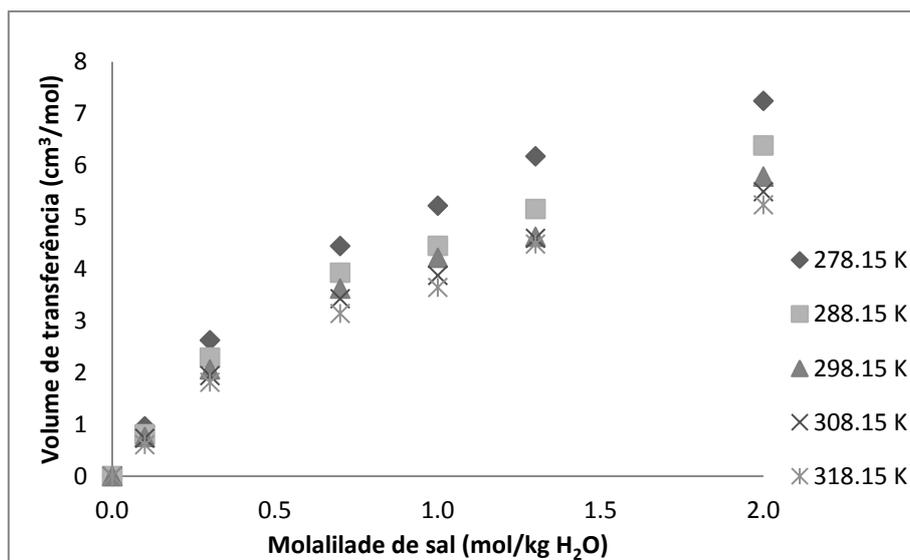


Figura 20 - Variação dos volumes de transferência (cm^3/mol) da serina, em função da molalidade de sal, para as diferentes temperaturas.

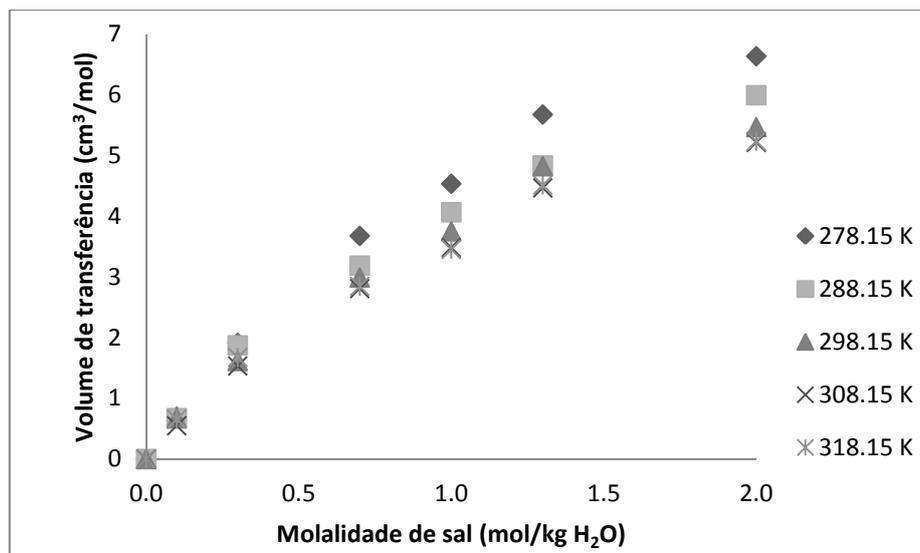


Figura 21 - Variação dos volumes de transferência (cm^3/mol) da treonina, em função da molalidade de sal, para as diferentes temperaturas.

Com os valores dos volumes de transferência, pode-se então calcular os coeficientes de interação do dupletto e tripleto através da equação (5). Estes são retirados pela correlação dos dados anteriores usando uma regressão polinomial de 2º grau com ordenada na origem nula. Os valores dos coeficientes de interação estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Coeficientes de interação do dupletto e tripleto para a serina e treonina às diferentes temperaturas.

T (K)	Serina			Treonina		
	$Z_{AA s}$	$Z_{AA s s}$	r^2	$Z_{AA s}$	$Z_{AA s s}$	r^2
278.15	3.732	-0.651	0.9874	3.094	-0.480	0.9975
288.15	3.158	-0.534	0.9808	2.695	-0.405	0.9936
298.15	2.931	-0.509	0.9811	2.596	-0.409	0.9952
308.15	2.787	-0.481	0.9850	2.385	-0.361	0.9958
318.15	2.609	-0.439	0.9898	2.430	-0.376	0.9903

Como era de prever os valores de $Z_{AA|s}$ são todos positivos e os valores de $Z_{AA|s|s}$ são todos negativos.

Contrariamente ao observado por Banipal et al. [29] relativamente a estudos semelhantes em soluções aquosas contendo cloreto de zinco, os valores de $Z_{AA|S}$ diminuem com o aumento da temperatura e diminuem com o aumento da parte hidrofóbica, enquanto que, $Z_{AA|S|S}$, apesar de sempre negativo aumenta com o aumento da temperatura e com o aumento da parte hidrofóbica. Naturalmente tal fenómeno pode ser interpretado em termos da diferença de interações que surgem pela utilização, neste trabalho, de outros iões bem como os AA's aqui focado incluem um grupo $-OH$, o que no trabalho de Banipal et al. [29] não acontece, pois no seu estudo a parte do grupo substituinte é inteiramente alifática.

Para AA's com cadeia mais longa, ou seja com maior parte alifática, são submetidos a um efeito mais forte de desidratação, na presença do sal. Logo é natural que a treonina tenha valores de coeficientes de interação de dupletos inferiores.

Ao analisar os valores relativos, por exemplo para a serina (3.732 e -0.651) rapidamente se vê que estes não apresentam em absoluto diferenças muito significativas entre eles. Podemos concluir que as interações entre o AA e o sal do tipo dupletos, interações entre $NH_4^+ - COO^-$ e $SO_4^{2-} - NH_3^+$.

5.3. Número de hidratação

Por seguinte, os números de hidratação procedem do cálculo dos volumes de transferência.

Sabendo que o $V_{\emptyset,3}^0(crist)$ é 66.4305 cm³/mol para a serina e 79.4656 cm³/mol para a treonina, através da eq. (8) calcula-se o $V_{\emptyset,3}^0(int)$ obtendo-se 73.3459 cm³/mol para a serina e 87.7381 cm³/mol para a treonina. Posto isto, os valores obtidos para o número de hidratação estão apresentados na Tabela 9.

O número de hidratação dos aminoácidos estudados, vão diminuindo com a presença e com o aumento do sulfato de amónio, em comparação com os valores apenas em água e também diminui com o aumento da temperatura. Estas observações sugerem que as interações envolvendo os iões carregados de aminoácidos são fortes, o que enfraquece o efeito eletrostático dos centros carregados dos aminoácidos e exerce um efeito de desidratação.

Tabela 9 - Número de hidratação para os AA's em estudo, às diferentes temperaturas e molalidades de sal.

Serina							
T (K)	Molalidade de sal (mol/kg H ₂ O)						
	0.0	0.1	0.30	0.7	1.0	1.3	2.0
278.15	5.74	5.37	4.73	4.03	3.73	3.37	2.96
288.15	4.72	4.44	3.93	3.36	3.18	2.94	2.51
298.15	3.86	3.64	3.24	2.77	2.59	2.46	2.11
308.15	3.02	2.83	2.53	2.16	2.05	1.87	1.64
318.15	2.39	2.27	2.02	1.74	1.63	1.46	1.30
Treonina							
T (K)	Molalidade de sal (mol/kg H ₂ O)						
	0.0	0.1	0.3	0.7	1.0	1.3	2.0
278.15	4.90	4.63	4.16	3.48	3.15	2.72	2.35
288.15	4.02	3.79	3.38	2.92	2.62	2.35	1.95
298.15	3.28	3.08	2.79	2.37	2.14	1.82	1.62
308.15	2.53	2.40	2.15	1.83	1.66	1.42	1.23
318.15	2.03	1.90	1.68	1.44	1.31	1.09	0.94

5.4. Efeito da temperatura

Através dos volumes molares parciais já calculados, é possível verificar qual o efeito da temperatura a cada molalidade de sal. Através da eq. (12), usando uma regressão polinomial de 2º grau obtendo-se as constantes a , b e c (Tabela 10). Através dos valores das constantes e das eq. (13) e (14), consegue-se saber quais os valores das derivadas dos volumes, apresentados na Tabela 11.

Tabela 10 - Valores das constantes a , b e c .

Molalidade do sal (molal)	Serina			Treonina		
	a	b	c	a	b	c
0.0	-65.7320	0.7624	-0.00110	-42.9350	0.7292	-0.00110
0.1	-57.4000	0.7195	-0.00110	-32.8210	0.6677	-0.00100
0.3	-24.6310	0.5203	-0.00080	-4.8007	0.4926	-0.00070
0.7	-16.5730	0.4881	-0.00070	33.8960	0.2540	-0.00030
1.0	11.4480	0.3097	-0.00040	27.4030	0.3098	-0.00040
1.3	98.0760	-0.2655	0.00050	60.2390	0.0953	-0.00008
2.0	51.3280	0.0652	-0.00005	74.5030	0.0140	0.00004

Tabela 11 - Valor das derivadas dos volumes molares parciais.

Molalidade do sal (molal)	Serina					
	$\frac{\partial V_{\phi,3}^0}{\partial T} \left(\frac{m^3}{molK} \right)$					
	278.15 K	288.15 K	298.15 K	308.15 K	318.15 K	$\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2} \left(\frac{m^3}{molK^2} \right)$
0.0	0.1505	0.1285	0.1065	0.0845	0.06247	-0.0022
0.1	0.1076	0.0856	0.0636	0.0416	0.01957	-0.0022
0.3	0.0753	0.0593	0.0433	0.0273	0.01126	-0.0016
0.7	0.0987	0.0847	0.0707	0.0567	0.04269	-0.0014
1.0	0.0872	0.0792	0.0712	0.0632	0.05518	-0.0008
1.3	0.0127	0.0226	0.0327	0.0427	0.05265	0.0010
2.0	0.0374	0.0364	0.0354	0.0344	0.03339	-0.0001
Treonina						
0.0	0.1173	0.0953	0.0733	0.0513	0.0293	-0.0022
0.1	0.1114	0.0914	0.0714	0.0514	0.0314	-0.0020
0.3	0.1032	0.0892	0.0752	0.0612	0.0472	-0.0014
0.7	0.0871	0.0811	0.0751	0.0691	0.0631	-0.0006
1.0	0.0873	0.0793	0.0713	0.0633	0.0553	-0.0008
1.3	0.0508	0.0492	0.0476	0.0460	0.0444	-0.0002
2.0	0.0363	0.0371	0.0379	0.0387	0.0395	0.0001

Os valores de $\frac{\partial V_{\phi,3}^0}{\partial T}$ mostram uma diminuição com o aumento da molalidade do sulfato de amônio e com o aumento da temperatura, para ambos os aminoácidos.

Verifica-se também que as derivadas não seguem nenhuma tendência regular, mas são todos positivos. Já os valores de $\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2}$ são a maioria negativos mas tendem para zero e obtendo-se um valor positivo para cada aminoácido.

Concluindo, como os valores de $\frac{\partial V_{\phi,3}^0}{\partial T}$ são todos positivos e os valores de $\frac{\partial^2 V_{\phi,3}^0}{\partial T^2}$ são na maioria negativos, temos um soluto hidrofílico, sabendo que este se associa a um soluto que provoca a ruptura da estruturação da solução.

6. Conclusões

6.1. Conclusões principais

A densidade e velocidade do som foram medidos simultaneamente, e são usadas para calcular os volumes molares parciais e a compressibilidade adiabática, da L-serina e L-treonina em água e em soluções aquosas de sulfato de amónio, a cinco temperaturas diferentes (278.15, 288.15, 298.15, 308.15 e 318.15 K) e diferentes molalidades de sal (0.0, 0.1, 0.3, 0.7, 1.0, 1.3 e 2.0 molal).

Através deste estudo, são nesta tese, apresentados cerca de 280 novos valores de densidade e 280 novos valores de velocidade do som, para cada AA, sendo que um valor é o resultado de pelo menos três medições independentes.

Como as propriedades são medidas em simultâneo, para a compressibilidade adiabática não se obteve resultados viáveis pois são necessárias pelo menos 10 medições a cada amostra de solução, e ainda assim, com desvios padrão muito elevados, não garantindo a consistência desejada.

Para a L-serina os resultados obtidos para os volumes molares parciais são considerados bons, com um r^2 superior a 0.9100 e máximo de 0.9998, mas a 0.7 e 1.3 molal de sal deparamo-nos com uns valores inferiores (entre 0.7613 e 0.8791). Ainda que os valores na ordem de grandeza 0.7 e 1.3 molal, por parecerem de má qualidade deve referir-se que enquanto a representação $\rho = f(m_3)$ são geralmente retas com coeficiente de correlação próximo de 1, a representação $\frac{\rho - \rho_0}{m_3}$, usando exatamente os mesmos valores é geralmente bastante mais fraco, o que é compreensível pois está a efetuar o cálculo de uma indeterminação matemática recorrendo a medições experimentais. Relativamente à L-treonina obteve-se valores de r^2 superiores a 0.9381 até ao máximo de 0.9998.

Ao analisar os volumes molares parciais em função da molalidade do sal, tanto para a L-serina como a L-treonina, tem uma diferença mais significativa a diferentes temperaturas, quando a concentração do sal é baixa (0.0 molal), mas, esta diferença vai diminuindo com o aumento da concentração de sal. Quando a concentração de sal é máxima (2.0 molal) os

volumes molares parciais às diferentes temperaturas tendem para um patamar com valores mais homogêneos entre si. Em suma, os volumes molares parciais aumentam com o aumento da temperatura e simultaneamente com o aumento da molalidade do sal.

Os valores dos volumes de transferência, ΔV_{tr}^0 , são para os dois casos positivos, mas estes aumentam com o aumento da concentração do sulfato de amónio, mas diminuem com o aumento da temperatura. Verificou-se que o aumento dos volumes de transferência é mais evidente na L-serina.

Relativamente aos coeficientes de interação, os valores do $Z_{AA|s}$ são todos positivos e os valores do $Z_{AA|s|s}$ são todos negativos. Contrariamente aos estudos já desenvolvidos anteriormente a outros AA's, neste caso, para a L-serina e L-treonina, os valores de $Z_{AA|s}$ diminuem com o aumento da temperatura, já o $Z_{AA|s|s}$ mesmo que sempre negativo, aumenta com o aumento da temperatura, tendendo para zero. Tal facto, deve ser o resultado de a L-serina e a L-treonina possuírem um grupo -OH, pelo que em todos os outros trabalhos não acontece, dado que o estudo é somente com a parte do grupo substituinte inteiramente alifático. Ao comparar os resultados da L-serina com a L-treonina, verifica-se que são superiores, concluindo que os coeficientes de interação diminuem com o aumento da parte alifática, onde estes são submetidos a efeitos de desidratação maiores, na presença do sulfato de amónio.

Por sua vez, o n_H , diminui com o aumento da temperatura e com o aumento da concentração de sal, o que é aceite devido ao efeito eletrostático dos centros carregados dos AA's o que faz exercer um efeito de desidratação. Como a L-treonina é um AA com cadeia mais longa que a L-serina, este encontra-se menos disponível para as interações com a água, logo sofre uma maior desidratação, obtendo-se valores inferiores de n_H .

Os valores de $\frac{\partial V_{0,3}^0}{\partial T}$ são todos positivos, verificando uma diminuição com o aumento da concentração de sulfato de amónio e com o aumento da temperatura, para a L-serina e a L-treonina, não tendo uma tendência regular no aumento. Para $\frac{\partial^2 V_{0,3}^0}{\partial T^2}$ são a maioria negativos, tendendo para zero. Concluindo, temos um soluto que se associa a um soluto que provoca a rutura da estruturação da solução.

6.2. Sugestões de trabalho futuro

Depois de todo o trabalho realizado apura-se aqui algumas sugestões. Primeiramente aconselha-se aumentar a concentração de sal, para se poder verificar se o valor do volume molar parcial tende para um valor assintótico.

Testar fazer 10 medições da mesma amostra, para se verificar se é possível obter o valor de K_s . Fazer medições consecutivas da velocidade do som de modo a verificar a possibilidade de calcular K_s com rigor, permitindo analisar a consistência com os números de hidratação obtidos pela medição dos volumes.

Em vez de se medir as amostras no carrocel, medir uma a uma, através de injeção por seringa, diretamente para o aparelho para se verificar se obtêm melhorias nos resultados, pois assim soluções seguintes não sofrem evaporação da água.

Por último, tentar testar o mesmo tipo de medições para péptidos, homo ou heteropéptidos, como por exemplo SER-SER, SER-TRE, SER-SER-TRE ou TRE-TRE-TRE.

Referências Bibliográficas

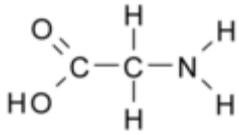
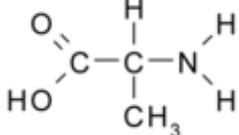
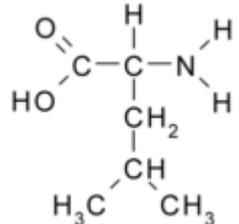
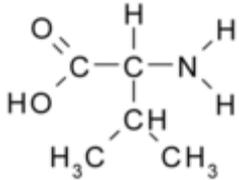
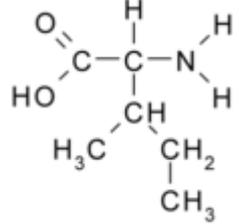
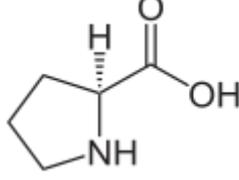
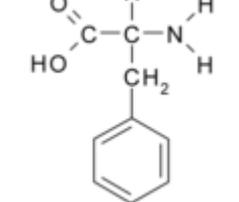
1. Banipal, T; Kaur, D; Banipal, P; Singh, G. (2007) *J. Chemical Thermodynamics* 39, 371-384
2. Yu, H.; Ito, Y. (2004) *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 34, 1-12
3. Cibulka, I; Hnedkovsky, L; Šedlbauer, J (2010) *J. Chemical Thermodynamics* 42, 198-207
4. Drauz. (2007) *Thermodynamics of amino acid solutions*
5. Kirk-Othmer (1999-2011) *Encyclopedia of Chemical Technology*, John Wiley & Sons
6. Ikeda, M. (2003), *Adv. Biochem. Eng. Biotech.* 79:1-35
7. <http://www.ajinomoto.com.br/2008/index.php?area=produtos&sub=treonina> visitado a 7 de Junho de 2012
8. <http://www.br-business.com.br/port/aminoacidos.htm> visitado em 7 de Junho de 2012
9. <http://www.ajinomoto.com.br/2008/index.php?area=produtos&sub=serina> visitado 1 de Março de 2012
10. http://www.explicatorium.com/quimica/Aminoacido_Serina.php visitado 1 de Março 2012
11. <http://pt.wikibooks.org/wiki/Bioqu%C3%ADmica/Amino%C3%A1cidos>
12. http://pt.wikipedia.org/wiki/Amino%C3%A1cido_essencial
13. <http://www.mundoeducacao.com.br/biologia/aminoacidos.htm> visitado em 6 de Julho de 2012
14. <http://www.uff.br/posquim/frmpincipal/producoes/dissertacoes/joannaramos/joannaramos.pdf> visitado a 7 de Junho de 2012
15. <http://pt.wikipedia.org/wiki/Treonina> visitado a 23 de Agosto de 2012
16. “Nos e a química” (2008)

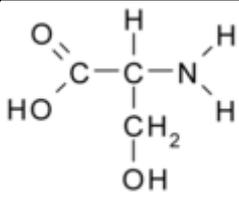
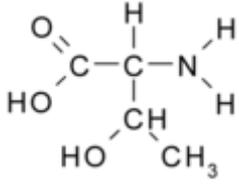
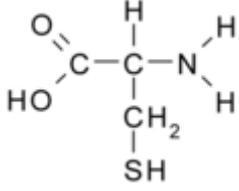
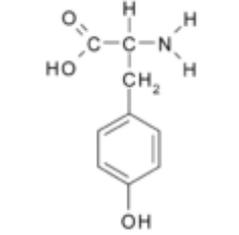
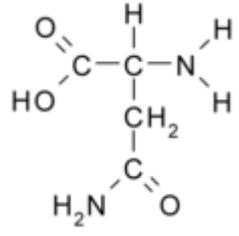
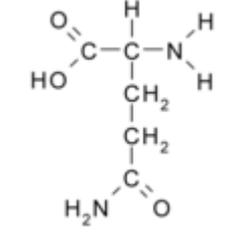
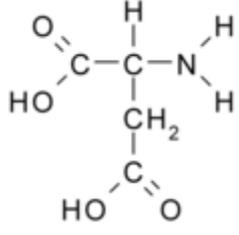
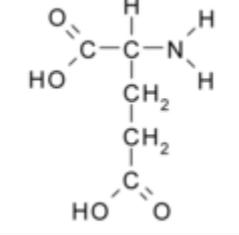
17. http://www.anton-paar.com/Density-and-Sound-Velocity-Meter-DSA-5000-M/Density-Meter/60_Corporate_en?product_id=332#Specifications visitado a 20 de Agosto de 2012
18. Yan, Z; Wang, J; Lu, J. (2004) *Fluid Phase Equilibria* 215, 143-150
19. Romero, C; Negrete, F. (2004) *Physics and Chemistry of Liquids* 42, 261-267
20. Li, S; Sang, W; Lin, R. (2002) *J. Chemical Thermodynamics* 34, 1761-1768
21. Marriott, R; Hakin, A; Liu, J; Lutter, E. (2001) *J. Chemical Thermodynamics* 33, 959-982
22. Wadi, R; Goyal, K. (1992) *J. of Solution Chemistry* 21, 163-170
23. Natarajan, M; Wadi, R; Gaur, H. (1990) *J. Chemical Eng. Data* 35, 87-93
24. Ogawa, T; Mizutani, K; Yasuda, M. (1984) *The Chemical Society of Japan* 57, 2064-2068
25. Yuan, Q; Li, F.Z; Wang, H.B. (2006) *J. Chem. Thermodynamics* 38, 20-33
26. Singh, S; Kishore, N. (2003) *J. of Solution Chemistry* 32, 117-135
27. Shen, J; Li, Z; Wang, B; Zhang, Y. (2000) *J. Chem. Thermodynamics* 32, 805-819
28. Leckband, D; Israelachvili, J. (2001) *Quarterly Reviews of Biophysics* 34, 105-267
29. Banipal, T; Kaur, J; Banipal, P; Singh, K. (2008) *J. Chemical Eng.* 53, 1803-1816
30. Zhao, H. (2006), *Biophysical Chemistry* 122, 157-183
31. Milero, F; Surdo, A; Shin, C. (1978) *The J. of Physical Chemistry* 82, 784-791
32. Berlin, E; Pallansch, M. (1968) *The J. of Physical Chemistry* 72, 1887-1889
33. Hepler, L. (1969) *Canadian Journal Of Chemistry* 47, 4613-4617
34. http://www.chemie.fu-berlin.de/chemistry/bio/aminoacid/serin_en.html visitado a 13 de Agosto de 2012
35. http://www.chemie.fu-berlin.de/chemistry/bio/aminoacid/threonin_en.html visitado a 13-8-12
36. Siddique, J; Naqvi, S. (2010) *J. Chemical Eng.* 55, 2930-2934
37. Riyazuddeen; Khan, I. (2009) *Int. J. Thermophys* 30, 475-489

Anexos

Anexo A – Propriedades dos aminoácidos

Tabela A.1 - Descrição das propriedades dos aminoácidos.

Nome	Símbolo	Essencial ou natural	Polaridade	Acidez ou alcalinidade	Estrutura Química
Glicina (Ácido 2-aminoacético)	Gly (G)	Natural	Apolar	Neutro	
Alanina (Ácido 2-aminopropiónico)	Ala (A)	Natural	Apolar	Neutro	
Leucina (Ácido 2-amino-4-metil-pentanóico)	Leu (L)	Essencial	Apolar	Neutro	
Valina (ácido 2-amino-3-metil-butanóico)	Val (V)	Essencial	Apolar	Neutro	
Isoleucina (Ácido 2-amino-3-metil-pentanóico)	Ile (I)	Essencial	Apolar	Neutro	
Prolina (Ácido pirrolidino-2-carboxílico)	Pro (P)	Natural	Apolar	Neutro	
Fenilalanina (Ácido 2-amino-3-fenil-propanóico)	Phe (F)	Essencial	Apolar	Neutro	

Serina (Ácido 2-amino-3-hidroxi-propiónico)	Ser (S)	Natural	Polar	Neutro	
Treonina (Ácido 2-amino-3-hidroxi-n-butírico)	Thr (T)	Essencial	Polar	Neutro	
Cisteína (Ácido 3-tiol-2-amino-propanóico)	Cys (C)	Natural	Polar	Ácido	
Tirosina (Ácido 2-amino-3-(p-hidroxifenil) propiónico)	Tyr (Y)	Natural	Polar	Neutro	
Asparagina (Ácido 2-aminossuccinâmico)	Asn (N)	Natural	Polar	Neutro	
Glutamina (Ácido 2-aminoglutarâmico)	Gln (Q)	Natural	Polar	Neutro	
Ácido aspártico (Ácido 2-amino-butanodióico)	Asp (D)	Natural	Polar	Ácido	
Ácido glutâmico (Ácido 2-aminoglutárico)	Glu (E)	Natural	Polar	Ácido	

Arginina (Ácido 2-amino-4-guanidina-n-valérico)	Arg (R)	Essencial	Polar	Base forte	
Lisina (Ácido 2,6-diaminoexanóico)	Lys (K)	Essencial	Polar	Básico	
Histidina (Ácido 2-amino-3-imidazolpropiónico)	His (H)	Essencial	Polar	Base fraca	
Triptofano (Ácido 2-amino-3-indolpropiónico)	Trp (W)	Essencial	Apolar	Neutro	
Metionina (Ácido 2-amino-3-metiltio-n-butírico)	Met (M)	Essencial	Apolar	Neutro	

Anexo B – Dedução da fórmula do volume molar parcial.

Sendo, 1 \equiv água, 2 \equiv sal e 3 \equiv AA e pela definição,

$$V_{\emptyset,3}^0 = \frac{V - V_{bin}}{n_3} \quad (B.1)$$

onde, $V_{\emptyset,3}^0$ é o volume molar parcial do AA, V é o volume do sistema ternário, V_{bin} é o volume do solvente (água + sal) e n_3 é o número de moles de AA.

Considerando w_i a massa da espécie i ,

$$w_{ternário} = w_1 + w_2 + w_3$$

Pela definição de molalidade, m_i :

$$m_i = \frac{n_i}{w_i} = \frac{w_i}{M_i w_1} \leftrightarrow w_i = m_i M_i w_1$$

onde, M_i é a massa molar da espécie i .

Então para o sistema ternário,

$$w_{ternário} = w_1 + m_2 M_2 w_1 + m_3 M_3 w_1$$

Sabemos ainda que, $V = \frac{w}{\rho}$, substituindo em (1):

$$V_{\emptyset,3}^0 = \frac{\left(\frac{w}{\rho}\right)_{ternário} - \left(\frac{w}{\rho}\right)_{binário}}{n_3} = \frac{w_1(1 + m_2 M_2 + m_3 M_3)}{\rho} - \frac{w_1(1 + m_2 M_2)}{\rho_0}$$

onde, ρ é a densidade da mistura (binária ou ternária) e ρ_0 a do solvente (água ou água + sal).

Dividindo tudo por w_1 :

$$\begin{aligned}
V_{\phi,3}^0 &= \frac{\frac{1 + m_2 M_2 + m_3 M_3}{\rho} - \frac{1 + m_2 M_2}{\rho_0}}{m_3} = \frac{\rho_0 + \rho_0 m_2 M_2 + \rho_0 m_3 M_3 - \rho - \rho m_2 M_2}{\rho \rho_0 m_3} = \\
&= \frac{\rho_0 - \rho + m_2 M_2 (\rho_0 - \rho) + \rho_0 m_3 M_3}{\rho \rho_0 m_3} = \frac{-(\rho - \rho_0)(1 + m_2 M_2) + \rho_0 m_3 M_3}{\rho \rho_0 m_3}
\end{aligned}$$

Para o cálculo dos volumes molares parcial para as soluções que contem água + AA + sal, para molalidades de sal superiores a 0 ($m_2 = 0.1, 0.3, 0.7, 1.0, 1.3$ e 2.0 molal) utiliza-se a seguinte relação:

$$V_{\phi,3}^0 = \frac{M_3}{\rho} - (1 + m_2 M_2) \frac{(\rho - \rho_0)}{\rho \rho_0 m_3} \quad (\text{B.2})$$

Para o cálculo dos volumes molares parciais para a solução que contem água + AA, para molalidades de sal iguais a 0 ($m_2 = 0.0$ molal), o parâmetro $(1 + m_2 M_2) = 0$, usa-se:

$$V_{\phi,3}^0 = \frac{M_3}{\rho} - \frac{(\rho - \rho_0)}{\rho \rho_0 m_3} \quad (\text{B.3})$$

Uma fórmula semelhante é:

$$V_{\phi,3}^0 = \frac{M_3}{\rho} - \frac{\rho - \rho_0}{\rho \rho_0 m_3^*} \quad (\text{B.4})$$

Nos artigos com frequência não é imediato verificar se a molalidade m_3^* está escrita por kg de água (como desenvolvido no presente trabalho) ou por kg de solvente.

Anexo C – Valores das densidades.

Tabela C.1 - Valores das densidades (kg/m^3) às diferentes temperaturas e diferentes molalidades de sal para a serina e treonina.

m_3 (mol/kg)	T(K)									
	278.15		288.15		298.15		308.15		318.15	
	Serina	Treonina								
$m_2=0.0$ (mol/kg)										
0.00	999.979	999.987	999.102	999.112	997.047	997.052	994.036	994.035	990.215	990.154
0.05	1002.301	1002.178	1001.364	1001.255	999.266	999.157	996.223	996.112	992.376	992.282
0.10	1004.603	1004.322	1003.601	1003.340	1001.456	1001.205	998.383	998.132	994.516	994.283
0.15	1007.017	1006.522	1005.834	1005.480	1003.645	1003.306	1000.541	1000.207	996.652	996.338
0.20	1009.160	1008.656	1008.032	1007.563	1005.801	1005.347	1002.670	1002.220	998.760	998.335
0.30	1013.628	1012.860	1012.380	1011.662	1010.066	1009.374	1006.878	1006.195	1002.931	1002.270
0.40	1018.006	1016.977	1016.650	1015.679	1014.254	1013.318	1011.009	1010.089	1007.026	1006.130
0.50	1022.303	1021.043	1020.838	1019.640	1018.368	1017.206	1015.071	1013.919	1011.055	1009.924
$m_2=0.1$ (mol/kg)										
0.00	1008.170	1008.187	1007.053	1007.068	1004.840	1004.850	1001.743	1001.741	997.880	998.388
0.05	1010.413	1010.287	1009.237	1009.122	1006.987	1006.870	1003.859	1003.741	999.979	999.872
0.10	1012.637	1012.404	1011.406	1011.185	1009.115	1008.893	1005.963	1005.741	1002.058	1001.845
0.15	1014.839	1014.244	1013.550	1012.986	1011.218	1010.660	1008.037	1007.485	1004.119	1003.574
0.20	1017.017	1016.537	1015.674	1015.222	1013.304	1012.859	1010.093	1009.659	1006.161	1005.721
0.30	1021.335	1020.608	1019.881	1019.188	1017.438	1016.757	1014.175	1013.506	1010.206	1009.534
0.40	1025.566	1024.571	1024.010	1023.079	1021.493	1020.575	1018.185	1017.275	1014.183	1013.273
0.50	1029.734	1028.464	1028.084	1026.884	1025.496	1024.320	1022.134	1020.985	1018.108	1016.949
$m_2=0.3$ (mol/kg)										
0.00	1023.506	1023.484	1021.983	1021.966	1019.501	1019.470	1016.237	1016.214	1012.302	1012.265
0.05	1025.588	1025.455	1024.021	1023.889	1021.510	1021.375	1018.221	1018.096	1014.268	1014.129
0.10	1027.689	1027.416	1026.075	1025.808	1023.527	1023.267	1020.215	1019.963	1016.244	1015.979
0.15	1029.762	1029.361	1028.104	1027.715	1025.516	1025.145	1022.184	1021.819	1018.198	1017.820
0.20	1031.732	1031.288	1030.028	1029.599	1027.414	1026.992	1024.056	1023.652	1020.051	1019.635
0.30	1035.802	1035.076	1034.013	1033.310	1031.326	1030.647	1027.923	1027.268	1023.893	1023.212
0.40	1039.793	1038.806	1037.916	1036.960	1035.172	1034.241	1031.724	1030.821	1027.656	1026.742
0.50	1043.488	1042.458	1041.531	1040.544	1038.731	1037.769	1035.246	1034.314	1031.149	1030.208
$m_2=0.7$ (mol/kg)										
0.00	1051.322	1051.345	1049.192	1049.198	1046.301	1046.314	1042.801	1042.831	1038.736	1038.738
0.05	1053.145	1053.087	1050.980	1050.920	1048.071	1048.007	1044.542	1044.497	1040.472	1040.402
0.10	1055.057	1054.821	1052.858	1052.617	1049.915	1049.686	1046.373	1046.172	1042.294	1042.053
0.15	1056.912	1056.535	1054.685	1054.305	1051.709	1051.352	1048.153	1047.815	1044.053	1043.691
0.20	1058.688	1058.232	1056.417	1055.964	1053.427	1052.996	1049.854	1049.442	1045.743	1045.308
0.30	1062.468	1061.583	1060.132	1059.264	1057.080	1056.246	1053.474	1052.669	1049.339	1048.505
0.40	1065.993	1064.869	1063.609	1062.506	1060.516	1059.452	1056.867	1055.840	1052.709	1051.651
0.50	1069.526	1068.113	1067.064	1065.688	1063.932	1062.597	1060.242	1058.954	1056.065	1054.745

m₂=1.0 (mol/kg)										
0.00	1070.069	1070.315	1067.600	1067.838	1064.505	1064.742	1060.865	1061.103	1056.721	1056.960
0.05	1071.790	1071.907	1069.295	1069.404	1066.173	1066.291	1062.519	1062.639	1058.367	1058.488
0.10	1073.549	1073.497	1071.027	1070.971	1067.874	1067.838	1064.211	1064.174	1060.044	1060.017
0.15	1075.260	1075.073	1072.725	1072.527	1069.547	1069.373	1065.869	1065.699	1061.685	1061.530
0.20	1076.947	1076.640	1074.409	1074.066	1071.207	1070.900	1067.509	1067.208	1063.339	1063.028
0.30	1080.372	1079.703	1077.750	1077.095	1074.494	1073.889	1070.768	1070.177	1066.555	1065.978
0.40	1083.687	1082.709	1080.997	1080.057	1077.711	1076.824	1073.959	1073.085	1069.733	1068.868
0.50	1086.977	1085.689	1084.233	1082.997	1080.917	1079.735	1077.133	1075.969	1072.879	1071.735
m₂=1.3 (mol/kg)										
0.00	1087.862	1087.952	1085.123	1085.181	1081.846	1081.906	1078.110	1078.167	1113.773	1074.031
0.05	1089.404	1089.335	1086.649	1086.578	1083.364	1083.284	1079.608	1079.535	1075.418	1075.352
0.10	1091.123	1090.827	1088.333	1088.055	1085.035	1084.743	1081.267	1080.984	1077.073	1076.790
0.15	1092.785	1092.270	1089.974	1089.478	1086.657	1086.155	1082.874	1082.384	1078.663	1078.186
0.20	1094.252	1093.696	1091.417	1090.898	1088.082	1087.557	1084.285	1083.764	1080.071	1079.557
0.30	1097.410	1096.514	1094.537	1093.668	1091.160	1090.303	1087.342	1086.497	1083.103	1082.281
0.40	1100.525	1099.282	1097.614	1096.409	1094.191	1093.015	1090.358	1089.193	1086.113	1084.956
0.50	1103.102	1102.006	1100.145	1099.103	1096.709	1095.683	1092.843	1091.837	1088.584	1087.585
m₂=2.0 (mol/kg)										
0.00	1124.358	1124.479	1121.196	1121.309	1117.640	1117.754	1113.773	1113.879	1109.547	1109.663
0.05	1125.681	1125.673	1122.505	1122.495	1118.947	1118.938	1115.063	1115.046	1110.825	1110.834
0.10	1127.091	1126.910	1123.903	1123.721	1120.326	1120.127	1116.435	1116.229	1112.205	1112.021
0.15	1128.491	1128.093	1125.288	1124.884	1121.700	1121.302	1117.798	1117.401	1113.549	1113.184
0.20	1129.812	1129.239	1126.592	1126.028	1122.993	1122.439	1119.079	1118.532	1114.823	1114.302
0.30	1132.468	1131.568	1129.212	1128.336	1125.591	1124.732	1121.659	1120.810	1117.402	1116.558
0.40	1135.095	1133.868	1131.820	1130.619	1128.172	1126.995	1124.223	1123.068	1119.961	1118.802
0.50	1137.704	1136.139	1134.399	1132.879	1130.724	1129.227	1126.763	1125.288	1122.480	1121.016

Tabela C.2 - Valores do a_v e r^2 para os AA's às diferentes temperaturas e molalidades de sal.

Serina										
T(K)	278.15 K		288.15 K		298.15 K		308.15 K		318.15 K	
m₂	a_v	r²								
0.0	46.677	0.9987	45.436	0.9992	44.545	0.9984	43.911	0.9986	43.409	0.9990
0.1	45.005	0.9998	43.920	0.9944	43.086	0.9972	42.484	0.9989	42.113	0.9981
0.3	41.956	0.9167	41.062	0.9100	40.418	0.9288	39.922	0.9187	39.569	0.9153
0.7	37.536	0.7888	36.845	0.7613	36.300	0.7824	35.902	0.7658	35.725	0.7838
1.0	34.966	0.9648	34.552	0.9946	33.943	0.9957	33.702	0.9981	33.483	0.9884
1.3	32.330	0.8676	32.176	0.8516	31.887	0.8791	31.347	0.8646	31.020	0.8619
2.0	27.804	0.9516	27.519	0.9366	27.319	0.9432	27.061	0.9331	26.892	0.9359
Treonina										
m₂	a_v	r²								
0.0	44.117	0.9954	43.072	0.9996	42.304	0.9995	41.731	0.9998	41.488	0.9959
0.1	42.582	0.9992	41.573	0.9994	40.814	0.9998	40.372	0.9993	40.029	0.9979
0.3	39.769	0.9785	38.787	0.9972	38.300	0.9982	37.830	0.9991	37.471	0.9979
0.7	35.030	0.9978	34.532	0.9923	34.011	0.9989	33.664	0.9970	33.429	0.9993
1.0	32.133	0.9948	31.636	0.9947	31.249	0.9941	31.004	0.9952	30.849	0.9978
1.3	29.103	0.9956	29.001	0.9949	28.330	0.9907	28.190	0.9976	27.970	0.9910
2.0	24.298	0.9381	24.030	0.9524	23.900	0.9744	23.676	0.9739	23.502	0.9855

Anexo D – Valores das velocidades do som.

Tabela D.1 - Valores da velocidade do som às diferentes temperaturas e diferentes molalidades de sal para a serina e treonina.

m_3 (mol/kg)	T(K)									
	278.15		288.15		298.15		308.15		318.15	
	Serina	Treonina								
$m_2=0.0$ (mol/kg)										
0.00	1426.45	1426.45	1466.22	1466.28	1497.01	1497.21	1520.29	1520.37	1537.20	1537.53
0.05	1430.00	1430.96	1469.53	1470.50	1500.11	1501.09	1523.42	1524.16	1539.75	1540.34
0.10	1433.53	1435.38	1472.80	1474.56	1503.18	1504.85	1526.31	1527.65	1542.66	1543.64
0.15	1437.23	1439.94	1476.08	1478.70	1506.24	1508.74	1529.22	1531.26	1545.42	1547.02
0.20	1440.57	1444.38	1479.30	1482.78	1509.27	1512.51	1532.14	1534.79	1548.18	1550.31
0.30	1447.45	1453.12	1485.70	1490.81	1515.27	1519.94	1537.57	1541.73	1553.55	1556.79
0.40	1454.20	1461.72	1491.99	1498.71	1521.17	1527.24	1543.08	1548.55	1559.08	1563.18
0.50	1460.84	1470.33	1498.18	1506.55	1526.96	1534.43	1548.57	1555.30	1564.35	1569.49
$m_2=0.1$ (mol/kg)										
0.00	1440.20	1440.21	1479.27	1479.32	1509.44	1509.65	1532.24	1532.30	1548.84	1549.91
0.05	1443.57	1444.56	1482.39	1483.29	1512.40	1513.34	1535.02	1535.82	1551.45	1551.94
0.10	1446.94	1448.94	1485.53	1487.31	1515.31	1517.02	1537.80	1539.28	1554.00	1556.35
0.15	1450.28	1452.76	1488.62	1490.82	1518.21	1520.29	1540.54	1542.31	1556.61	1558.01
0.20	1453.59	1457.53	1491.69	1495.19	1521.10	1524.33	1543.27	1545.92	1559.21	1561.65
0.30	1460.19	1466.05	1497.81	1502.99	1526.84	1531.53	1548.69	1552.60	1564.30	1567.98
0.40	1466.73	1474.41	1503.87	1510.68	1532.51	1538.63	1554.06	1559.20	1569.50	1574.23
0.50	1473.20	1482.64	1509.89	1518.22	1538.16	1545.62	1559.39	1565.75	1574.58	1580.39
$m_2=0.3$ (mol/kg)										
0.00	1465.81	1465.68	1503.48	1503.33	1532.47	1532.64	1554.21	1554.05	1569.90	1569.79
0.05	1468.97	1469.84	1506.39	1507.15	1535.21	1536.17	1556.82	1557.32	1572.37	1572.71
0.10	1472.17	1473.96	1509.37	1510.93	1538.00	1539.66	1559.45	1560.58	1574.86	1575.76
0.15	1475.35	1478.08	1512.31	1514.70	1540.75	1543.14	1562.04	1563.81	1577.35	1578.81
0.20	1478.36	1482.16	1515.09	1518.43	1543.36	1546.59	1564.50	1567.02	1579.68	1581.83
0.30	1484.65	1490.23	1520.93	1525.82	1548.82	1553.43	1569.65	1573.38	1584.60	1587.81
0.40	1490.87	1498.22	1526.69	1533.13	1554.22	1560.19	1574.73	1579.67	1589.45	1593.71
0.50	1496.66	1506.11	1532.07	1540.36	1559.23	1566.87	1579.49	1585.90	1593.95	1599.52
$m_2=0.7$ (mol/kg)										
0.00	1513.89	1513.82	1548.54	1548.43	1575.08	1575.33	1594.92	1594.87	1609.08	1609.13
0.05	1516.74	1517.64	1551.16	1551.90	1577.56	1578.57	1597.23	1597.82	1611.37	1611.89
0.10	1519.77	1521.46	1553.99	1555.41	1580.16	1581.79	1599.71	1600.83	1613.71	1614.69
0.15	1522.73	1525.24	1556.70	1558.89	1582.71	1584.99	1602.11	1603.80	1615.97	1617.48
0.20	1525.57	1528.99	1559.31	1562.30	1585.14	1588.16	1604.42	1606.74	1618.14	1620.24
0.30	1531.64	1536.44	1564.95	1569.13	1590.38	1594.46	1609.35	1612.60	1622.82	1625.73
0.40	1537.37	1543.79	1570.23	1575.88	1595.33	1600.69	1613.99	1618.40	1627.27	1631.17
0.50	1543.14	1551.10	1575.53	1582.55	1600.30	1606.84	1618.66	1624.12	1631.69	1636.53

m₂=1.0 (mol/kg)										
0.00	1547.83	1548.30	1580.12	1580.54	1604.87	1605.25	1623.34	1623.84	1636.33	1637.18
0.05	1550.61	1551.88	1582.71	1583.82	1607.28	1608.29	1625.60	1626.52	1638.46	1639.84
0.10	1553.47	1555.46	1585.36	1587.12	1609.76	1611.33	1627.66	1629.36	1640.67	1641.99
0.15	1556.27	1559.04	1587.97	1590.40	1612.19	1614.36	1630.22	1632.19	1642.81	1644.62
0.20	1559.04	1562.60	1590.57	1593.66	1614.62	1617.38	1632.49	1634.97	1644.98	1647.27
0.30	1564.74	1569.61	1595.76	1600.08	1619.44	1623.32	1637.02	1640.23	1649.25	1652.46
0.40	1570.26	1576.51	1600.82	1606.41	1624.19	1629.18	1641.48	1645.94	1653.53	1657.58
0.50	1575.78	1583.40	1605.92	1612.72	1628.95	1635.01	1645.97	1651.38	1657.78	1662.67
m₂=1.3 (mol/kg)										
0.00	1581.29	1581.70	1611.24	1611.70	1634.15	1634.39	1078.11	1651.52	1663.32	1663.80
0.05	1583.85	1584.95	1613.61	1614.73	1636.39	1637.16	1653.32	1654.09	1665.19	1666.00
0.10	1586.77	1588.41	1616.28	1617.91	1638.88	1640.10	1655.69	1656.82	1667.44	1668.54
0.15	1589.58	1591.76	1618.89	1620.99	1641.31	1642.96	1657.98	1659.47	1669.60	1671.02
0.20	1592.04	1595.09	1621.15	1624.07	1643.41	1645.80	1659.94	1662.10	1671.50	1673.47
0.30	1597.39	1601.68	1626.11	1630.10	1648.04	1651.39	1664.30	1667.32	1675.66	1678.34
0.40	1602.71	1608.20	1631.03	1636.10	1652.61	1656.93	1668.64	1672.50	1679.77	1683.15
0.50	1607.14	1614.64	1635.11	1642.01	1656.44	1662.42	1672.23	1677.59	1683.17	1687.89
m₂=2.0 (mol/kg)										
0.00	1653.38	1653.90	1678.17	1678.78	1697.13	1697.51	1113.77	1711.60	1720.94	1721.33
0.05	1655.67	1656.79	1680.28	1681.45	1699.13	1699.98	1713.07	1713.90	1722.70	1723.40
0.10	1658.16	1659.78	1682.59	1684.19	1701.28	1702.46	1715.09	1716.24	1724.64	1725.61
0.15	1660.63	1662.61	1684.88	1686.80	1703.41	1704.93	1717.11	1718.54	1726.55	1727.76
0.20	1662.94	1665.37	1687.02	1689.39	1705.41	1707.32	1718.99	1720.78	1728.38	1729.85
0.30	1667.61	1671.02	1691.34	1694.59	1709.46	1712.16	1722.80	1725.29	1732.01	1734.05
0.40	1672.25	1676.57	1695.66	1699.74	1713.50	1716.95	1726.61	1729.76	1735.65	1738.61
0.50	1676.88	1682.09	1699.94	1704.88	1717.50	1721.68	1730.39	1734.18	1739.26	1742.76

Tabela D.2 - Valores do a_k e r^2 para os AA's às diferentes temperaturas e molalidades de sal.

Serina										
T(K)	278.15 K		288.15 K		298.15 K		308.15 K		318.15 K	
m₂	a_v	r²								
0.0	0.3957	0.2006	0.3897	0.9598	0.3844	0.9838	0.3878	0.8478	0.3632	0.3219
0.1	0.3762	0.0314	0.3722	0.5130	0.3682	0.7926	0.3629	0.9558	0.3539	0.0069
0.3	0.3521	0.1017	0.3484	0.0472	0.3451	0.0223	0.3408	0.1701	0.3340	0.0411
0.7	0.3169	0.4786	0.3135	0.3998	0.3119	0.3347	0.3063	0.2916	0.3041	0.1289
1.0	0.3015	0.5185	0.3006	0.1185	0.2959	0.1566	0.2883	0.2969	0.2856	0.1470
1.3	0.2856	0.0030	0.2828	0.0070	0.2812	0.0512	0.2759	0.0235	0.0266	0.0139
2.0	0.2480	0.0296	0.2437	0.1032	0.2422	0.0473	0.2390	0.0276	0.2333	0.1194
Treonina										
m₂	a_v	r²								
0.0	0.4383	0.0028	0.4319	0.8600	0.4212	0.9902	0.4169	0.8004	0.3736	0.5135
0.1	0.4229	0.0014	0.4126	0.0000	0.4028	0.3303	0.3968	0.8428	0.3902	0.0855
0.3	0.3993	0.3494	0.3907	0.9288	0.3820	0.9297	0.3710	0.9701	0.3543	0.3152
0.7	0.3615	0.6271	0.3533	0.5692	0.3468	0.7163	0.3335	0.0163	0.3243	0.1923
1.0	0.3359	0.0617	0.3290	0.1798	0.3468	0.7163	0.3065	0.2304	0.2958	0.0338
1.3	0.3055	0.2789	0.3037	0.0739	0.2971	0.0289	0.2866	0.1461	0.2664	0.4264
2.0	0.2657	0.3900	0.2611	0.4257	0.2547	0.7860	0.2480	0.4761	0.2374	0.2230