

DENSIDADES DE GLUTAMATO DE SÓDIO E DE LISOZIMA DA CLARA DO OVO DA GALINHA EM SOLUÇÕES AQUOSAS DE FOSFATO DE SÓDIO

**DENSITIES OF SODIUM GLUTAMATE AND HEN EGG WHITE LYSOZYME IN
AQUEOUS SODIUM PHOSPHATE SOLUTIONS**

Ciências Exatas e da Terra, Ciências Biológicas, Engenharias •

18/08/2026

REGISTRO DOI: [10.70773/revistatopicos/786443674](https://doi.org/10.70773/revistatopicos/786443674)

Márcia Nassoma Camunda Justino

RESUMO

A massa volúmica de soluções aquosas de sais em função da temperatura é uma propriedade cujo estudo pode dar resposta e contribuir para a compreensão dos fenómenos físicos e químicos que ocorrem nestas soluções, determinar propriedades termodinâmicas, das quais o volume molar aparente é essencial para aplicações nas áreas de engenharia e biomedicina.

O presente trabalho teve como principal objetivo determinar as massas volúmicas de soluções aquosas do glutamato de sódio (GMS) e da lisozima da clara do ovo da galinha (LCOG) no tampão (soluções aquosas de 10 mM de fosfato de sódio) a pH igual a 7.2 e domínios de temperatura de 298.15 K a 353.15 K, através da técnica de densitometria de tubo vibrante (Anton Paar DMA 512P). Igualmente determinou-se as propriedades termodinâmicas derivadas da massa volúmica, nomeadamente, os volumes molares aparentes (V_φ) das referidas soluções.

Foram realizados 8 (oito) ensaios para as soluções aquosas de GMS com as seguintes molalidades: 0.2546, 0.5219, 1.1006, 1.7477 e 2.4761 mol.kg⁻¹. Os valores de massa volumica ajustaram-se a uma equação polinomial para todos os ensaios, os desvios relativos entre os valores calculados pela equação polinomial e os experimentais situam-se na região definida pelo valor de AARD = 0.15%. Fazendo uma comparação dos valores de massa volúmicas deste trabalho e as medidas por Suzuki et al. para a temperatura de 298.15 K, obteve-se um resultado excelente, sendo que os desvios mínimo e máximo são de -0.06% (-0.6722 kg.m⁻³) e 0.32% (3.7077 kg.m⁻³) no intervalo de molalidade, 0.54 mol.kg⁻¹ < m < 3.84 mol.kg⁻¹. Os valores de V_φ para o GMS no tampão foram determinados permitindo verificar que abaixo de 303.15 K aumenta com a m e a superiores de 303.15 K diminui acentuadamente, já os valores de volume molar aparente a diluição infinita (V_φ^0) do GMS foram determinados para esclarecer as

interações iônicas existentes entre soluto-solvente.

As soluções aquosas de LCOG utilizadas para ensaio estavam compreendidas com as seguintes modalidades 1.587×10^{-4} , 3.260×10^{-4} e $5.876 \times 10^{-4} \text{ mol.kg}^{-1}$. Para todos os ensaios obteve-se uma boa concordância dos valores de massa volúmica com os desvios relativos maioritariamente dentro da região definida pelo valor de $AARD = 0.05\%$, correspondente a variações de aproximadamente 1 kg.m^{-3} a 2 kg.m^{-3} no intervalo de temperaturas de 298.15 K à 313.15 K. Os V_ϕ para a LCOG no tampão foram determinados permitindo traçar curvas sigmoidais em função da temperatura, cujas derivadas (dV_ϕ/dT) permitem observar a temperatura de desnaturação da lisozima em tampão de fosfato de sódio.

Palavras-chave: Massa volúmica; Temperatura; Lisozima da clara do ovo da galinha; Glutamato de sódio; Volume molar aparente; Fosfato de sódio; Desnaturação.

ABSTRACT

The density of aqueous solutions of salts as a function of temperature is a property whose study can provide answers and contribute to the understanding of physical and chemical phenomena that occur in these solutions, determine thermodynamic properties, of which the apparent molar volume, and essential for applications in engineering and biomedicine.

The main objective of the present work was to determine the densities of aqueous solutions of sodium glutamate (MSG) and lysozyme chicken egg white (LCEW) in buffer (aqueous solutions of 10 mM sodium phosphate) at pH equal to 7.2 and temperature interval from 298.15 K to 353.15 K, applying the vibrating tube densitometry technique (Anton Paar DMA 512P). Furthermore, the thermodynamic properties derived from the density were determined, namely, the apparent molar volumes (V_ϕ) of the

referred solutions.

Eight (8) tests were performed for the aqueous solutions of GMS with the following molalities: 0.2546, 0.5219, 1.1006, 1.7477 and 2.4761 mol.kg⁻¹. The density values fitted a polynomial equation for all the tests, the relative deviations between the values calculated by the polynomial equation and the experimental ones are in the region defined by the value of AARD = 0.15%. Comparing the density values of this work and the measurements by Suzuki et al. for the temperature of 298.15 K, it is concluded that an excellent result was obtained, with the minimum and maximum deviations being -0.06% (-0.6722 kg.m⁻³) and 0.32% (3.7077 kg.m⁻³) in the molality range of 0.54 mol.kg⁻¹ < m < 3.84 mol.kg⁻¹. The values of V_ϕ for MSG in the buffer solution were determined, allowing to verify that below 303.15 K it increases with m, and above 303.15 K it decreases considerably, since the values of apparent molar volume at infinite dilution (V_ϕ^0) of MSG were determined to clarify the existing solute-solvent ionic interactions.

The aqueous solutions of LCEW used for testing were comprised of the following modalities: 1.587x10⁻⁴, 3.260x10⁻⁴ e 5.876x10⁻⁴ mol.kg⁻¹. For all the tests, a good agreement was obtained between the density values and the relative deviations, mostly within the region defined by the AARD value = 0.05%, corresponding to variations of approximately 1 kg.m⁻³ to 2 kg.m⁻³ in the temperature range from 298.15 K to 313.15 K. The V_ϕ for the LCEW in the buffer were determined, allowing the plotting of sigmoidal curves as a function of temperature, whose derivatives (dV_ϕ/dT) allow the observation of the denaturation temperature of lysozyme in the buffer phosphate sodium.

Keywords: Density; Temperature; Hen egg-white lysozyme; Sodium glutamate; Apparent molar volume; Sodium phosphate; Denaturation.

1. INTRODUÇÃO

1.1. ÂMBITO E MOTIVAÇÃO

Os densímetros de tubo vibrante são aparelhos de elevada sofisticação técnica, atualmente considerados como padrão na medida de massa volúmica de líquidos puros e de misturas de líquidos e soluções de sais. As medidas de massa volúmica de sais em soluções aquosas em função da temperatura efetuados com estes aparelhos permitem obter informações relevantes para a compreensão das interações das espécies iónicas entre si e destas com a água.

O glutamato de sódio(GMS) é um aditivo alimentar que tem levantado muitas discussões sobre a sua utilização no que se refere ao seu impacto na saúde humana que se manifesta ao nível de doenças neurodegenerativas, que por sua vez estão relacionadas com agregação das proteínas(Ahanger, Bashir, et al. 2021). Sendo o GMS referenciado como um causador de agregação de proteínas é importante estudar as condições de temperatura e concentração em que este fenómeno pode ocorrer. Os estudos de massa volúmica são ainda muito raros na literatura e podem contribuir para o esclarecimento dos fenómenos físicos que controlam problemas como desnaturação e agregação das proteínas.

A lisozima da clara do ovo da galinha (LCOG) é uma proteína barata e que por isso tem sido bastante utilizada em estudos de simulação da estabilidade e agregação de proteínas. Deste modo faz todo o sentido utilizar a LCOG e o GMS para obter dados volumétricos com densitometria de tubo vibrante que possam contribuir para explicar a problemática da estabilidade das proteínas bem como da sua

possível agregação. Há ainda a acrescentar que existe uma carência de valores de massa volúmicas em função da temperatura para as soluções de GMS, existindo um único estudo à 298 K (25°C) (Suzuki et al. 2001). Por outro lado, a presença de sais como o GMS deverá influenciar a desnaturação ou agregação da LCOG. Após uma pesquisa bibliográfica cuidada não foi encontrado nenhum estudo sobre a influência de soluções de GMS na estabilidade e agregação da LCOG.

1.2. OBJECTIVOS

1.2.1. Objetivos gerais

A avaliação das interações iónicas soluto-solvente do GMS em solução tampão (soluções aquosas de fosfato de sódio com pH = 7.2). Estes estudos, inexistentes na literatura serão muito importantes para entender a utilização deste sal na avaliação da desnaturação de proteínas e possível agregação destas. Estabelecer as regiões de temperatura onde ocorrem os fenómenos de desnaturação da lisozima em solução tampão soluções aquosas de fosfato de sódio com pH = 7.2). Guarda-se para estudos futuros, avaliar o efeito do GMS na estabilidade conformacional da LCOG com o aumento da temperatura.

1.2.2. Objetivos específicos

Estudar as massa volúmicas de soluções aquosas de GMS e de LCOG no tampão (soluções aquosas de fosfato de sódio com pH = 7.2) em função da temperatura para domínios de 298.15 a 353.15 K. Determinar a propriedade termodinâmica derivada da massa volúmica como o volume molar aparente (V_ϕ): do GMS nas soluções

aquosas de fosfato de sódio no sentido de avaliar as interações iónicas soluto-solvente; da LCOG nas soluções aquosas de fosfato de sódio para esclarecer as interações que estão na base dos fenómenos de desnaturação da proteína.

1.3. ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

O documento apresentado está estruturado em 5 capítulos resumidos a seguir. No presente capítulo é feita uma breve introdução ao assunto em estudo, que inclui âmbito/motivação e os objetivos do trabalho. No capítulo 2 é apresentada uma revisão bibliográfica sobre a estrutura das proteínas com foco especial na lisozima e do glutamato de sódio. Apresentam-se alguns dados já estudados relevantes salientando a propriedade termodinâmica em estudo. No capítulo 3 é feita a apresentação dos materiais e o método de medida da massa volúmica com o densímetro de tubo vibrante. No capítulo 4 apresentam-se os resultados. Em primeiro lugar reporta-se a calibração do densímetro, incluindo o cálculo da incerteza das medidas da massa volúmica e o teste realizado com glicerol, selecionado como substância para esse objetivo. Incluem-se neste capítulo as medidas da massa volúmica das soluções aquosas de GMS e das soluções de LCOG bem como o cálculo do volume molar aparente destas espécies. Finalmente o capítulo 5 é dedicado às principais conclusões deste estudo referindo-se a importância do trabalho e algumas sugestões que podem ser importantes para futuros trabalhos de investigação neste âmbito.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1. PROTEÍNAS

As proteínas são as macromoléculas mais abundantes nos sistemas vivos, com funções cruciais em quase todos os processos biológicos. De um ponto de vista químico as proteínas são do tipo polimérico, ou seja, longas cadeias moleculares resultantes da união repetida de várias moléculas menores, os aminoácidos. Um aminoácido é uma molécula que contém simultaneamente os grupos funcionais amina (NH_2) e ácido carboxílico (COOH). Cada aminoácido possui uma base comum um grupo lateral, ou resíduo (R), sendo este último o responsável pelas propriedades químicas de cada aminoácido, Figura 1. (David L. Nelson e Michael M. Cox 2017).

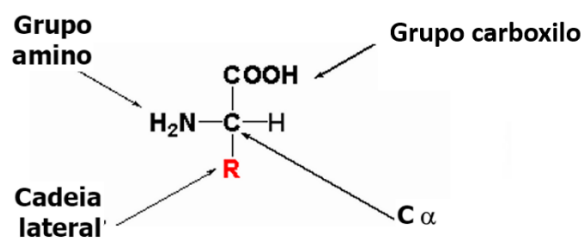


Figura 1. Aminoácido genérico com as unidades fundamentais constituintes.

Adaptado de (David L. Nelson and Michael M. Cox, 2017)

Na natureza existem 20 aminoácidos diferentes cada um dos quais com propriedades físico-químicas específicas. Os aminoácidos podem ser agrupados quanto a sua polaridade e carga como podemos observar na Figura 2.

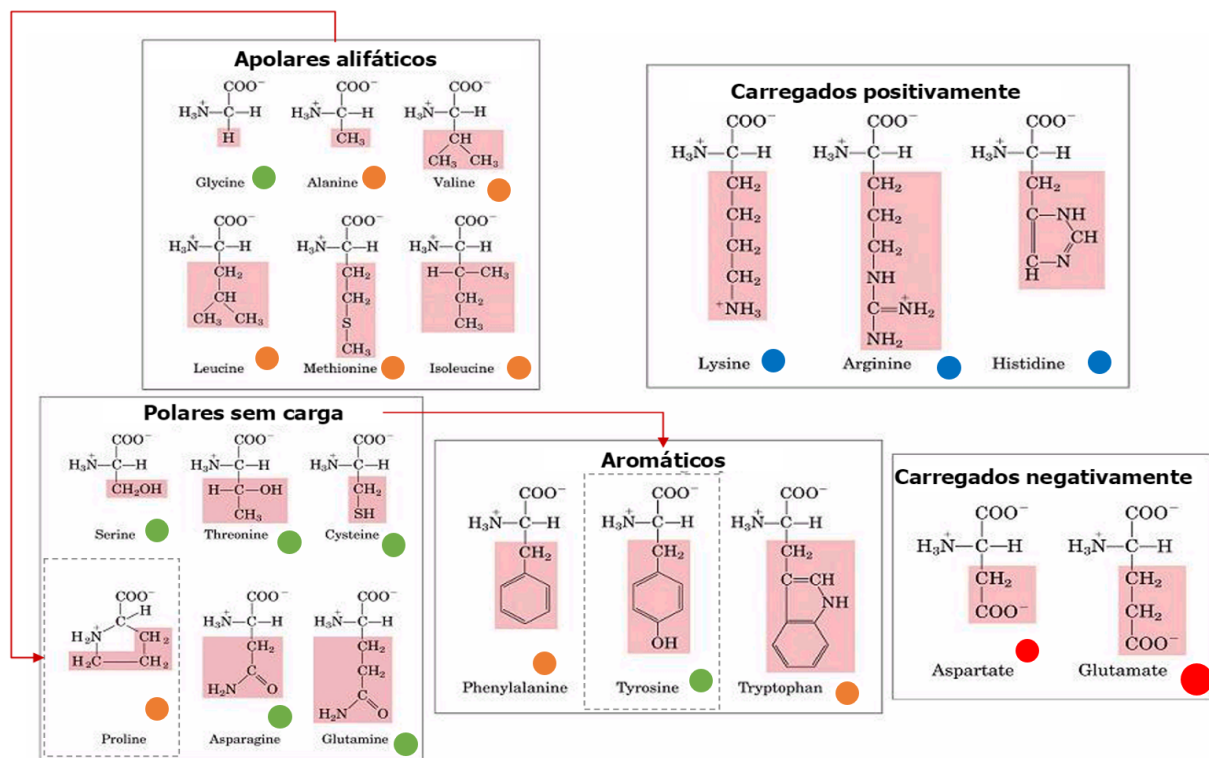


Figura 2. Aminoácidos e sua classificação quanto à polaridade e carga. Hidrofóbicos (círculos laranjas), hidrofílicos (círculos verdes), ácidos (círculos vermelhos) e básicos (círculos azuis). Adaptado de (David L. Nelson and Michael M. Cox, 2017)

A união de dois aminoácidos faz-se através de uma ligação química chamada ligação peptídica, Figura 3. A cadeia polipeptídica resulta da união de vários aminoácidos e por este motivo as proteínas são também muitas vezes designadas por moléculas polipeptídicas (com mais de setenta aminoácidos). A sequência da cadeia polipeptídica é a chave para a estrutura de milhares de proteínas, variando em tamanho, desde pequenos peptídeos a longos polímeros (David L. Nelson e Michael M. Cox 2017).

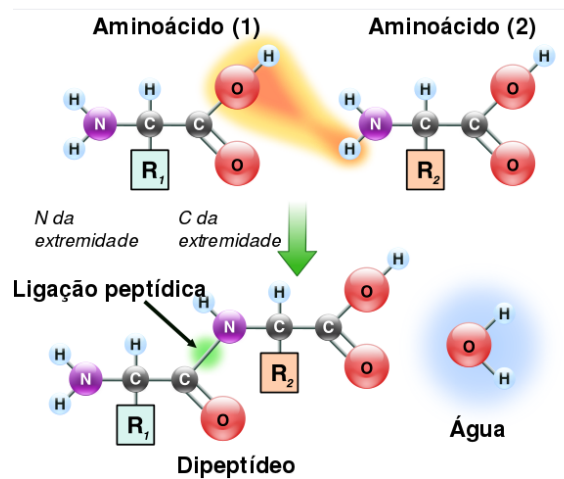


Figura 3. Esquema da formação da ligação peptídica ('Peptide bond', 2022)

As proteínas exibem uma hierarquia de níveis de organização estrutural apresentadas na Figura 4 (David L. Nelson e Michael M. Cox 2017). Como primeiro nível na organização estrutural surge a estrutura primária, a qual constitui a sequência específica de aminoácidos na cadeia peptídica sem haver preocupações com a orientação espacial da macromolécula. É o nível estrutural mais simples e mais importante, pois dele deriva todo o arranjo espacial da molécula. A função de uma proteína depende de sua estrutura primária e qualquer mudança desta sequência gera uma proteína diferente que pode até perder a sua função biológica. A estrutura primária de uma proteína é destruída por hidrólise química ou enzimática das ligações peptídicas, com liberação de peptídeos menores e aminoácidos livres. A estrutura secundária refere-se a arranjos particularmente estáveis dos resíduos de aminoácidos dando origem a padrões estruturais em forma de hélice ou folhas. A estrutura secundária é mantida essencialmente segundo ligações por pontes de hidrogênio e é determinada pelo arranjo espacial de aminoácidos próximos entre si na sequência primária da proteína. Esta estrutura ocorre graças à possibilidade de rotação das ligações entre os carbonos, dos grupos carboxila e amina dos aminoácidos. Já a estrutura terciária envolve peptídeos individuais dobrados e

nesta estrutura os aminoácidos que estão distantes na sequência polipeptídica e que residem em diferentes tipos de estruturas secundárias podem interagir dentro da estrutura da proteína quando é completamente dobrada. Algumas proteínas contêm duas ou mais cadeias polipeptídicas, ou subunidades, que podem ser idênticas ou diferentes. O arranjo dessas subunidades proteicas em complexos tridimensionais constitui a estrutura quaternária.

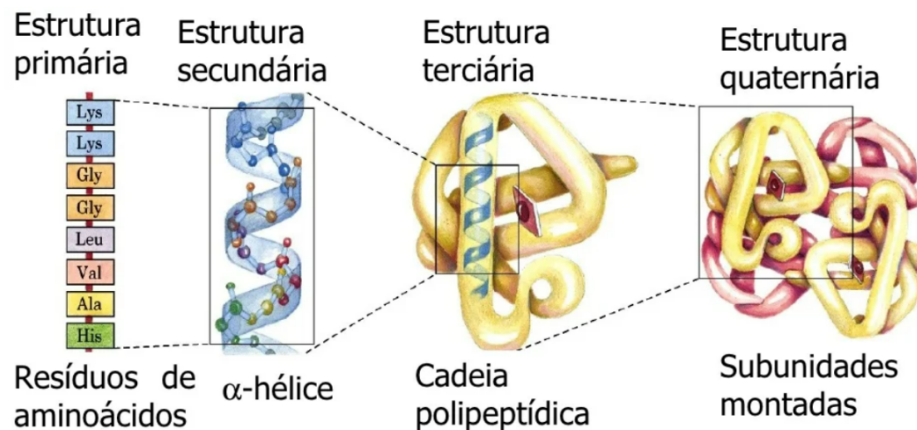


Figura 4. Níveis de organização das proteínas (David L. Nelson and Michael M. Cox, 2017).

As proteínas necessitam de adquirir uma estrutura definida da qual depende a sua função biológica, estrutura essa que está inscrita na sua sequência de aminoácidos. Ao longo dos anos, vários cientistas tentaram responder a três questões cruciais relacionadas com o chamado “problema do enrolamento proteico”:

1. decifrar o código físico onde a sequência de aminoácidos determina a estrutura nativa da proteína;
2. identificar os mecanismos que permitem que as proteínas se dobrem rapidamente;
3. definir como é que a estrutura das proteínas pode ser prevista a partir da sua sequência de aminoácidos.

Além da aquisição da estrutura nativa (dobrada), as vias de “enrolamento” também têm um papel vital em evitar um desdobramento incorreto e consequentemente impedir a agregação de proteínas. Além disso, a estabilidade das proteínas no desempenho das suas funções biológicas é fundamental e pode ser entendida como a capacidade da proteína preservar a sua função em determinadas condições, ao longo do tempo, resultando num balanço de forças que determinam se esta se encontra numa conformação nativa ou num estado desnaturado/desdobrado. A identificação dos fatores que regulam a estabilidade das proteínas tem sido um puzzle não resolvido de longa data, cuja solução tem importantes aplicações nas áreas biotecnológicas e médicas. Muitas abordagens assumem que a estabilização da estrutura nativa é a etapa chave para suprimir a agregação de proteínas.

A agregação de proteínas é um mecanismo patológico que conduz a doenças degenerativas também conhecidas como amiloidoses: amiloidose da lisozima, doenças de Alzheimer e de Parkinson. Este grupo de doenças está associado ao desdobramento incorreto e à agregação de proteínas que se podem depositar na forma de material insolúvel causando danos celulares e morte. Até à data, já foram descritas cerca de 50 amiloidoses, associadas acerca de 30 proteínas. E nenhuma das amiloidoses atualmente conhecidas possui terapia eficaz.

Uma das estratégias usadas para estabilizar proteínas nativas é modular o seu ambiente. As proteínas são altamente sensíveis a mudanças na sua vizinhança induzidas por temperatura, pH e concentração de sal. A sensibilidade depende muito da composição da cadeia polipeptídica. Quando expostas a estes fatores, as proteínas sofrem mudanças graduais na estrutura, ou seja,

desdobram e formam agregados de proteínas ao longo do tempo. Além disso, a baixa estabilidade de proteínas e enzimas pode resultar em perda de função e atividade, limitando significativamente seu uso em processos biológicos, como biofármacos e outros.

No interior e no exterior da proteína são possíveis vários tipos de interações moleculares. Na Figura 5(a) indicam-se os principais tipos de interações entre grupos e partes específicas da proteína. Por outro lado, as cadeias laterais de aminoácidos polares tendem agrupar-se na parte externa da proteína, potenciando assim a sua interação com a água. As cadeias laterais de aminoácidos apolares têm tendência para se concentrar no interior para formar um centro hidrofóbico empacotado de átomos que se escondem da água, Figura 5(b).

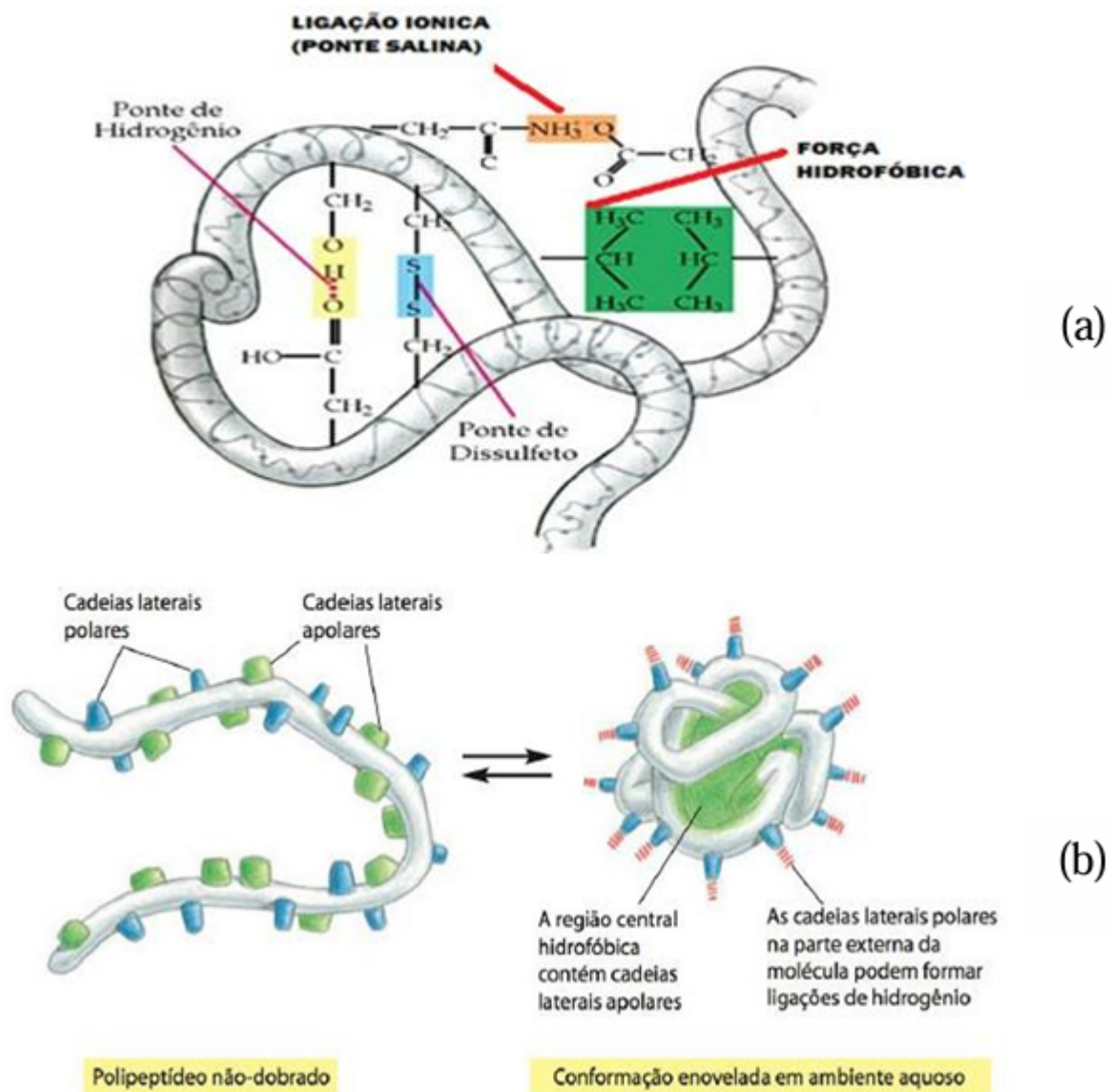


Figura 5. Ilustração das interações entre grupos na proteína (a) e em meio aquoso (b).

O agregado de uma proteína é a proteína no estado inativo com pelo menos duas vezes o tamanho da proteína nativa (100 a 1000 nm). Este estado exibe menos atividade reduzida ou nenhuma atividade biológica (Dobson 2003), (Chiti e Dobson 2006). O dobramento incorreto e a agregação de proteínas são atualmente as principais fontes de apreensão na biologia e na medicina devido à sua associação com várias doenças neurodegenerativas humanas debilitantes incluindo Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica e doença de Huntington. O pH, a temperatura, a concentração de proteína, aditivos e viscosidade são alguns fatores que podem influenciar a agregação de proteínas (Kan e Chen 2021).

2.2. LISOZIMA

A lisozima é uma enzima antimicrobiana produzida por animais e faz parte do sistema imunológico inato, isto por se encontrar na saliva, lágrimas, muco e leite produzidos por seres humanos, podendo ainda se encontrar em grandes quantidades na clara de ovo da galinha (Callewaert e Michiels 2010) , (Seuss-baum 2007).

A lisozima é uma proteína pequena de cadeia única contendo 129 aminoácidos. Dobra-se numa estrutura compacta com uma espécie de fenda no sítio ativo (que se pode ligar a certos carboidratos), as interações no interior e no exterior dessa proteína são as mesmas descritas na Figura 6. Existem quatro pontes dissulfeto (entre Cys 6 e Cys 127, entre Cys 30 e Cys 115, entre Cys 64 e Cys 80 e entre Cys 76 e Cys 94) mostradas na Figura 6, que reticulam o polipeptídeo, estabilizando a conformação nativa (dobrada/enrolada). A cor amarela corresponde aos aminoácidos das hélices alfas(α) e a verde às folhas beta (β). A lisozima incorpora unidades de ácido glutâmico (AGL) que é também a unidade estrutural do GMS. No Anexo A, pode-se observar os aminoácidos que constituem a lisozima da clara do ovo da galinha.

2.3. GLUTAMATO DE SÓDIO

O glutamato de sódio (GMS) é também conhecido como sal de sódio do ácido glutâmico (AGL), um aminoácido não essencial (ou seja, pode ser sintetizado pelo corpo humano e, portanto, não é essencial para a dieta humana) é abundante na natureza encontrado naturalmente em alguns alimentos nos quais se inclui as carnes, algas marinhas, anchovas, moluscos, tomates, queijos, legumes, mariscos e cogumelos. O GMS é um dos aditivos alimentares mais utilizados sendo geralmente reconhecido como seguro de acordo com o Comité Conjunto FAO e OMS, JECFA, FDA e EFSA. O GMS e o AGL conferem aos alimentos um sabor salgado conhecido como sabor umami, expressão em japonês que significa como “saboroso”(Yadav 2010).

Existem muitas indicações na literatura que sugerem que o uso excessivo de GMS nos alimentos está relacionado com doenças como fibromialgia hiper-agregação de plaquetas em ratos, efeito cardiovasculares, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade de desreguladores endócrinos, hiperglicemia com consequentemente diabetes mellitus, e excesso de peso(Ahanger, Bashir, et al. 2021), (Moldovan et al. 2021), (Gottardo et al. 2022).

Inúmeros relatórios recentes onde destacam que o GMS tomado por via oral é um promotor de doenças neurodegenerativas como doença de Alzheimer, doença de Parkinson, doença de Huntington, doença amiotrófica esclerose lateral e esclerose múltipla(Ahanger, Bashir, et al. 2021). Geralmente, é um fato bem conhecido que as doenças neurológicas estão relacionadas com o fenómeno de agregação e desnaturação de proteínas. Este fenómeno pode ser definido como o evento pelo qual as proteínas são incapazes de se

dobrar devido a proteínas mal dobradas ou enroladas, que por sua vez polimerizam em agregados, amalgamando-se desta forma intra e extracelular formando uma estrutura anormal e desencadeando uma larga variedade de doenças neurológicas (Chiti e Dobson 2006), (Conway 2020). Apesar de existirem alguns relatórios sobre a associação do GMS com vários distúrbios neurológicos, ainda não há provas concretas disponíveis sobre o papel do GMS na agregação de proteínas. Assim, há a necessidade de investigação desta problemática.

O AGL foi sintetizado pela primeira vez em 1908 pelo bioquímico japonês Kikunae Ikeda a partir de uma alga utilizada na alimentação e é atualmente o aminoácido mais produzido no mundo. Existem quatro formas principais de obtenção deste aminoácido para uso comercial (Ding et al. 2022):

- a. Extração de fontes naturais por hidrólise com ácido clorídrico
- b. Síntese química a partir da acrilonitrila
- c. Fermentação bacteriana;
- d. Catálise enzimática.

O uso da fermentação para obtenção do AGL teve início na década de 50 quando foi observada a produção de pequenas quantidades de aminoácidos por *Escherichia coli* (*E. coli*). Todavia, descobriu-se que outra bactéria, a *Corynebacterium glutamicum* (*C. glutamicum*) podia levar à produção de grandes quantidades de acordo com a reação (Alharbi et al. 2020), (Kashiwagi et al. 1995) observada na Figura 8.

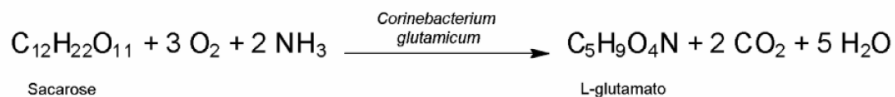


Figura 8. Produção do ácido glutâmico por fermentação *C. glutamicum* a partir da sacarose. Adaptado de (Alharbi et al., 2020), (Kashiwagi et al., 1995).

As estruturas do aminoácido AGL e do sal GMS estão representadas na Figura 9.

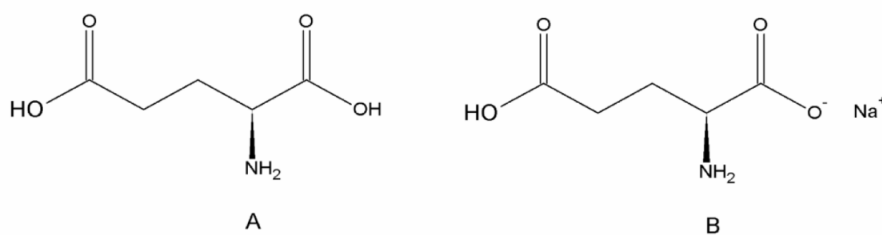


Figura 9. Estruturas do AGL (A) e GMS (B).

O GMS cuja estrutura se indica na Figura 10 é encontrado principalmente na forma de cristais brancos e inodoros. O GMS é composto por 12% de cátions de sódio (Na^+), 78% de aniões de glutamato ($\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_4$) e 10% de água. São conhecidos dois hidratos para o sistema binário glutamato de sódio + água, o monohidrato (GMS)(Sano et al. 1989)e o pentahidrato($\text{GMS}5\text{H}_2\text{O}$)(Kashiwagi et al. 1995). Este último hidrato é estável na região 264.5 K a 272.2K enquanto o primeiro existe às temperaturas elevadas.

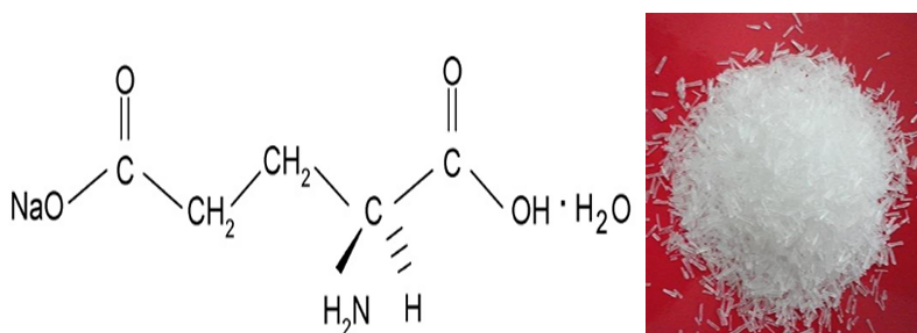


Figura 10. Glutamato de sódio monohidrato (GMS) é comercializado na forma cristais brancos com 12% de cátions de sódio (Na^+), 78% de aniões de glutamato ($\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_4$) e 10% de água (H_2O).

O sal GMS em soluções aquosas dissocia-se em glutamato e íão de sódio. O sólido contém catião Na^+ e anião glutamato na forma zwitteriônica. O termo zwitterion aplica-se a uma molécula que consiste num número isolado e igual de grupos funcionais carregados positivamente e negativamente donde resulta uma carga global nula. Os aminoácidos são bons exemplos de moléculas que podem existir como zwitteriões com grupos funcionais amina e carboxilo. A estrutura de um aminoácido é tal que permite que ele se comporte como um ácido e uma base a um determinado valor de pH e quase todos os aminoácidos existem como zwitteriões a um determinado valor de pH, que é diferente para cada aminoácido. O pH específico ao qual um determinado aminoácido existe em solução como um zwitterião é conhecido como ponto isoelétrico. Quando o ácido glutâmico é dissolvido em água, o grupo amina ($-\text{NH}_2$) pode aceitar um protão (H^+), e/ou os grupos carboxilo podem perder protões conforme a acidez do meio como se indica na Figura 12 (Kashiwagi et al. 1995), (Moldovan et al. 2021).

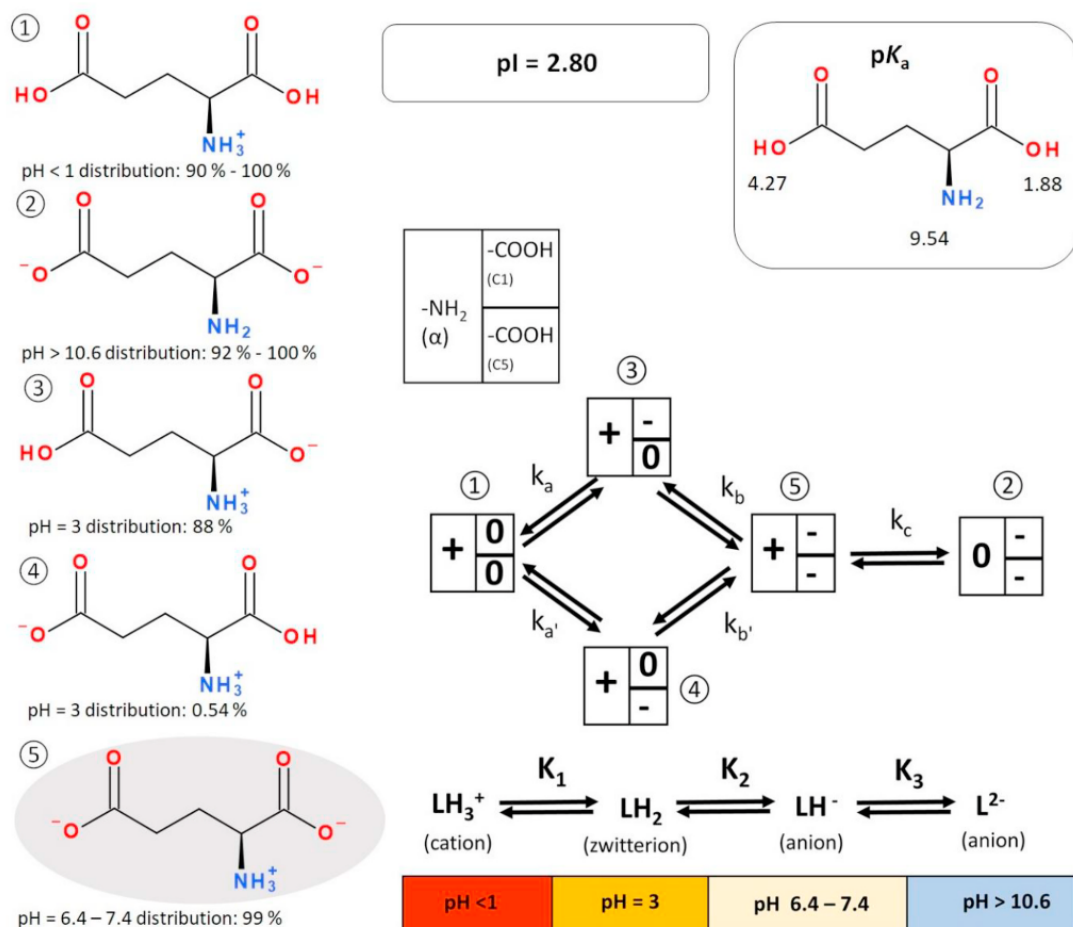


Figura 11. Equilíbrios de protonação do ácido glutâmico. As constantes de protonação para os diferentes equilíbrios são K1, K2 e K3, e k_a, k_{a'}, k_b, k_{b'} e k_c são microconstantes que pertencem ao grupo α-amino e os dois grupos carboxilato (Moldovan et al., 2021).

Da Figura 11 percebe-se que em meios suficientemente ácidos pH < 1, o grupo amino ganha um próton e as moléculas ficam catiónicas HOOC-CH(NH₃⁺)-(CH₂)₂-COOH. (Neuberger 1936). Quando o pH está em valores entre 2.5 e 4.1, o ácido carboxílico vizinho da amina perde o próton e o AGL fica neutro na forma zwitterionica ⁻OOC-CH(NH₃⁺)-(CH₂)₂-COOH. Esta é a forma geralmente associada à sua forma sólida (Rodante, Marrosu, e Fantauzzi 1989). As duas formas referidas anteriormente existem em iguais concentrações a pH = 2.1. Para valores de pH maiores, o outro grupo carboxílico perde o próton e o ácido existirá como anião glutamato ⁻OOC-CH(NH₃⁺)-(CH₂)₂-COO⁻, a que corresponde uma carga negativa em termos globais. Esta mudança de protonação ocorre a pH = 4.27 (Rodante, Marrosu, e Fantauzzi 1989). A região de pH deste estudo para o GMS

corresponde aproximadamente 7.2 consequentemente a espécie predominante será o anião ${}^{-}\text{OOC-CH}(\text{NH}_3^{+})\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-COO}^{-}$.

2.4. PROPRIEDADES TERMODINÂMICAS

Os estudos sobre as propriedades termodinâmicas em geral e volumétricas em particular incidindo sobre soluções aquosas de GMS são muito escassos. Uma revisão cuidada da literatura indica apenas um único estudo disponível (Suzuki et al. 2001). Estes autores estudaram a solubilidade em água na faixa de pressões desde 0.10 a 300 MPa e a 298.15 K. Dos resultados obtidos concluíram que a solubilidade determinada em condições de saturação a 298.15 K, aumenta com o aumento da pressão. Para o sal de glutamato não hidratado à pressão atmosférica e 298.15 K em condições de saturação, a molalidade é de $m=3.683\pm0.001 \text{ mol.kg}^{-1}$ (Suzuki et al. 2001). Estes autores determinaram também a massa volúmica e volumes molares aparentes das soluções de glutamato para concentrações entre 0.54 molal e 3.84 molal e entalpias de solução. Após uma pesquisa bibliográfica não foi encontrado nenhum estudo sobre a influência de soluções de GMS na desnaturação e agregação da LCOG.

Existem, todavia, vários estudos onde se determinaram propriedades volumétricas da lisozima em soluções aquosas de sais e líquidos orgânicos. Foram apresentadas medições de massa volúmica da lisozima em soluções aquosas com cálculo dos volumes parciais molares da proteína a 293.15 K, 298.15 K e 303.15 K (Millero, Ward, e Chetirkin 1976). Outros estudos foram dirigidos para lisozima em soluções aquosas de sais. As propriedades volumétricas de lisozima em soluções aquosas de cloreto de sódio foram estudadas a pH 4.2 e 8.8 a 298.15 K, bem como a influência do sulfato de lítio,

cloreto de magnésio e sulfato de amónio a pH 4.2 e 298.15 K (Zielenkiewicz 2001), (Zielenkiewicz e Zielenkiewicz 2005), (Zielenkiewicz e Zielenkiewicz 2007).

O volume parcial molar da lisozima também foi determinado a 303.15 K em soluções aquosas de brometo de tetraetilamónio (Banerjee e Kishore 2006), (Chalikian et al. 1996) onde realizaram estudos de volumes parciais molares de 15 proteínas globulares nas quais se incluía a lisozima, em solução aquosa a temperaturas que variam de 291,15 a 328,15 K. Destes estudos resultaram informações importantes sobre o estado de hidratação das proteínas. Mais recentemente (Krakowiak, Krajewska, e Wawer 2019) realizaram estudos térmicos de desnaturação de LCOG em água e soluções aquosas de N-butilureia. Foi medida a massa volúmica no intervalo de temperaturas desde 298,15 a 353,15 K à pressão atmosférica e utilizando concentrações da proteína de 2 a 20 mg por ml de solução. Este estudo mostrou que o efeito de desnaturação pode ser estudado com rigor a partir de dados volumétricos e que além disso, ao contrário do que se pensava, as medições de massa volúmica sugerem que a proteína desnaturada não precisa necessariamente de estar num estado totalmente estendido.

Na Tabela 1 faz-se um resumo dos estudos volumétricos encontrados na literatura incidindo sobre a LCOG em soluções aquosas quer de sais ou de líquidos orgânicos considerados relevantes neste tipo de estudos.

Tabela 1. Revisão da literatura acerca dos estudos volumétricos com LCOG em soluções de sais.

Autores	Ano	Resumo
---------	-----	--------

(Krakowiak, Krajewska, e Wawer 2019)	2019	Estudos térmicos de desnaturação de LCOG em água e solução aquosa de N-butilureia (BU). As medidas densimétricas de alta precisão foram usadas para caracterizar e analisar as mudanças do volume específico com variações de temperatura variando de 298.15 a 353.15K à pressão atmosférica. A concentração da proteína cobriu a faixa de 2 a 20 mg por 1 ml da solução. Na região de desnaturação, as mudanças estruturais da proteína são acompanhadas pelo maior aumento dos valores de temperatura. As medições mostram que esse efeito pode ser monitorado a partir de dados volumétricos.
(Jirasek et al. 2018)	2018	O volume molar de LCOG e albumina de soro bovino (BSA) em soluções aquosas a diferentes valores de pH e em soluções aquosas contendo cloreto de sódio, cloreto de amônio, sulfato de sódio ou sulfato de amônio a diferentes concentrações, pH de 7.0, a 298,15 K e 1 bar. Verificou-se que a influência do valor de pH e dos sais no volume molar das proteínas é pequena.
(Siddique et al. 2014)	2014	Resultados das medições de massa volúmica e velocidade ultra-sónica de glucose+lisozima+água,maltose+lisozima+água, e ureia +lisozima+água. A compressibilidade adiabática foi calculada para estes sistemas com ajuda de valores de massa volúmica e velocidade ultra-sónica as temperaturas de 293.15, 303.15, 313.15, e 323.15 K para várias concentrações de glucose, maltose, e ureia. A interacção entre açúcares e moléculas de água cria um ambiente polar que ajuda a aumentar as interacções hidrofóbicas nas proteínas, estabilizando assim a proteínas, enquanto que a ureia cria um efeito oposto na estabilização da proteína devido ao seu papel de quebrar a estrutura da água.

(Ferreira Machado et al. 2007)	2007	Influência de diferentes valores de pH (3.0, 4.6, 6.0, 8.0 e 9.0) e concentrações de sal (0.05, 0.1, 0.2, 0.35 e 0.5 mol/l) para os sais (NaCl, Na ₂ SO ₄ e (NH ₄) ₂ SO ₄) na solubilidade e massa volúmica da LCOG, à temperatura de 25 °C. Os resultados mostraram que a solubilidade da LCOG foi influenciada pelo pH, bem como pela concentração e tipo de sal presente no meio. A solubilidade da proteína aumentou com o aumento do pH, com solubilidade mais elevada a pH de 9.0 e solubilidade mais baixa a pH de 4.6. Este comportamento foi verificado para todos os sais analisados. A massa volúmica aumentou com o aumento da concentração de sal.
(Kamiyama, Matsusita, e Kimura 2003)	2003	Massa volúmica e espectros de fluorescência de misturas ternárias de água + dimetil sulfóxido + lisozima e volumes específicos parciais de lisozima foram determinados a temperatura de 298. 15 K. As misturas binárias de água + sulfóxido de dimetilo tem um volume mínimo de excesso quando a fracção molar (x) de sulfóxido de dimetilo está na gama de 0.25 a 0.42, e a lisozima desdobra-se e agrega-se dentro desta gama. Isto indica forte interacção entre água e dimetilsulfóxido pode influenciar a conformação da lisozima, interferindo nas interacções água-lisozima. Na gama $x > 0.8$, a lisozima estava num estado desnaturado, tendo um volume específico parcial de $0.706 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ menor do que o do estado nativo, $0.712 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, provavelmente porque o desdobramento levou a uma diminuição do volume da cavidade da lisozima no solvente.

3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1. EQUIPAMENTO

As massas volúmicas foram medidas num densímetro de tubo vibrante comercial Anton Paar DMA 512P na faixa de temperatura de 298 K a 353 K à pressão atmosférica. A instrumentação e equipamentos utilizados neste trabalho estão representados na Figura 12.

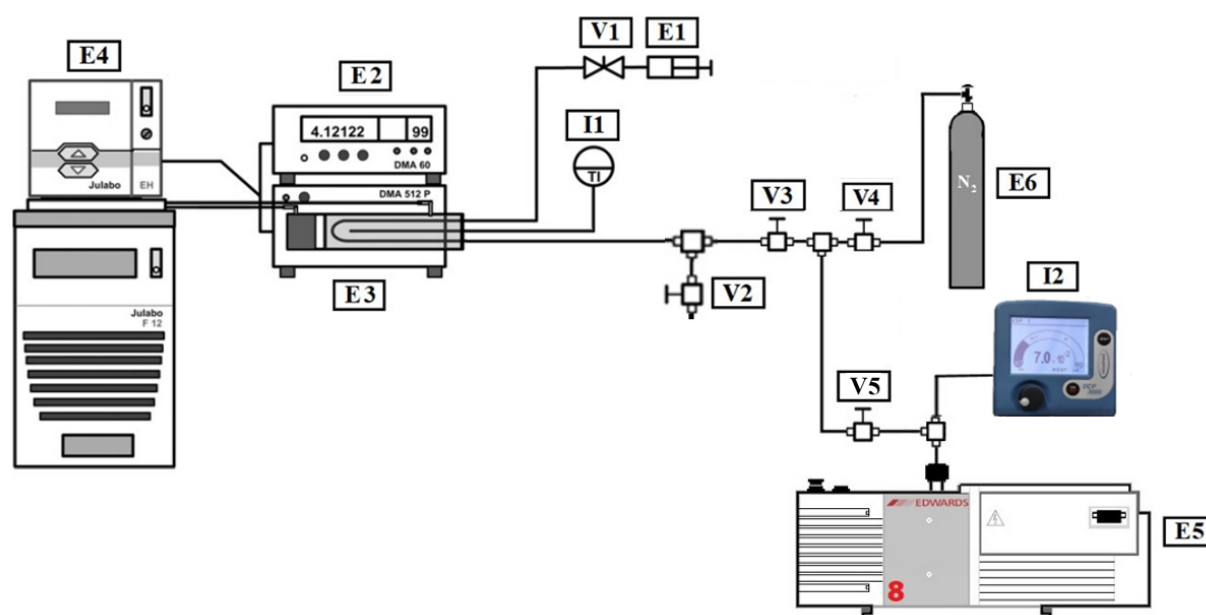


Figura 12. Esquema dos equipamentos utilizados na medida de massa volúmica, **E1:** seringa de vidro, **E2:** unidade DMA 60, **E3:** unidade DMA 512P, **E4:** banho termostático, **E6:** azoto para limpeza da linha, (**V1 -V4**): válvulas, **I1:** Pt100 e **I2:** medidor de vácuo.

Na Figura 12, os equipamentos principais são identificados pela letra E, os indicadores por um I e as válvulas por V. A seção de medida da massa volúmica é delimitada pelas válvulas V1 e V2, e é composta por tubos de aço inoxidável 1/8". A amostra entra no densímetro através de V1, utilizou-se uma seringa de plástico de 5 mL (E1). O densímetro de tubo vibrante é composto pelas unidades DMA 60 (E2) e DMA 512P (E3). Os períodos de vibração foram visualizados no display da unidade DMA 60 (E2). Utilizou-se um banho termostático circulante Julabo F12-ED (E4) com mistura água-etilenoglicol capaz de regular a temperatura do fluido em célula do densímetro com flutuações inferiores a 0.03K.

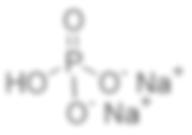
A temperatura da amostra dentro do oscilador de tubo em U foi medida por uma sonda Pt100 (I1) com incerteza na temperatura de 0.01 K. A sonda é acoplada a um multímetro digital e é inserida num slot da célula de medição de alta pressão (DMA 512P). A sonda de resistência Pt100 foi previamente calibrada com um termómetro Isotech TTI-10 certificado pela ITS90 com uma incerteza da ordem de 0.001 K. Para tal as sondas de resistência Pt100 e do termómetro padrão foram inseridas no banho termostático Julabo F12-ED.

O multímetro utilizado foi um Instek, Dual Display, modelo GDM-8245 e ISO-9001 certificado com incerteza de resistência $u(\Omega) = \pm 0.01\Omega$ para a faixa de calibração até 500Ω . Tomando em consideração as incertezas na temperatura de todos os dispositivos usados na calibração da sonda Pt100, (as incertezas nas constantes de calibração, as relativas à resistência do multímetro, à sonda Pt100 e as do termómetro de referência) a incerteza de temperatura estimada da curva de calibração utilizando a lei de propagação de erros foi calculada como 0.13 K. Para cada temperatura registou-se o período até não existir diferenças de 10 unidades (correspondente aproximadamente 0.01 kg.m^{-3}).

3.2. REAGENTES

Na Tabela 2 estão apresentados os detalhes relativos aos reagentes, incluindo purezas, números de registo (CAS) e fornecedores. Foi preparada uma solução tampão com 10 mM, para tal foi utilizada água (HPLC) e fosfato de sódio (monobásico e dibásico) em pH = 7.2. As soluções GMS+tampão e LCOG+tampão foram preparadas por massa usando uma balança Mettler AT 200 com incerteza de 10^{-4}g . A incerteza na molalidade foi estimada como sendo inferior a $10^{-4}\text{mol.kg}^{-1}$.

Tabela 2. Massa molar, pureza, fornecedores e CAS dos reagentes

Composto químico	Estrutura molecular	Massa molar	Pureza em % mássica	Fornecedor	CAS
Glutamato de sódio (GMS)		187.13 (g.mol ⁻¹)	> 99	Acros	6106-0
Fosfato de sódio (dibásico)		141.96 (g.mol ⁻¹)	> 99	Sigma	7732-7
Fosfato de sódio (monobásico)		136.06 (g.mol ⁻¹)	> 99	Sigma	7732-8

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

3.3. MEDIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA LISOZIMA

O cálculo de concentrações é feito geralmente pelo método da espectroscopia de absorção. A espectroscopia de absorção é uma técnica que se baseia na diminuição da intensidade de um feixe de luz, quando este atravessa uma amostra. No espectrofotômetro em vez da intensidade da luz absorvida o que se registra é o logaritmo da razão entre a intensidade da luz incidente e a intensidade da luz transmitida, ou seja, a absorvância ('Absorbancia',2019), (Lima 2013), Figura 13. A absorvância da lisozima foi medida num espectrofotômetro Spectronic Unicam UV530 UV/Viscom comprimentos de onda entre os 200 a 350 nm utilizando cuvettes de quartzo.

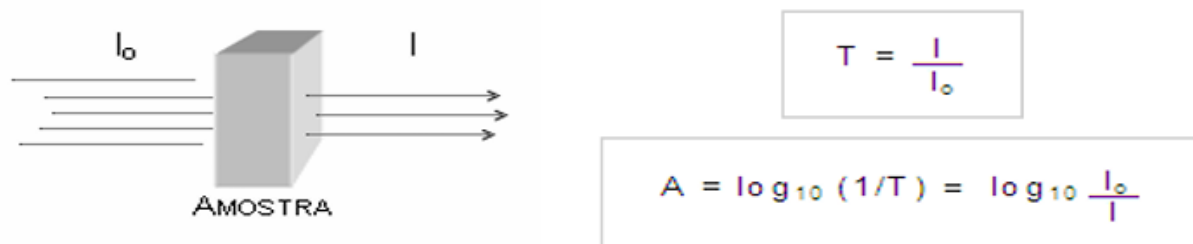


Figura 13. Transmitância (T) razão entre a intensidade da radiação transmitida pela amostra (I) e a intensidade da radiação incidente na amostra (I_0). A absorvância (A) logaritmo de base dez vezes o inverso da transmitância.

Segundo a lei de Beer-Lambert(Lima 2013) a absorvância de uma amostra (A) está diretamente relacionada com a concentração(C), com o coeficiente de extinção molar (ϵ) constante para uma dada substância dissolvida num dado solvente e medido para um dado comprimento de onda e a radiação que atravessa amostra (I), expresso na equação [1].

$$A = \epsilon l C \text{ [1]}$$

Os aminoácidos que contêm cadeias laterais aromáticas (tirosina, triptofano e fenilalanina) exibem absorção de luz ultravioleta (UV). Consequentemente, as proteínas absorvem luz UV proporcionalmente à concentração total de aminoácidos aromáticos. Apenas os aminoácidos tirosina, triptofano e numa menor extensão da cistina (dois aminoácidos de cisteína ligados por uma ponte dissulfeto(S-S), como se verifica na lisozima) contribuem significativamente para a absorção a 280 nm da proteína. O coeficiente de extinção molar de uma proteína a 280 nm esta relacionado com a sua composição em tirosinas, triptofanos e cistinas, correspondendo à soma dos coeficientes de extinção molar a 280 nm destes três aminoácidos multiplicados pelo número desses resíduos existente na proteína, como descrito pela equação [2] (Pace et al. 1995).

$$\epsilon_{280nm} = (125 \times n^{\circ} \text{ cisteína}) + (1490 \times n^{\circ} \text{ tirosinas}) + (5500 \times n^{\circ} \text{ triptofanos}) [2]$$

O coeficiente de extinção molar da lisozima a 280 nm (ϵ_{280nm}) encontrado foi de $37970 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Sabendo o coeficiente de extinção molar da lisozima, a concentração da lisozima em solução pode ser calculada com a equação [1] medindo a absorvância de cada amostra a 280 nm.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CALIBRAÇÃO DA Sonda DE PLATINA (Pt)

Como se referiu anteriormente a temperatura das amostras dentro do oscilador de tubo em U do densímetro é medida por uma sonda Pt100 (II) com incerteza de temperatura $\pm 0.01\text{K}$. A sonda está acoplada a um multímetro digital e é inserida no slot da célula de medição (DMA 512P). Esta configuração de multímetro digital com sonda de resistência Pt100 foi previamente calibrada com um termómetro Isotech TTI-10 certificado pela ITS90. Fazendo variar a temperatura do banho termostático Julabo F12-ED segundo intervalos de 5°C , registavam-se as temperaturas do termómetro certificado e a sonda de resistência Pt100 correspondente a multímetro Instek, Dual Display.

Os valores de resistência (R) lido no multímetro e as temperaturas (T) registadas no termómetro padrão são apresentadas no Anexo B. Na Figura 14 apresenta-se o andamento de R em função de t para a curva de calibração. Pode observar-se que a dependência de R face a T é essencialmente linear do tipo da equação [3].

$$T/^{\circ}\text{C} = T_0 + T_1 * R/\Omega [3]$$

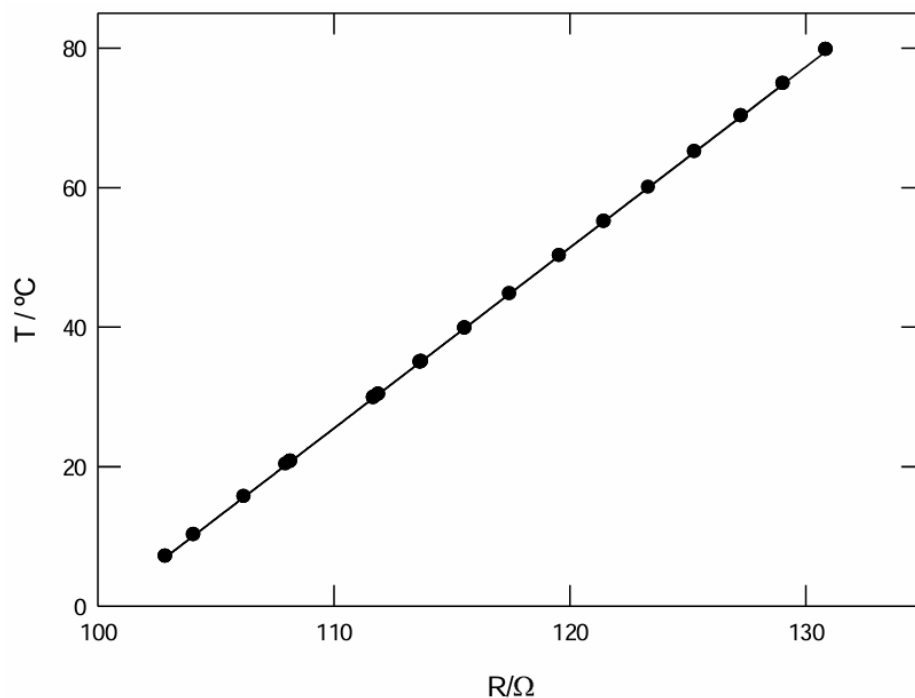


Figura 14. Temperatura (T) em função da resistência (R) do termômetro de platina para a curva de calibração.

Na Tabela 3 apresentam-se com detalhe os resultados do ajustamento de mínimos quadráticos pelo método de Lavenberg Marquardt. Verifica-se que o desvio relativo médio percentual (AARD) e desvio médio absoluto (AAD) são de valor baixo, indicativo de uma reta de calibração capaz de calcular a temperatura com desvios da ordem de 0.06 °C.

Tabela 3. Resultados do ajustamento de mínimos quadráticos da equação [3].

Parâmetro	Valor	Incerteza
$T_0(K)$	-259.1706	0.1279
$T_1(K.\Omega^{-1})$	2.5878	0.0011
r^2	1.0000	----
$\sigma(^{\circ}C)$	0.0610	----
AARD %	0.2500	----

AAD (°C)	0.0600	----
$\text{AARD\%} = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{ \rho_{i \text{ cal}} - \rho_{i \text{ exp}} }{\rho_{i \text{ exp}}} \quad \text{AAD}(^{\circ}\text{C}) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N T_{i \text{ cal}} - T_{i \text{ exp}} $		

Na Figura 15 apresentam-se os desvios absolutos ($T_{\text{cal}} - T$), onde T_{cal} são os valores calculados com a equação [3] e T são os valores experimentais (Tabela 3). Tendo em consideração a fórmula de propagação dos erros a incerteza na determinação da temperatura, $u(T)$, será:

$$u(T)^2 = u_{\text{eq}}^2 + u_{\text{ter}}^2 + u_{\text{cel}}^2 + u_{\text{osc}}^2 \quad [4]$$

onde u_{eq}^2 é a incerteza associada com a utilização da equação de calibração (equação [3]), $u_{\text{ter}}^2 = 0.001^2 \text{ } ^{\circ}\text{C}^2$ é a incerteza que está associada ao termómetro padrão Isotech TTI-10 certificado pela ITS90, $u_{\text{cel}}^2 = 0.01^2 \text{ } ^{\circ}\text{C}^2$ a incerteza associada à sonda de platina utilizada e $u_{\text{osc}}^2 = 0.03^2 \text{ } ^{\circ}\text{C}^2$ a incerteza estimada para oscilações na temperatura na célula do densímetro. Tem-se que: $u_{\text{eq}}^2 = (dT / dR)^2 u(R)^2$ com $u(R) = 0.01 \Omega$, resulta $u_{\text{eq}}^2 = 6.70 \times 10^{-4} \text{ } ^{\circ}\text{C}^2$. Substituindo todos os valores necessários na equação [4] obtém-se $u(T) = 0.04^{\circ}\text{C}$. Observando a Figura 15 pode-se reparar que muitos desvios absolutos da temperatura estão próximos da incerteza prevista pela equação [4].

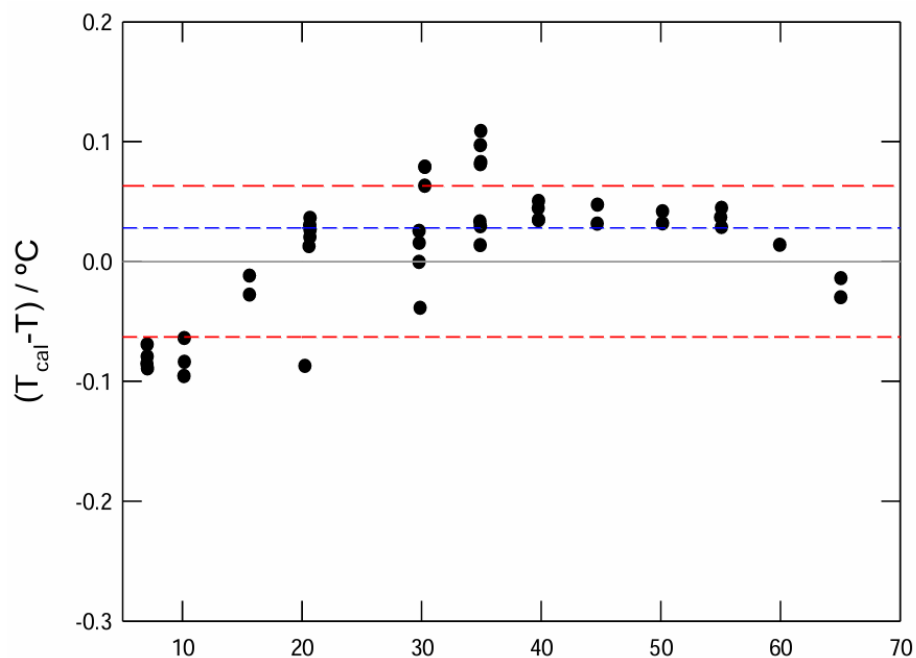


Figura 15. Desvios absolutos entre valores calculados da temperatura (T_{cal}) e experimentais (T). As linhas a tracejado de cor vermelha representam o valor de AAD.

4.2. CALIBRAÇÃO DO DENSÍMETRO

Na medição da massa volumica utilizou-se um densímetro de tubo vibrante. A parte principal deste aparelho é um tubo oco em forma de U que possui a capacidade de oscilar quando excitado eletricamente. Uma certa massa de amostra é colocada neste tubo e o que se mede é o período de frequência de ressonância para essa massa, o período τ é medido com grande precisão e relaciona-se com a massa volumica através da equação [5] (Safarov et al. 2009).

$$\rho(T, \tau) = A(T) \cdot \tau^2(T) - B(T) \quad [5]$$

onde $\rho(T, \tau)$ é a massa volúmica à temperatura T , τ é o período de vibração, A e B são constantes de calibração. Estas constantes são determinadas por ajustamento a valores experimentais da massa volúmica de fluidos calibrantes.

A calibração de densímetros de tubos vibrantes normalmente requer a medição dos períodos de vibração de pelo menos dois fluidos de referência com valores de massa volúmica de baixa incerteza em amplas faixas de temperatura e pressão (Safarov et al. 2009).

Existem na literatura diferentes métodos para a calibração de densímetros de tubos vibrantes (Ihmels e Gmehling 2001), (May et al. 2014). O método (Lagourette et al. 1992) é mais utilizado e foi empregue neste trabalho. A água (w) é o fluido de referência mais utilizado, devido à existência de dados de massa volúmica de alta precisão que estão prontamente disponíveis (NIST 2023). Como segunda referência considera-se o vácuo (v), para o qual a massa volúmica é considerada como zero. As equações [6] e [7] representam o cálculo das massas volúmicas respetivamente da água (w) e do vácuo (v).

$$\rho_w(T) = A(T) \cdot \tau_w^2(T) - B(T) [6]$$

$$\rho_v(T) = A(T) \cdot \tau_v^2(T) - B(T) \approx 0 [7]$$

Portanto da equação [7] mostra-se que:

$$A(T) = \frac{B(T)}{\tau_v^2(T)} [8]$$

e substituindo a equação [8] em [6] vem:

$$\rho_w(T) = B(T) \left(\frac{\tau_w^2}{\tau_v^2} - 1 \right) [9]$$

A massa volúmica da água pode ser retirada com grande precisão do (NIST 2023) para os valores de temperatura para os quais os períodos τ_w , foram determinados. Desta forma, por ajustamento aos

valores da massa volúmica da água, conhecendo os períodos de oscilação na água e no vácuo a cada temperatura obtêm-se os coeficientes B em função da temperatura. Resolvendo a equação [9] em ordem a $B(T)$ obtém-se a equação [10].

$$B(T) = \frac{\rho_w}{\left(\frac{\tau_w^2}{\tau_v^2} - 1\right)} [10]$$

Uma vez conhecida a função $B(T)$, a massa volúmica $\rho(T)$, de uma amostra desconhecida pode ser calculada pela equação [11].

$$\rho(T) = B(T) \left(\frac{\tau^2}{\tau_v^2} - 1 \right) [11]$$

onde τ se refere ao período de oscilação do líquido da amostra a uma dada temperatura. Tal como se referiu antes para o cálculo $B(T)$ de acordo com a equação [10] devem ser conhecidos os trios de valores (τ_v, τ_w, ρ_w) a cada temperatura. A Tabela 4 apresenta os valores de períodos de oscilação τ que foram medidos no densímetro de tubo vibrante em função da temperatura T para o fluido de referência água. Os valores de massa volúmica ρ para cada temperatura foram retirados do («NIST» 2023).

Tabela 4. Períodos de oscilação (τ), temperatura (T) e a massa volúmica (ρ) para o fluido de referência água.

T/K	$\tau / \mu s$	$\rho / kg.m^{-3}$	T/K	$\tau / \mu s$	$\rho / kg.m^{-3}$
298.33	4.085783	997.00	313.54	4.093334	992.0
298.38	4.085795	996.99	313.54	4.093337	992.0
298.43	4.085813	996.97	319.03	4.095934	989.8
298.41	4.085820	996.98	319.00	4.095940	989.8

298.41

4.085826

996.98

319.00

4.095943

989.8

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

$$a_u(\tau) = 1.5 \times 10^{-5} \mu s.$$

Os valores do período de oscilação (τ) que foram medidos experimentalmente em função da temperatura (T) para o fluido de referência vácuo a pressões da ordem de 5 Pa estão apresentados no Anexo C.

Com os valores da massa volúmica e dos períodos de oscilação da água e do vácuo na equação [10] determinou-se a cada temperatura, o valor do parâmetro B , por isso os períodos na água e no vácuo foram ajustados por polinômios na temperatura aos valores experimentais. Isto por dois motivos, em primeiro lugar os períodos em vácuo e para a água foram determinados a diferentes temperatura e pressão, em segundo lugar procurou-se um tratamento uniforme para os dois casos sendo mais apropriado dispor de funções para representar os períodos de oscilação. Considerou-se a equação [12] do tipo polinomial.

$$\tau_{v/w} = \sum_{i=0}^{\square} c_{i,v/w} T^i \quad [12]$$

onde $c_{i,v}$ e $c_{i,w}$ são os coeficientes do ajustamento por mínimos quadráticos para o vácuo e a água, respetivamente.

Na Tabela 5 indicam-se os coeficientes $c_{i,v}$ e $c_{i,w}$ bem como os indicadores estatísticos dos ajustamentos.

Tabela 5. Coeficiente do ajustamento por mínimos quadráticos da equação [12].

Parâmetros	Valores
Vácuo(τ_v)	
$c_{0,v}(\mu s)$	3.7469
$c_{1,v}(\mu s.K^{-1})$	3.7097×10^{-4}
$c_{2,v}(\mu s.K^{-2})$	2.3682×10^{-7}
r^2	1
$\sigma(\mu s)$	1.2686×10^{-5}
AARD (%)	2.2479×10^{-4}
AAD(μs)	8.8000×10^{-6}
Água(τ_w)	
$c_{0,w}(\mu s)$	4.3574
$c_{1,w}(\mu s.K^{-1})$	-3.5508×10^{-3}
$c_{2,w}(\mu s.K^{-2})$	1.3017×10^{-5}
$c_{2,w}(\mu s.K^{-2})$	-1.3972×10^{-8}
r^2	0.9995
$\sigma(\mu s)$	0.0002

AARD%	3.6314×10^{-3}
AAD(μs)	1.4900×10^{-4}
$AARD\% = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \left \frac{\tau_i^{cal} - \tau_i^{exp}}{\tau_i^{exp}} \right \quad AAD(\mu s) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \tau_i^{cal} - \tau_i^{exp} $	

Na Figura 16 são representados os valores experimentais (τ) registados para o período em vácuo e os calculados pela equação [12] (τ_{cal}). Observa-se boa concordância entre valores experimentais e calculados com a equação [12]. Na Figura 17 se representam os desvios absolutos entre os valores experimentais do período de oscilação do vácuo e calculados pela equação [12] em função da temperatura. Pode-se observar que a maioria dos valores das diferenças ($\tau_{cal} - \tau$) estão dentro dos limites de $AAD = 8.8 \times 10^{-6} \mu s$ referido na Tabela 7. Este valor é próximo ao valor da incerteza padrão $u(\tau) = 1.5 \times 10^{-5} \mu s$ indicado na Tabela 4.

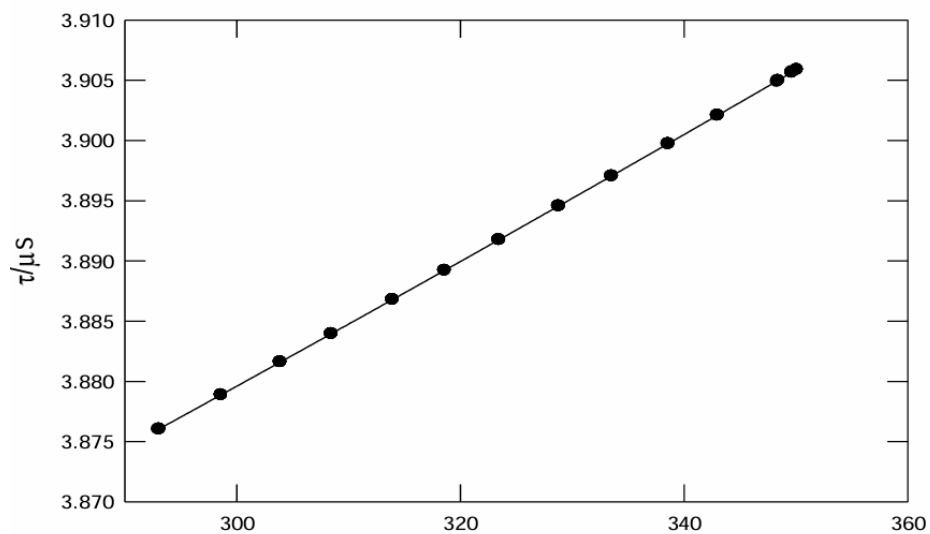


Figura 16. Período de oscilação em vácuo (τ) experimentais e calculados (τ_{cal}) pela equação [12].

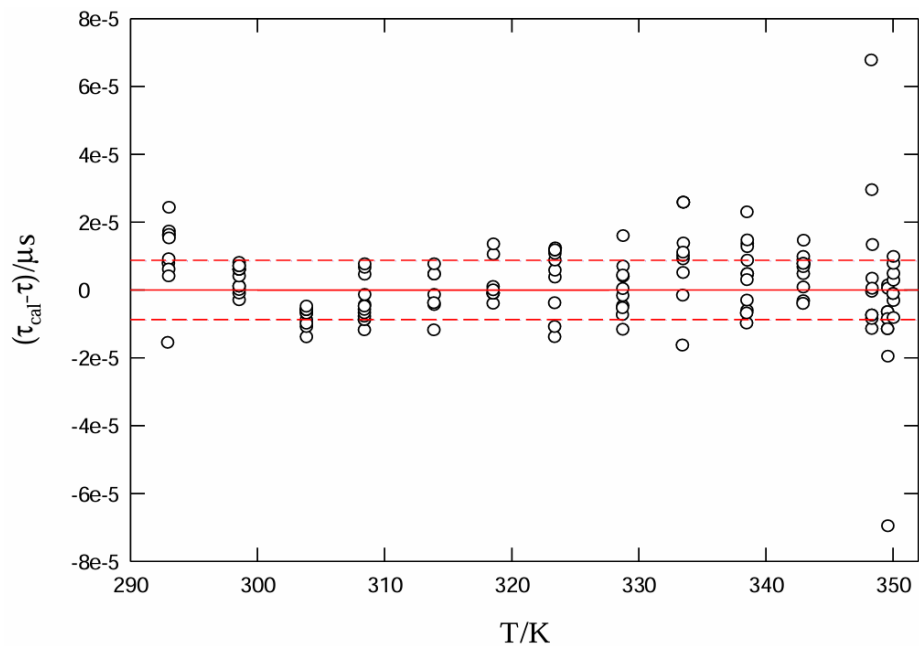


Figura 17. Desvios absolutos entre o período de oscilação em vácuo experimental (τ) e calculados (τ_{cal}) pela equação [12] em função da temperatura. As linhas a tracejado de cor vermelha representam o valor de AAD.

Os valores da função $B(T)$ foram calculados pela equação [10] usando os dados indicados na Tabela 4 e 5, indicam-se na Tabela 6 e representam-se na Figura 18.

Tabela 6. Valores de B em função da temperatura T .

T (K)	B (kg.m⁻³)	T (K)	B (kg.m⁻³)
298.33	9103.73	323.49	9084.07
298.38	9103.76	323.49	9084.07
298.43	9103.71	328.44	9078.61
298.41	9103.73	328.41	9078.71
298.41	9103.73	333.49	9073.89
303.48	9102.84	333.46	9073.88
303.46	9102.87	333.46	9073.88
303.43	9102.81	338.41	9070.58

303.43	9102.81	338.41	9070.58
308.82	9099.52	338.41	9070.58
308.82	9099.52	343.31	9069.01
308.80	9099.54	343.33	9069.05
308.77	9099.57	343.33	9069.05
313.54	9095.23	348.46	9069.88
313.54	9095.23	348.46	9069.88
313.54	9095.23	348.46	9069.88
313.54	9095.23	348.46	9069.88
319.03	9089.20	353.05	9073.28
319.00	9089.22	353.02	9073.29
319.00	9089.22	353.26	9073.50
323.46	9084.09	353.26	9073.50
323.46	9084.09		

Da Figura 18 verifica-se que B é uma função decrescente em T com acentuado decréscimo na região de temperatura intermédia.

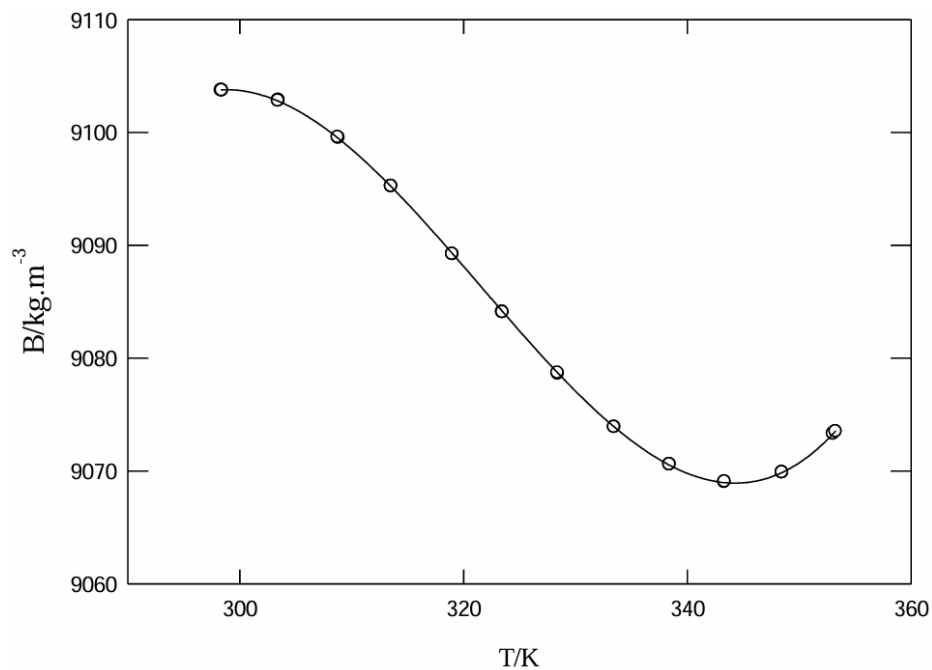


Figura 18. Parâmetro de calibração B em função da temperatura (T).

Para efeitos de cálculo da massa volúmica (ρ) de diferentes amostras a partir da curva de calibração dada pela equação [11], foi conveniente ajustar uma função polinomial na temperatura a $B(T)$. Considerou-se para o efeito a equação [13].

$$B(T) = \sum_{i=0}^{\infty} b_i T^i \quad [13]$$

Na Tabela 7 apresentam-se os coeficientes b_i da equação [13], bem como os respetivos indicadores estatísticos. Da Tabela 7 pode concluir-se que a equação [13] representa de forma excelente o parâmetro B da curva de calibração com $AARD = 5.5 \times 10^{-4}(\%)$ e $AAD = 0.051(\text{kg.m}^{-3})$.

Tabela 7. Coeficientes b_i da equação [13] e indicadores estatísticos.

Parâmetros	Valores
$b_0(\text{kg.m}^{-3})$	-15224.8
$b_1(\text{kg.m}^{-3}.\text{K}^{-1})$	229.119

$b_2(\text{kg.m}^{-3}.\text{K}^{-2})$	-0.7161
$b_3(\text{kg.m}^{-3}.\text{K}^{-3})$	7.4236×10^{-4}
r^2	1.0000
$\sigma(\text{kg.m}^{-3})$	0.05 kg.m^{-3}
AARD%	5.5×10^{-4}
AAD/(kg.m^{-3})	0.051
$^a \text{AARD\%} = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \left \frac{B_i^{\text{cal}} - B_i^{\text{exp}}}{B_i^{\text{exp}}} \right \quad ^b \text{AAD}(\text{kg.} m^{-3}) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N B_i^{\text{cal}} - B_i^{\text{exp}} $	

Na Figura 19 representam-se os desvios absolutos, entre os valores de B registados na Tabela 6 e os calculados pela equação [13] B_{cal} com coeficientes b_i da Tabela 7. Os desvios absolutos de B estão compreendidos na faixa definida por $\text{AAD} = 0.051 \text{ kg.m}^{-3}$ como podemos observar na Figura 19 a zona com os limites a vermelho e são geralmente inferiores a 0.1 kg.m^{-3} de uma forma geral.

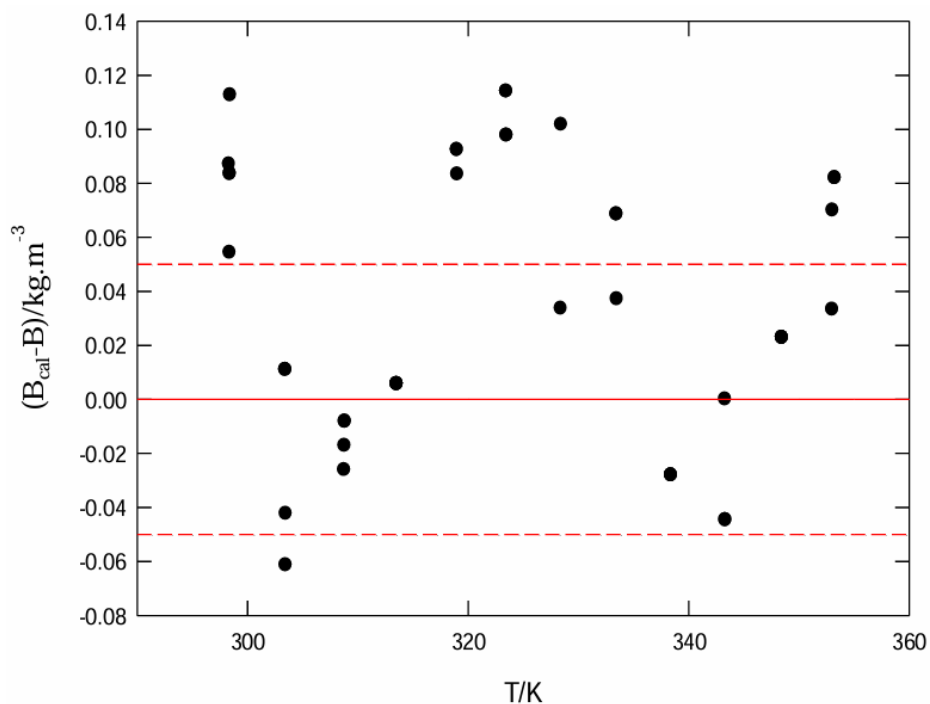


Figura 19. Desvios absolutos, entre os valores de B e os calculados B_{cal} , em função da temperatura (T). As linhas a tracejado de cor vermelha representam o valor de AAD.

Na Figura 20 apresentam-se os desvios absolutos para a massa volúmicada água calculada (ρ_{cal}) pela equação [11] e os valores de massa volúmica (ρ) da literatura (Kell 1975), (Tanaka et al. 2001) e («NIST» 2023). Pode observar-se que os desvios absolutos da massa volúmica caem na região 0.01 kg.m^{-3} no intervalo $298 \text{ K} < T < 353 \text{ K}$.

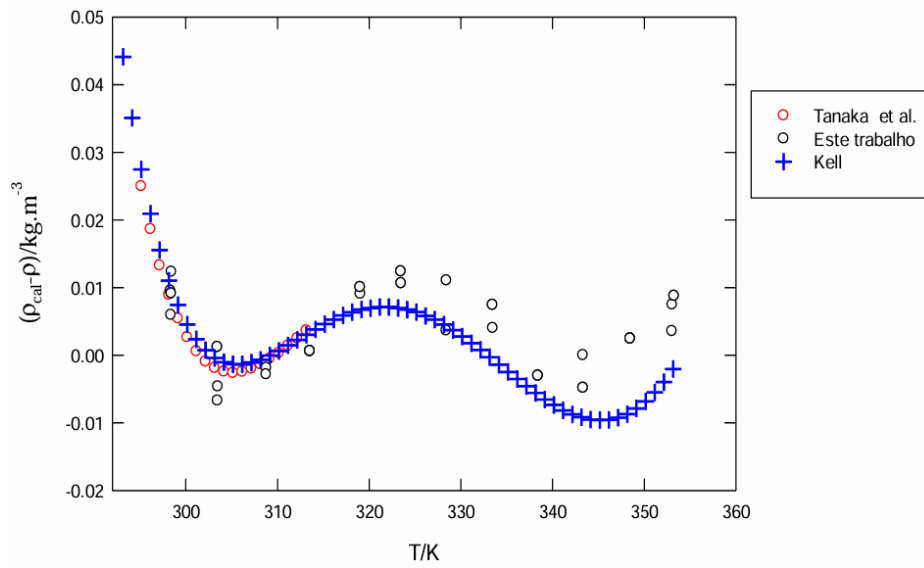


Figura 20. Desvios absolutos entre as massas volúmicap calculada pela equação [11] e os valores da literatura(Kell 1975), (Tanaka et al. 2001) e (NIST 2023)(ρ) em função da temperatura (T) para a água.

Resumindo a determinação da massa volúmicap, de uma amostra líquida à pressão atmosférica, para a qual se mede o período τ , a uma dada temperatura T é calculada pela equação [11] em que os valores de B e τ_v são determinados a partir das equações [12] e [13], com os coeficientes retirados das Tabelas 5 e 7, respetivamente.

4.3. INCERTEZA NA MASSA VOLÚMICA

A incerteza na massa volúmica medida foi avaliada conforme descrito em(BIPM 2023). A incerteza combinada é dada pela soma de várias parcelas através da equação [14].

$$u^2(\rho) = u_{\text{sistema}}^2 + u_{\text{calib}}^2 + u_{\text{refer}}^2 + u_{\text{impur}}^2 \quad [14]$$

onde u_{sistema}^2 , corresponde às incertezas devido a oscilações de temperatura dentro do densímetro, u_{calib}^2 corresponde às incertezas decorrentes do processo de calibração e relacionadas com aequação[11] usada na calibração, u_{refer}^2 é o termo de incerteza

relacionado com a massa volúmica do líquido de calibração (água) e u_{imp}^2 é a incerteza para a impureza do calibrante (a água).

A contribuição u_{sistema}^2 é dada por:

$$u_{\text{sistema}}^2 = \left(\frac{\partial \rho}{\partial T}\right)^2 u^2(T) = (\alpha_p \times \rho)^2 u^2(T) \quad [15]$$

onde α_p é a expansividade térmica da água.

Como mencionado anteriormente, a incerteza da expressão $u(T)=0.13$ K. A expansividade térmica α_p da água no intervalo de temperatura deste trabalho foi calculada a partir dos dados da massa volúmica utilizados na calibração do sistema, obtidos do («NIST» 2023). Da equação [15] resulta o valor médio $u_{\text{sistema}}^2 = 0.04 \text{ kg}^2 \cdot \text{m}^{-6}$ na região de temperatura $298 \text{ K} < T < 353 \text{ K}$ para água. Para o ar será aproximadamente nula dado que neste caso $\rho = 0 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$.

O termo de incerteza de calibração u_{calib}^2 foi calculado considerando a lei de propagação dos erros aplicada a equação [11].

Assim, a contribuição u_{calib}^2 , é:

$$u_{\text{calib}}^2 = \left[\left(\frac{\partial \rho}{\partial B}\right)^2 u^2(B) + \left(\frac{\partial \rho}{\partial \tau}\right)^2 u^2(\tau) + \left(\frac{\partial \rho}{\partial \tau_v}\right)^2 u^2(\tau_v)^2\right] + \left(\frac{\partial \rho}{\partial T}\right)^2 u^2(T) \quad [16]$$

onde

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial B}\right)_{\tau, \tau_v} = \left(\frac{\tau_v^2}{\tau^2} - 1\right) \quad [17]$$

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial \tau}\right)_{B, \tau_v} = \frac{2B\tau}{\tau_v^2} \quad [18]$$

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial \tau_v}\right)_{B, \tau} = -\frac{2B\tau^2}{\tau_v^3} \quad [19]$$

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial T}\right) = \left(\frac{\partial \rho}{\partial B}\right)_{\tau, \tau_v} \left(\frac{\partial B}{\partial T}\right) + \left(\frac{\partial \rho}{\partial t}\right)_{B, \tau_v} \left(\frac{\partial t}{\partial T}\right) + \left(\frac{\partial \rho}{\partial \tau_v}\right)_{B, \tau} \left(\frac{\partial \tau_v}{\partial T}\right) [20]$$

Os três primeiros termos da equação [16] entre parêntesis retos, referem-se à influência da incerteza inerente à utilização das equações [12] e [13] na equação [11]. Por isso nestes termos foram utilizados como incertezas padrões estimadas: $u(T) = 0.13$, $u(B) = 0.05 \cdot \text{m}^{-3}$ (Tabela 7), $\sigma(\tau) = 2 \times 10^{-4}$ (Tabela 5) e $\sigma(\tau_v) = 1.3 \times 10^{-5}$ (Tabela 5). O último termo na equação [16] refere-se á influência da incerteza da temperatura no cálculo da massa volúmica pela equação [11]. Inserindo todos os termos anteriores na equação [16], obtém-se o valor $u_{calib}^2 = (0.97)^{2.2} \cdot 10^{-6}$, com variações muito pequenas (da ordem de $2 \times 10^{-3.2} \cdot 10^{-6}$) em cada ponto (T, τ) , no intervalo de temperatura $298 < T < 353$ para água. Convém aqui referir que a maior contribuição para u_{calib}^2 é a do termo $(\partial \rho / \partial \tau)^2 u^2(\tau)$ da equação [16], esta é da ordem de u_{calib}^2 .

Na realidade espera-se que a contribuição u_{calib}^2 seja menor que o valor encontrado, dado que a incerteza $\sigma(\tau) = 2 \times 10^{-4}$ deve ser exagerada comparando com o valor $\sigma(\tau_v) = 1.3 \times 10^{-5}$. Como referiu-se no caso da água, o banco de dados («NIST» 2023) foi usado para os dados de massa volúmica necessários para a calibração. Os dados do («NIST» 2023) são baseados na formulação IAPWS-95 (Wagner e Prüss 2002) cuja incerteza de massa volúmica é de 0.0001% à pressão atmosférica e temperaturas até 423 («NIST» 2023) (correspondente a desvios na massa volúmica de $0.001 \cdot \text{m}^{-3}$). Consequentemente, u_{refer}^2 é da ordem de $1.0 \times 10^{-6.2} \cdot 10^{-6}$.

O efeito das impurezas na água para a incerteza na massa volúmica foi considerado como segue. Para a água, a pureza indicada apresentada na Tabela 4 inclui concentrações muito baixas de sais, permitindo concluir uma incerteza insignificante devido a

impurezas e desta forma $u_{impur}^2 = 0$. Finalmente, considerando todas as incertezas, a incerteza combinada máxima estimada da equação [14] é $u(\rho) = 0.98 \text{ kg.m}^{-3}$.

4.4. MASSA VOLÚMICA DO GLICEROL (SUBSTÂNCIA TESTE)

O glicerol é uma substância muito importante utilizado nas mais diversas áreas e a sua massa volúmica tem sido medida inúmeras vezes à pressão atmosférica.(Prieto et al. 2016), (Egas et al. 2021). Pode ser obtido com elevado grau de pureza até 99.9%(m/m) e deste modo dado o seu baixo custo, pode ser utilizado como calibrante de massa volúmica (já o é para índice de refração).Por isso decidiu-se medir a massa volúmica do glicerol num extenso intervalo de temperatura e como teste da curva de calibração da massa volúmica (equação [11]).

Na Tabela 8 apresentam-se os valores experimentais da massa volúmica para o glicerol, obtidos da curva de calibração a partir de dados (τ , R) (registados no Anexo D).

Tabela 8. Massa volúmica (ρ) do glicerol em função da temperatura (T).

T/K	$\rho/\text{kg.m}^{-3}$	T/K	$\rho/\text{kg.m}^{-3}$	T/K	$\rho/\text{kg.m}^{-3}$
298.22	1259.10	308.69	1252.60	323.77	1241.2
298.20	1259.30	308.69	1252.50	323.75	1241.3
298.22	1259.20	308.69	1252.50	323.75	1241.3
298.20	1259.30	313.56	1249.10	323.75	1241.3
298.22	1259.30	313.56	1249.00	323.75	1241.3
298.22	1259.30	313.54	1249.10	323.75	1241.3

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

$$u(T) = 0.13 \text{ K}; u(\rho) = 0.97 \text{ kg.m}^{-3}$$

Para descrever os valores da massa volúmicado glicerol ajustou-se a função polinomial, equação[21], cujos coeficientes d_i e indicadores estatísticos são dados na Tabela 9.

$$\rho / \text{kg} \cdot \text{m}^{-3} = \sum_{j=0}^2 d_j T^j \quad [21]$$

Verificando os valores do desvio padrão, de AARD e AAD da Tabela 9 pode concluir-se que a equação [21] traduz de forma excelente os resultados experimentais da massa volúmica do glicerol, os valores do desvio padrão e de AAD são inferiores à incerteza experimental.

Tabela 9. Coeficientes (d_i) da equação [21] e indicadores estatísticos.

Parâmetros	Valores
$d_0 \text{ (kg.m}^{-3}\text{)}$	1571.8448
$d_1 \text{ (kg.m}^{-3} \cdot \text{K}^{-1}\text{)}$	-1.3260
$d_2 \text{ (kg.m}^{-3} \cdot \text{K}^{-2}\text{)}$	9.4003×10^{-4}
r^2	0.9988
$\sigma \text{ (kg.m}^{-3}\text{)}$	0.4
AARD%	0.03
AAD (kg.m ⁻³)	0.4

$$AARD\% = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \left| \frac{B_i^{cal} - B_i^{exp}}{B_i^{exp}} \right| \quad AAD(kg.m^{-3}) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |B_i^{cal} - B_i^{exp}|$$

Na Figura 21 apresentam-se os valores demassa volúmica do glicerol traduzidos pela equação [21] (Eq. 19), os valores experimentais (Este trabalho) e valores selecionados de alguns autores (apresentados no Anexo E).

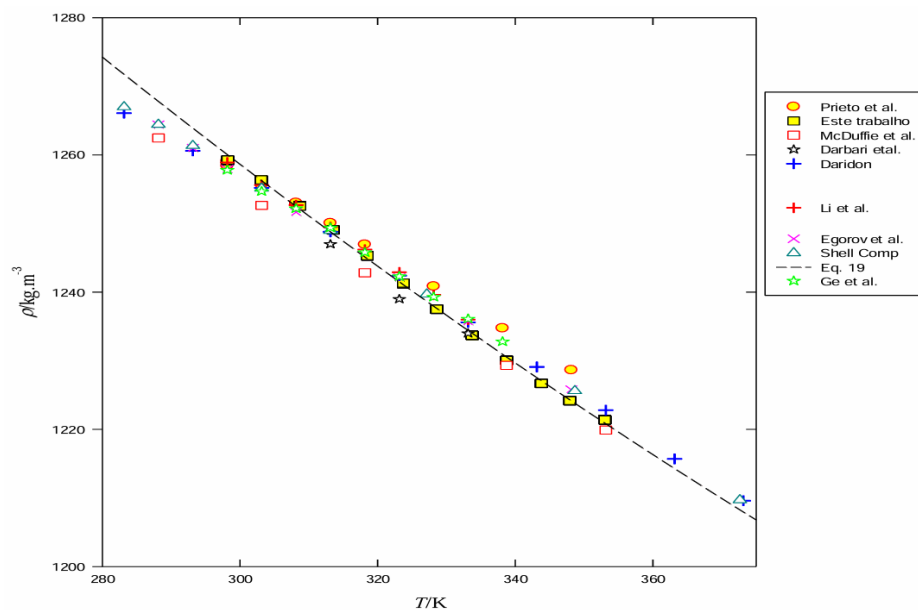


Figura 21. Comparação da massa volúmica do glicerol (ρ) dos valores obtidos neste trabalho com os da literatura em função da temperatura (T).

A Figura 22 representa os desvios relativos entre massa volúmica (ρ) calculada pela equação [21] e a calculada pelo conjunto de autores selecionados (ρ_{cal}). Da observação da Figura 22 pode concluir-se que existe um conjunto de autores (Khelladi et al. 2009), (Li, Su, e Wang 2007), (Egorov, Makarov, e Kolker 2013), (Koohyar et al. 2011), (Ge, Ma, e Chu 2010), (Kijevčanin et al. 2013) para os quais os desvios relativos entre os valores deste estudo e desses autores são essencialmente positivos de cerca 0.1% para o intervalo de temperatura entre 298K a 308 K passando depois a negativos da ordem de -0.1 % até 353.15 K. Estes desvios representam desvios absolutos até cerca de $1.2 kg.m^{-3}$.

Os valores de (McDuffie et al. 1969) apresenta desvios positivos decrescentes com a temperatura enquanto os de (Palani, Srinivasan, e Lakshmi 2011) de (Adamenko et al. 2006), (Prieto et al. 2016) exibem desvios negativos maiores que 0.2 % (maiores que 2.5 kg.m^{-3}) para temperaturas superiores a 320 K. Mesmo assim estes desvios não são exagerados, podendo afirmar-se que o valor da massa volúmica deste estudo concorda muito bem com a maioria dos valores da literatura em geral com desvios máximos de 1.5 kg.m^{-3} .

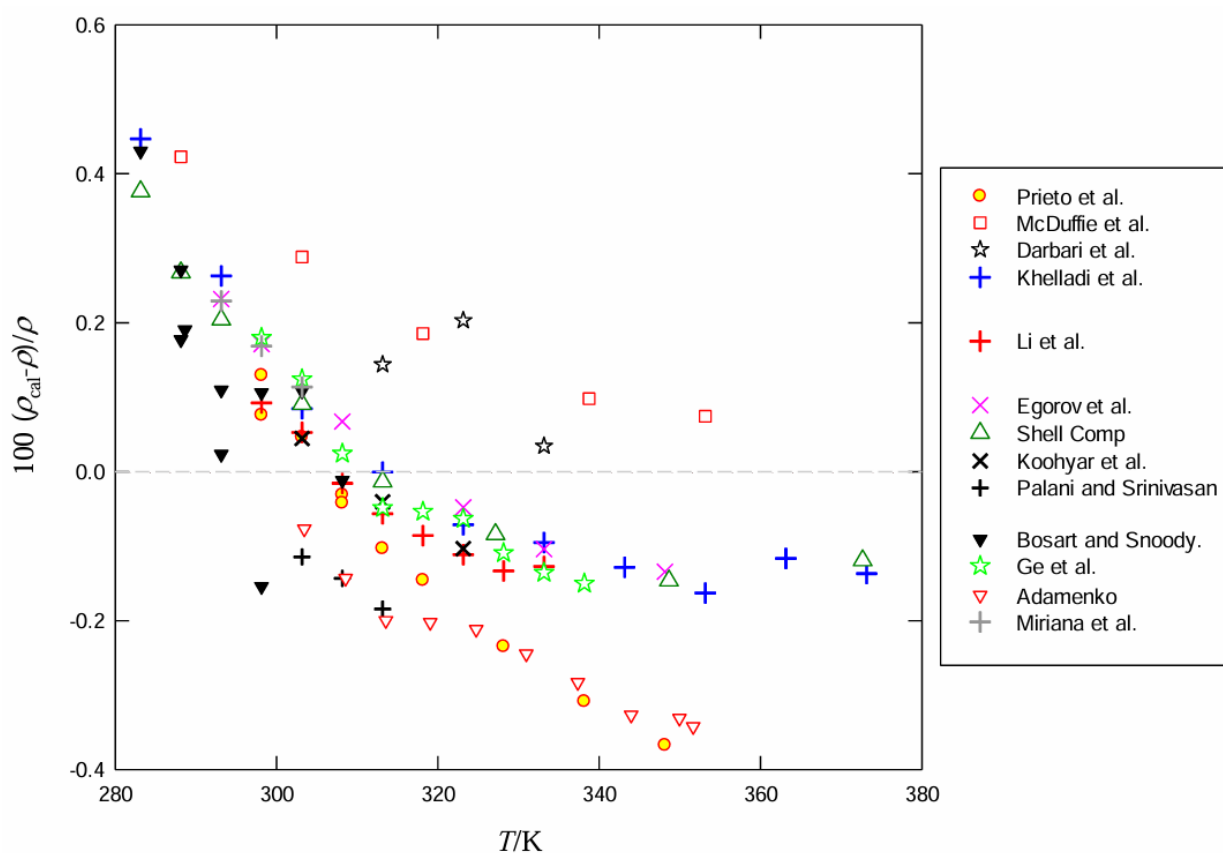


Figura 22. Desvios relativos entre a massa volúmica(ρ) calculada pela equação [19] e calculados pela literatura (ρ_{cal}) do glicerol em função da temperatura (T).

4.5. MASSA VOLÚMICA DAS SOLUÇÕES DO GMS

Após a calibração e teste do densímetro de tubo vibrante, procedeu-se ao registo dos períodos de vibração (τ) do tampão (no Anexo F) e das soluções aquosas de GMS no tampão (10 mM de fosfato de sódio com pH = 7) em função da resistência (R) com molalidades de

0.2546 (duas réplicas A1 e A2), 0.5219 (duas réplicas A1 e A2), 1.1006 (duas réplicas A1 e A2), 1,7477 e 2.4761 mol.kg⁻¹ (no Anexo G).

Amassa volúmica das soluções aquosas de GMS dissolvido no tampão (10 mM de fosfato de sódio com pH = 7) com molalidade acima referidas foram determinadas pela equação [11]. Em cada sistema(GMS+tampão) foram feitas determinações da massa volúmica entre as temperaturas de 298.15 K a 353.15 K. A cada temperatura foram efetuadas várias réplicas de massa volúmica registando-se aquelas que correspondiam a variações do período de vibração de cerca de 10 μ s (correspondendo a aproximadamente $\pm$ 0.05 kg.m⁻³).

Na Tabela 10 apresentam-se os resultados da massa volúmica(ρ) em função da temperatura (T) à pressão atmosférica para todos estes sistemas. Apenas apresentam-se os resultados da massa volúmica média e do respetivo desvio padrão para a temperatura média do conjunto das temperaturas de cada determinação. Cabe aqui recordar que a informação para massa volúmica do glutamato existente na literatura ainda é muito escassa, existindo apenas resultados à temperatura de 298.15 K(Suzuki et al. 2001).

Tabela 10: Massa volúmica(ρ) da solução tampão de fosfato de sódio e do GSM em solução tampão em função da temperatura (T) e da molalidade (m).

m (mol.kg ⁻¹)	T (K)	ρ (Kg.m ⁻³)	σ_ρ (Kg.m ⁻³)	m (mol.kg ⁻¹)	T (K)
0 (10mMfosf ato)	298.04	1002.36	0.03	1.1006/A1	298.3
	308.24	999.33	0.01		303.4

313.28	997.31	0.01	308.9
318.25	994.97	0.10	313.3
...	...	...	...

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

O registo dos períodos de vibração (τ) no tampão (10 mM de fosfato de sódio com pH = 7.2) em função da resistência (R) encontram-se representados no Anexo H. Com estes valores experimentais de período obteve-se os valores de massa volúmica do tampão registados na Tabela 10 e foram ajustados a uma equação polinomial, a equação [22].

$$\rho(\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}) = -2191.88 + 29.6898T(K) - 0.0906496T^2(K) + 9.05675 \times 10^{-5}T^3(K) [22]$$

a que corresponde $r^2 = 0.9998$ e desvio padrão $\sigma = 0.1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$.

A massa volúmica do tampão registada na Tabela 10 compara-se na Figura 23 com a massa volúmica da água com HPLC cujos valores do (NIST 2023) foram tomados como referência na calibração do densímetro.

Da Figura 23 observa-se que a massa volúmica da água com HPLC é inferior à da solução tampão na região de temperatura considerada. Os valores diferem entre $4 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ para as temperaturas intermédias 328 K a 348 K. Conclui-se que a adição de fosfato de sódio modifica ligeiramente a massa volúmica da água (cerca de 0.5 %).

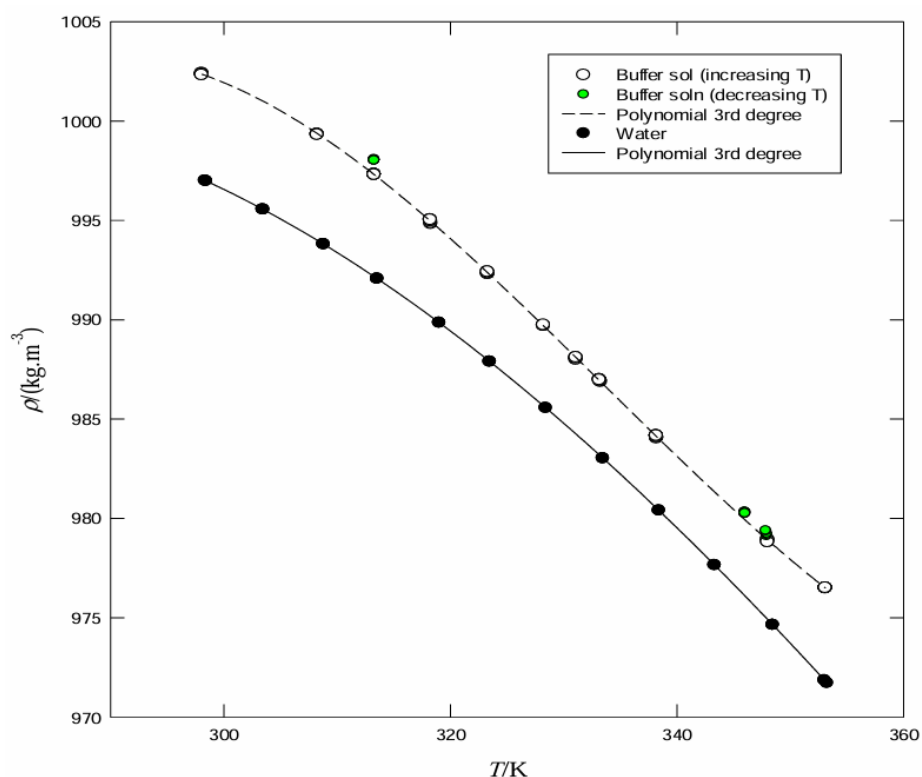


Figura 23. Massa volúmica (ρ) das soluções aquosas de tampão de fosfato e da água HPLC em função da temperatura (T).

Ajustou-se uma equação polinomial aos valores da massa volúmica do GMS apresentados na Tabela 10 em função da molalidade das soluções (m) e a temperatura (T) como variáveis independentes, expressa pela equação [23].

$$\rho(m, T) = \sum_{i=0} \sum_{j=0} \rho_{i,j} m^j T^i \quad [23]$$

Os coeficientes ρ_{ij} da equação [23] foram determinados pelo método de Levenberg-Marquardt com um grau de confiança de 95% e são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Coeficientes da equação [23] e parâmetros estatísticos relativos do ajustamento aos valores da massa volúmica da Tabela 13.

ij	Valor	r ²	$\sigma_{\rho}(\text{kg.m}^{-3})$	AARI
0,0	772.5840	0.9980	2.2	0.1

0,1	109.5090		
0,2	-9.7254		
1,0	2.0633		
1,1	-0.1522		

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Na Figura 24 faz-se a representação 3D da massa volúmica(ρ) do GMS em função de molalidade (m) e da temperatura(T). Os círculos a cheio representam os valores experimentais e a malha corresponde à superfície gerada pela equação [23].

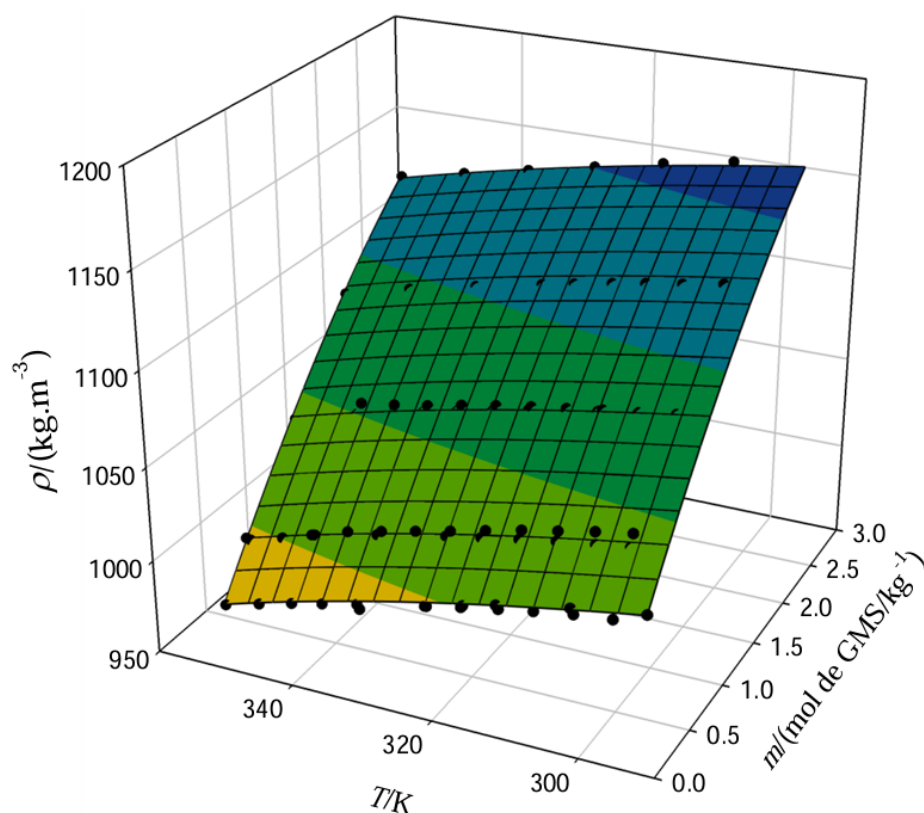


Figura 24. Representação 3D da massa volúmica das soluções de GMS em tampão (10 mM em fosfato de sódio com pH = 7) em função da temperatura (T) e da molalidade (m) de GMS.

Os valores experimentais da massa volúmica apresentados na Tabela 10 representam-se na Figura 25 onde também se comparam com os valores calculados resultantes da equação [23]. As linhas referem-se aos valores calculados com a equação [23].

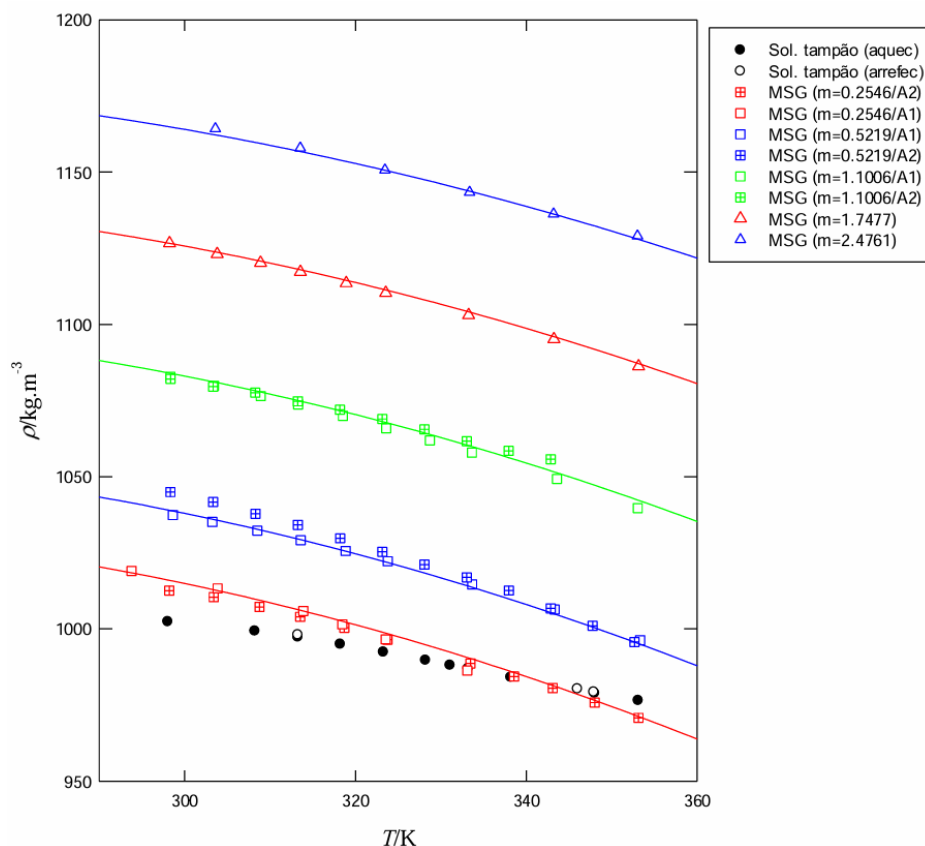


Figura 25. Massa volúmica das soluções aquosas de GMS (ρ) em tampão de fosfato para as variações de molalidade (m) em função da temperatura (T).

Da observação das Figuras 24 e 25 verifica-se que a massa volúmica é uma função suavemente quadrática na temperatura e na molalidade do sal. Ambas figuras reforçam o bom ajustamento da equação [23] aos valores experimentais da massa volúmica das soluções de GMS.

Para uma comparação mais rigorosa entre os valores experimentais (ρ) e calculados pela equação [23] (ρ_{calc}) apresentam-se na Figura 26, os desvios relativos (%) em função da temperatura (T) para as molalidades (m) de sal que foram testadas. Pode concluir-se que os

desvios relativos se situam na região definida pelo valor de $AARD=0.15\%$ para a maioria dos ensaios. Alguns desvios claramente fora desta tendência são observados para as segundas replicas com $m = 0.2546$ e $m=0.5219$ mol.kg⁻¹ na região de temperatura $T<343$ K.

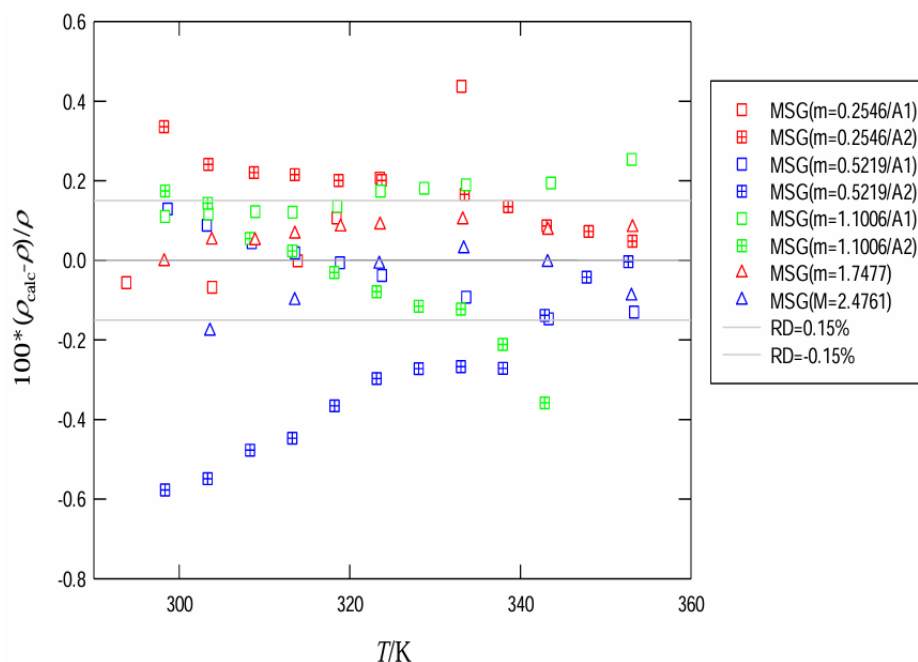


Figura 26. Desvios relativos percentuais da massa volúmica entre os valores experimentais(ρ) e calculada pela equação [23] (ρ_{calc}) das soluções de MSG em função da temperatura (T) para as variações de molalidade (m).

Suzuki et al. mediu a massa volúmica de GMS em soluções aquosas a 298.15 K à pressão atmosférica com um picnómetro tipo Ostwald (50cm³). Saliente-se que este é o único conjunto de resultados encontrado para a massa volúmica do GMS em soluções aquosas. Para a comparação dos valores da massa volúmica deste trabalho com os de Suzuki et al. a 298.15 K, procedeu-se ao ajustamento dos valores dessa propriedade referido na Tabela 10, a polinómios de terceiro grau na temperatura. Com esses polinómios calcularam-se os valores da massa volúmica a 298.15 K em função da molalidade(m). Estes valores foram depois ajustados a uma equação quadrática em (m), obtendo-se equação [24].

$$\rho(\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}) = 992.224 + 91.0387m - 8.15562m^2 \quad [24]$$

a que corresponde $r^2 = 0.994$ e $\sigma = 1.5 \text{ kg/m}^3$.

Na Figura 27 comparam-se os valores da massa volúmica (ρ) das soluções aquosas de GMS em tampão em função da molalidade (m) a 298.15 K deste trabalho com os que foram medidos por (Suzuki et al. 2001) à mesma temperatura, para soluções aquosas de GMS.

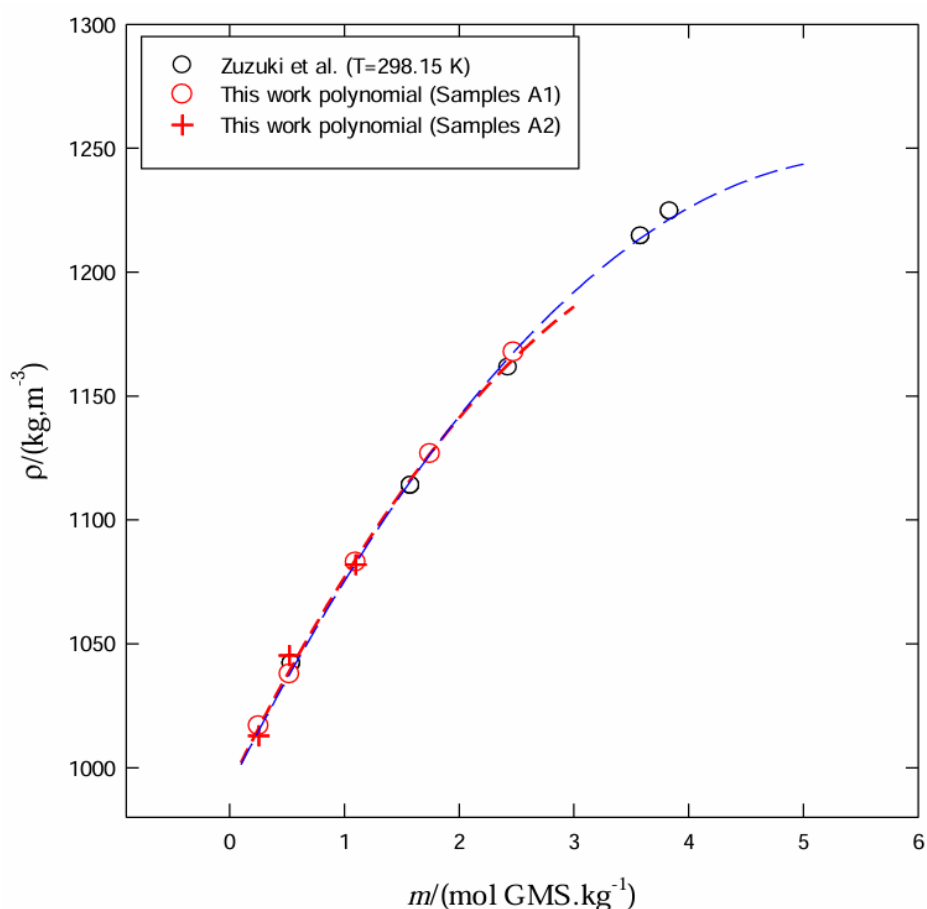


Figura 27. Comparação dos valores de massa volúmica(ρ) das soluções aquosas de GMS em tampão de fosfato, em função da molalidade(m) a 298.15 K deste trabalho com as medidas por Suzuki et al a mesma temperatura.

Como se pode verificar a concordância das massa volúmicas deste trabalho e as medidas por (Suzuki et al. 2001) é excelente. Os desvios mínimo e máximo são -0.06% (-0.6722 kg/m³) e 0.32% (3.7077 kg/m³) no intervalo de molalidade $0.54 \text{ mol.kg}^{-1} < m < 3.84 \text{ mol.kg}^{-1}$.

4.6. VOLUME MOLAR APARENTE DAS SOLUÇÕES DO GMS

Os volumes molares do GMS nas soluções de tampão foram calculados pela equação [25].

$$V_{\varphi} = \frac{M}{\rho} + \frac{1000\rho_0}{m\rho_0\rho} [25]$$

onde m é a molalidade da solução (mol. g^{-1}), ρ e ρ_0 são as massas volúmicas da solução de GMS e do tampão respetivamente (g.cm^{-3}) registados a uma dada temperatura e M designa a massa molar do soluto glutamato de sódio ($M=169.11 \text{ g.mol}^{-1}$).

Para cálculo dos valores da massa volúmica (ρ) das soluções de GMS utilizou-se a equação [23] dada a boa representação dos valores experimentais conseguida por esta equação enquanto para ρ_0 se calculam com a equação [22]. Na Tabela 12 mostram-se os valores do volume molar aparente do GMS nas soluções tampão de fosfato para as gamas de molalidade e temperatura experimentais.

Tabela 12. Volumes molares aparentes do GMS na solução tampão de fosfato determinados pela equação [25].

m (mol.kg^{-1})	T (K)	V_{φ} ($\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$)	m (mol.kg^{-1})	T (K)	V_{φ} ($\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$)
0.5219	298.15	83.3	0.5219	323.15	102.1
1.7477	298.15	87.1	1.1006	323.15	95.1
2.4761	298.15	87.8	1.7477	323.15	90.9
1.1006	298.15	89.6	2.4761	323.15	90.9
0.5219	303.15	87.8	0.5219	333.15	109.1

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Ajustou-se uma equação polinomial da forma descrita na equação [26] aos valores do volume molar aparente do GMS.

$$V_{\varphi}(m, T) = \sum_{i=0} \sum_{j=0} v_{i,j} m^j T^i \quad [26]$$

Os coeficientes v_{ij} da equação [26] foram determinados pelo método de Levenberg-Marquardt com um grau de confiança de 95% e são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Coeficientes da equação [26] e parâmetros estatísticos do ajustamento.

v_{ij}	Valor	r^2	$\sigma(\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1})$	AARD (%)	AAD($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)
$v_{0,0}$	710.8680	0.9848	1.3	0.9	0.8
$v_{0,1}$	-501.4030				
$v_{0,2}$	90.5735				
$v_{1,0}$	-5.1346				
$v_{1,1}$	4.3018				

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

A representação tridimensional dos valores do volume molar aparente(V_ϕ) em função de m e T é apresentada na Figura 28 onde os círculos a cheio representam os valores experimentais da Tabela 12 e a malha corresponde à superfície gerada pela equação [26]. Os indicadores estatísticos da Tabela 13 em particular os valores de AARD% e AAD e a malha 3D gerada na Figura 28 permitem concluir que a equação [26] consegue uma representação razoável do comportamento (m, T, V_ϕ) para as soluções de GMS.

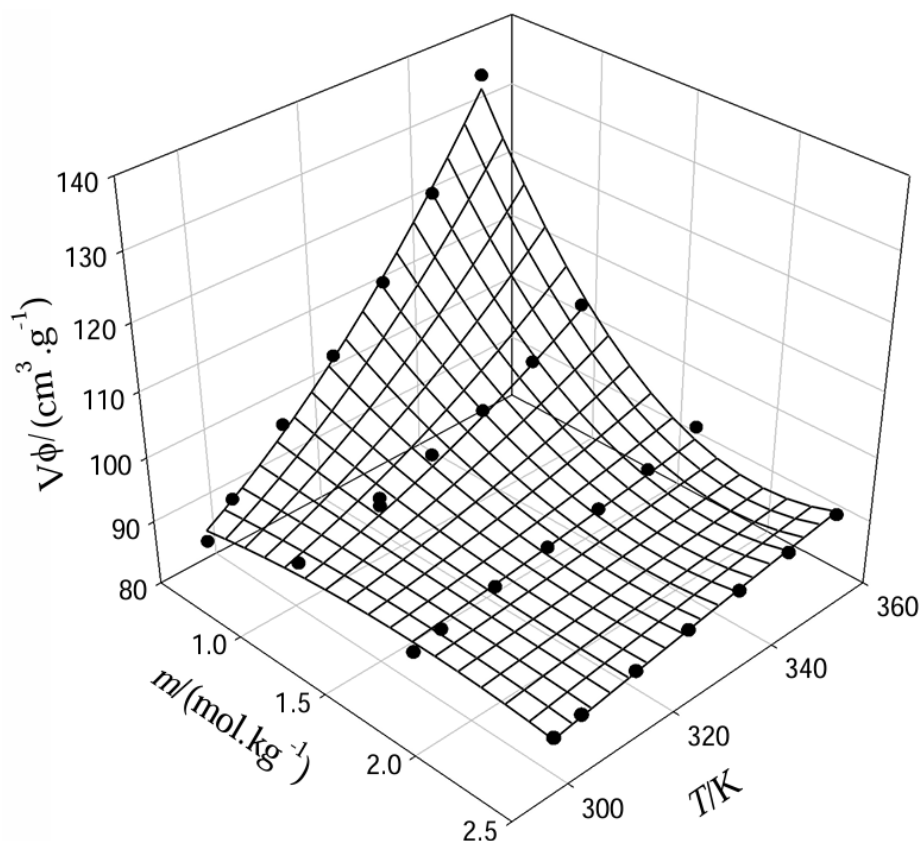


Figura 28. Representação 3D do volume molar aparente (V_ϕ) do GMS na solução tampão de fosfato em função da temperatura (T) e da molalidade (m).

Os valores registados na Tabela 12 foram comparados à temperatura de 298.15 K com os referidos por (Suzuki et al. 2001) na Figura 29. Pode verificar-se que os valores deste estudo estão em boa concordância com os de (Suzuki et al. 2001) que foram determinados para soluções aquosas. Apenas para os valores de $m=1.1006 \text{ mol.kg}^{-1}$ não se verifica tão bem a concordância.

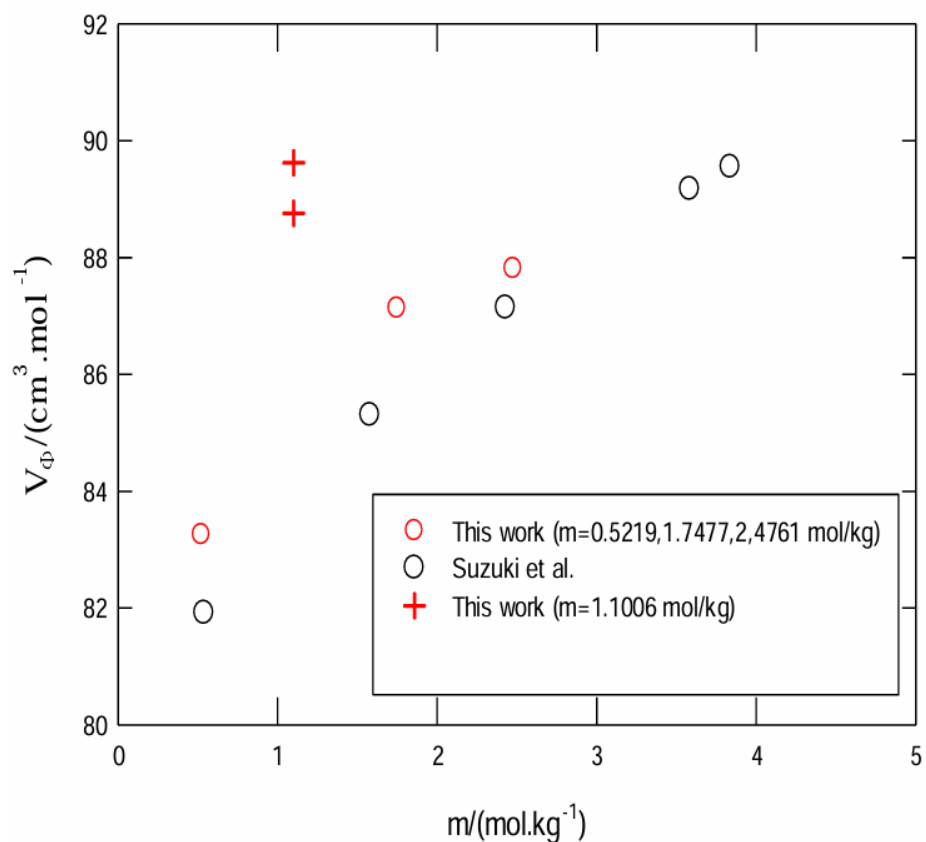


Figura 29. Volume molar aparente (V_ϕ) do GMS na solução tampão de fosfato de sódio (com pH= 7) em função da molalidade (m) à temperatura de 298.15 K comparados com os determinados por (Suzuki et al., 2001) para as soluções de sal.

Na Figura 30 representam-se os valores de V_ϕ do GMS nas soluções de tampão, em função da molalidade (m) para cada temperatura (T).

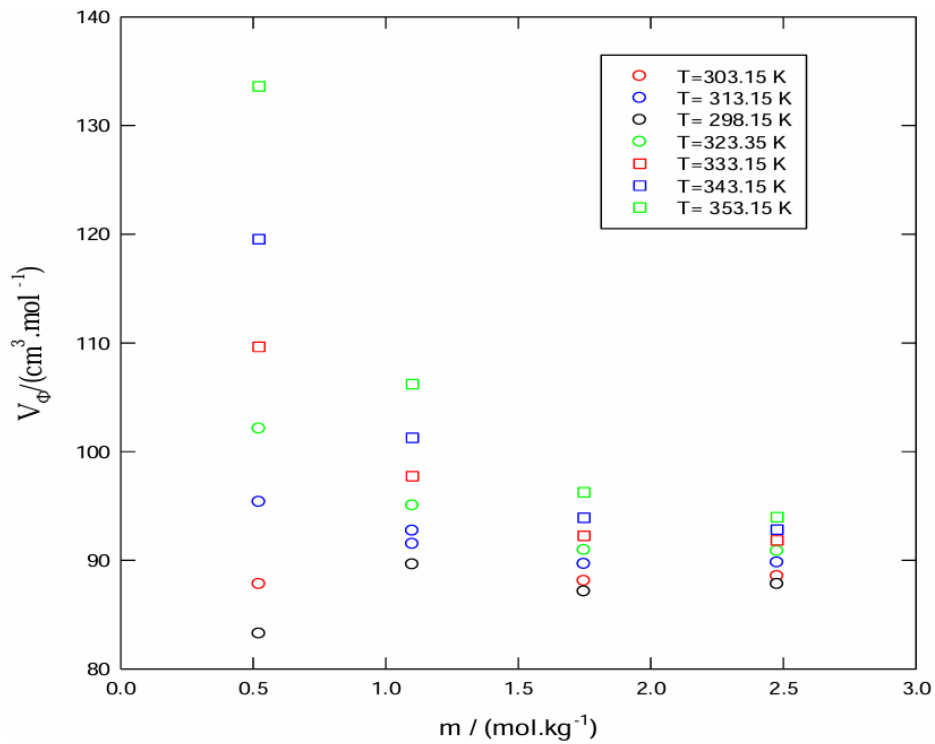


Figura 30. Volume molar aparente (V_ϕ) do GMS na solução tampão de fosfato em função da molalidade (m).

Observando as Figuras 29 e 30, verifica-se que o andamento do volume molar aparente do GMS em função da molalidade se altera sensivelmente para temperaturas superiores a 303.15 K. Abaixo deste valor de temperatura, V_ϕ aumenta com m enquanto para valores superiores a 303.15 K, V_ϕ diminui cada vez mais acentuadamente com m . Da Figura 30 observa-se que para molalidades superiores a 1.5 mol.kg⁻¹ os valores de V_ϕ não apresentam variação acentuada comparando com valores de molalidades inferiores a 1.5 mol.kg⁻¹.

A partir da equação [26] calculou-se o volume molar aparente a diluição infinita, V_ϕ^0 , também conhecido como volume parcial molar padrão. Da equação [26] facilmente se deduz que o volume molar aparente a diluição infinita, V_ϕ^0 , define-se pela equação [27].

$$(V_\phi^0) = \lim_{m \rightarrow 0} V_\phi(m, T) = \lim_{m \rightarrow 0} \sum_{i=0} \sum_{j=0} v_{i,j} m^j T^i (V_\phi^0) [27]$$

Como resultado da equação [27] o V_ϕ^0 do GMS define-se pela equação [28].

$$V_{\varphi}^0 (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}) = 710.868 - 5.135 T + 0.01014 T^2 \quad [28]$$

Os valores de V_{φ}^0 calculados pela equação[28] estão representados na Figura 31.

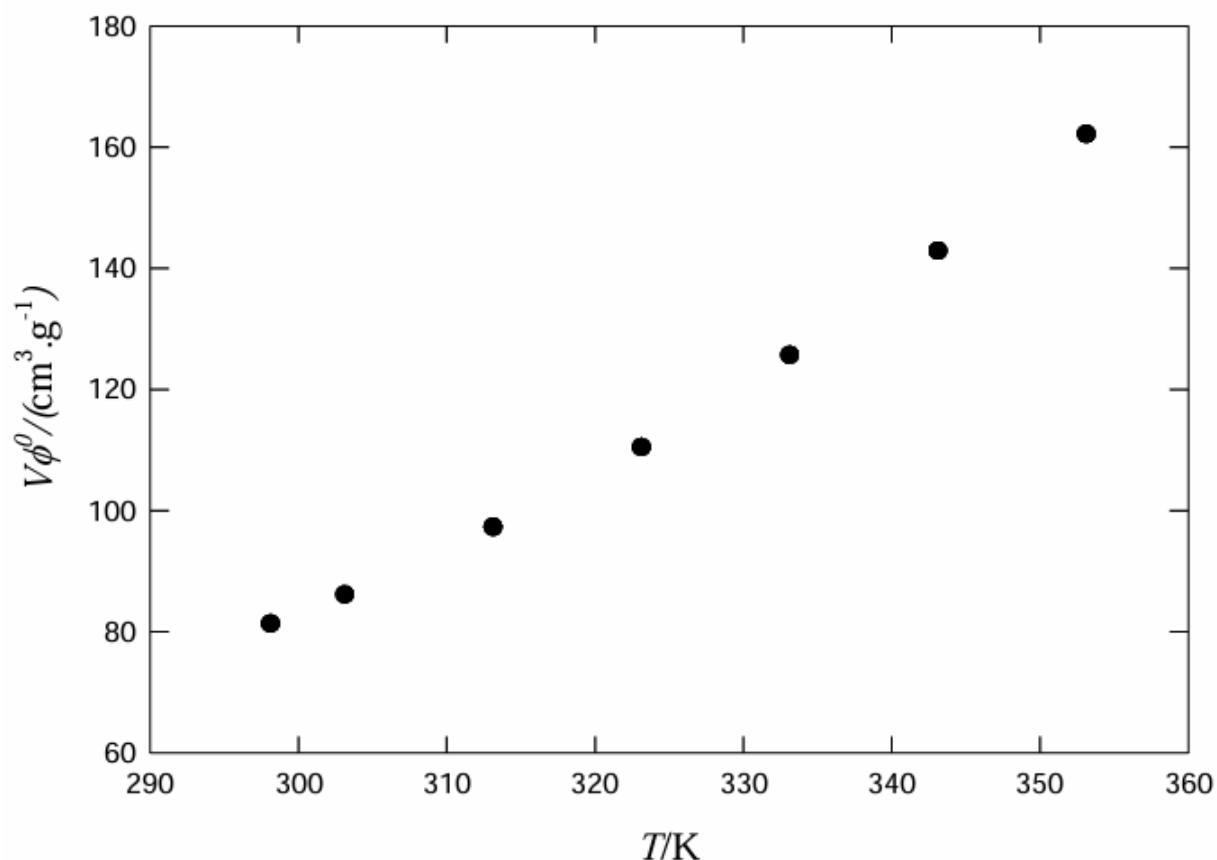


Figura 31. Volume molar aparente a diluição infinita (V_{φ}^0) das soluções de GMS em função da temperatura (T).

É reconhecido que o volume molar aparente de soluções aquosas a diluição infinita se torna idêntico ao volume parcial molar. Os valores de V_{φ}^0 são influenciados pela água perto dos aniões do GMS e pelos cátions sódio existentes, e essa água não tem o mesmo volume molar que a água pura. O comportamento observado na Figura 30 e 31 poderá ser em parte devido às espécies do ácido glutâmico prevalentes nas condições de pH das soluções pelas razões discutidas na introdução (ver secção 2.3, páginas 13 e 14). Por este motivo determinou-se a variação de pH com a concentração de GMS na solução tampão. Os valores apresentam-se na Tabela 14.

Tabela 14. Variação do pH das soluções de GMS com a concentração do sal (em molaridade).

Solução	PH (medido a T = 25 °C)	
	1ª Medição	2ª Medição
2 M	6.90	6.92
1.5 M	6.86	6.85
1 M	6.82	6.82
0.75 M	6.81	6.81
0.5 M	6.82	6.82
0.25 M	6.89	6.89
0.1 M	7.02	7.03
tampão	7.20	7.21

Como se mostra na Tabela 14 os valores de pH da solução tampão não diferem muito entre si com o aumento de concentração das soluções de GMS de 0.1M para 2M (ou seja, nas condições de concentrações das soluções testadas). Nota-se, no entanto, a tendência de diminuição do pH com o aumento de concentração da solução relativamente ao valor inicial de pH da solução tampão (pH=7.2). Tendo que a variação máxima relativamente a este valor ocorre para a solução de 0.75 M em GMS (variação de 5.5%). De qualquer modo para os valores de pH em toda a gama de concentrações de GMS a espécie aniônica existente é a apresentada (Moldovan et al. 2021) na Figura 32.

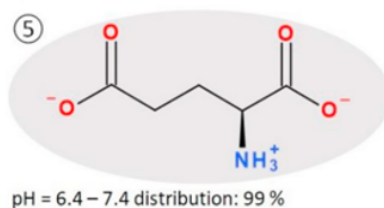


Figura 32. Espécie aniônica do ácido glutâmico prevalecente nas condições das soluções de GMS. Adaptado de (Moldovan et al., 2021).

Desta forma será de esperar interações atrativas de Coulomb com energia apreciável entre as deferentes espécies aniônicas do GMS e entre estas espécies com os dipolos circundantes da água gerando uma possível camada (ou camadas) de solvatação. Dada a existência de espécies aniônicas de GMS e catiónicas do Na^+ , ilustrada na Figura 32 em interação temos um quadro muito complexo difícil de avaliar. Podem tirar-se algumas conclusões através da determinação da expansividade molar aparente $(\partial V_\varphi^0 / \partial T)_p$ e da sua segunda derivada $(\partial^2 V_\varphi^0 / \partial T^2)_p$. A primeira derivada da equação[28] é a equação [29].

$$(\partial V_\varphi^0 / \partial T)_p = -5.135 + 2.0279 \times 10^{-2} T \text{ [29]}$$

esta equação corresponde a valores positivos de $(\partial V_\varphi^0 / \partial T)_p$, o que de acordo com os estudos encontrados na literatura sugere que com o aumento de temperatura se libertam moléculas de água da camada(s) de solvatação do glutamato de sódio contribuindo para um aumento ou diminuição do volume total do sistema, efeito mais importante às temperaturas mais elevadas já que expansividade molar aparente aumenta com o aumento de temperatura (embora este aumento seja porventura exagerado). Quer dizer, a temperaturas elevadas as interativas entre a água e os aniões

glutamato são contrariadas mais facilmente que às temperaturas mais baixas a cerca de 303 K.

A análise da segunda derivada $(\partial^2 V_\varphi^0 / \partial T^2)_p$ utiliza a teoria de (Hepler 1969) segundo a qual $(\partial^2 V_\varphi^0 / \partial T^2)_p > 0$ corresponde a uma ação do soluto no sentido de apresentar uma natureza estruturante (o soluto desloca o estado equilíbrio no sentido da formação de aglomerados de água menos densos “structure making”) e quando $(\partial^2 V_\varphi^0 / \partial T^2)_p < 0$ o soluto manifesta uma ação de quebra de estrutura (“structure breaking”- aglomerados de água mais densos).

No caso do GMS, $(\partial^2 V_\varphi^0 / \partial T^2)_p = 0.02 \text{ m}^3 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ e deste modo, o glutamato será um soluto com tendência estruturante nas soluções aquosas de tampão de fosfato onde a água se aglomera em torno dos íons de glutamato. Resulta um aumento de densidade da água na sua vizinhança. Este carácter estruturante terá como protagonistas as espécies aniónicas do glutamato da Figura 32 existentes a $\text{pH} \approx 7$. Deve acrescentar-se que a teoria de (Hepler 1969) tem sido considerada como uma teoria aproximada.

4.7. MASSA VOLÚMICA DAS SOLUÇÕES DA LCOG

A massa volúmica das soluções aquosas de LCOG em tampão 10 mM de fosfato de sódio com $\text{pH} = 7.2$ foram determinadas no intervalo de 298 K a 353 K para as concentrações de proteínas de 2.27 mg.cm^{-3} , 4.65 mg.cm^{-3} e 8.38 mg.cm^{-3} . Para isso utilizou-se novamente a equação [11] conhecendo os valores dos períodos de vibração das soluções dados no Anexo I. Os resultados de massa volúmica obtidos apresentam-se na Tabela 15. Os coeficientes determinados pelo método de Lavenberg- Marquardt com um grau de confiança de 95% para a equação [23] são apresentados na Tabela 16.

Tabela 15. Massa volúmica(ρ) das soluções aquosas de lisozima em solução tampão em função da temperatura (T) e da molalidade (m).

$m(\text{mol.kg}^{-1})$	$T(\text{K})$	$\rho(\text{Kg.m}^{-3})$	$\sigma(\text{Kg.m}^{-3})$	$m(\text{mol.kg}^{-1})$	$T(\text{K})$
$m = 1.587 \times 10^{-4}$ $C = 2.27(\text{mg.cm}^{-3})$	298.17	1002.56	0.01	$m = 5.876 \times 10^{-4}$ $C = 8.38$ (mg.cm^{-3})	298.2
	303.37	1001.27	0.01		303.3
	308.74	999.45	0.03		308.2
	313.52	997.49	0.01		313.2
	318.67	995.16	0.01		318.2

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Tabela 16. Coeficientes da equação [23] e parâmetros estatísticos relativos do ajustamento aos valores da massa volúmica da Tabela 18.

ρ_{Pi}	Value	r^2	$\sigma_{\rho}(\text{kg.m}^{-3})$	AARD%	AAI
$\rho_{P0,0}$	953.623	0.9959	0.6	0.05	
$\rho_{P0,1}$	-180975.4065				
$\rho_{P1,0}$	0.674364				
$\rho_{P1,1}$	1319.1029				
$\rho_{P2,0}$	-0.0017190				

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Na Figura 33 encontram-se representados os valores experimentais de ρ para as molalidades m medidas. Representam-se também em linhas continuas os valores calculados pela equação [23]. Observa-se na Figura 33 que aproximadamente a 335 K os valores da massa volúmica para a solução de maior concentração de proteína, $C=8.38 \cdot \text{cm}^{-3}$, são menores do que para as soluções de menor concentração mesmo até que a solução tampão, facto que em princípio não seria esperado. Nesta região de temperatura ocorre ainda uma inversão de massa volúmicas para as soluções com $C=2.27 \cdot \text{cm}^{-3}$ e $C=4.65 \cdot \text{cm}^{-3}$, cabe aqui referir que se esperava nesta região espera-se a ocorrência de fenómenos de desnaturação. Espera-se também que estas ocorrências influenciem significativamente o cálculo dos volumes molares aparente das soluções aquosas de proteína no tampão através do termo $(1000 / m)^{(\frac{\tau_o - \tau}{\tau_o \tau})}$ da equação [25].

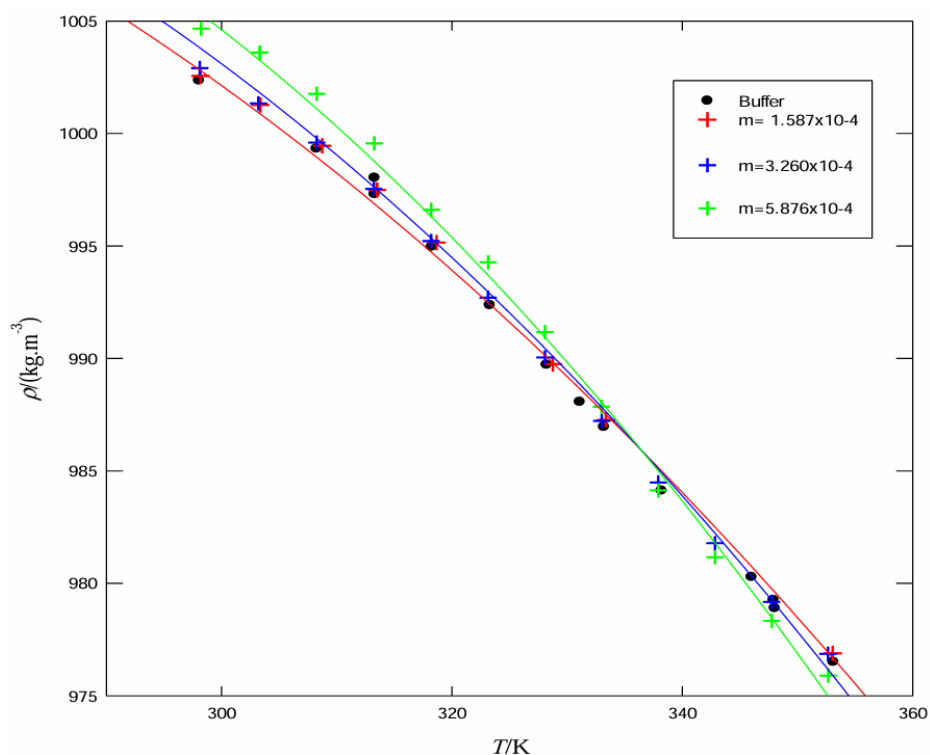


Figura 33. Massa volúmica(ρ) das soluções aquosas de LCOG em tampão de fosfato em função da temperatura (T).

Na Figura 34 mostram-se os desvios relativos percentuais entre os valores experimentais (ρ) e calculados (ρ_{calc}) com equação [23] e os coeficientes da Tabela 16 em função da temperatura para as molalidades de sal que foram testadas. Como se pode concluir os desvios relativos estão situados na sua maior parte na região definida pelo valor de $AARD=0.05\%$ para todos os ensaios. É interessante verificar que as curvas de desvio apresentam uma forma senoidal o que não acontece com as curvas que se observam na Figura 26 para os desvios relativos às soluções de GMS.

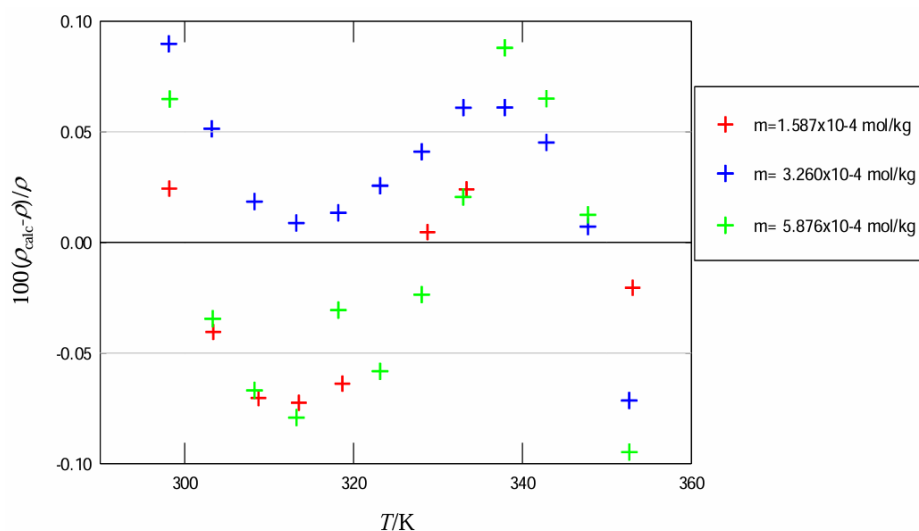


Figura 34. Desvios relativos percentuais da massa volúmica entre valores experimental (ρ) e os calculados (ρ_{calc}) com a equação [23] para as soluções aquosas de LCOG em função da temperatura (T). As linhas a cinzento correspondem a AARD% (Ver Tabela 16).

Na Figura 35 faz-se a representação 3D da massa volúmica(ρ) das soluções aquosas de LCOG no tampão de 10 mM de fosfato de sódio em função de m e T. Os círculos representam os valores experimentais e a malha corresponde à superfície gerada pela equação [23]. Comparando a localização dos valores experimentais no espaço (m , T, ρ) com a superfície correspondente à equação [23] pode-se concluir-se que a equação fornece uma representação razoável dos valores experimentais.

Verifica-se que a equação [23] consegue uma boa representação dos valores experimentais o que é evidenciado pelos baixos valores de AARD% e AAD da Tabela 16, neste caso mesmo até inferiores aos registados na Tabela 11 relativa às soluções de GMS.

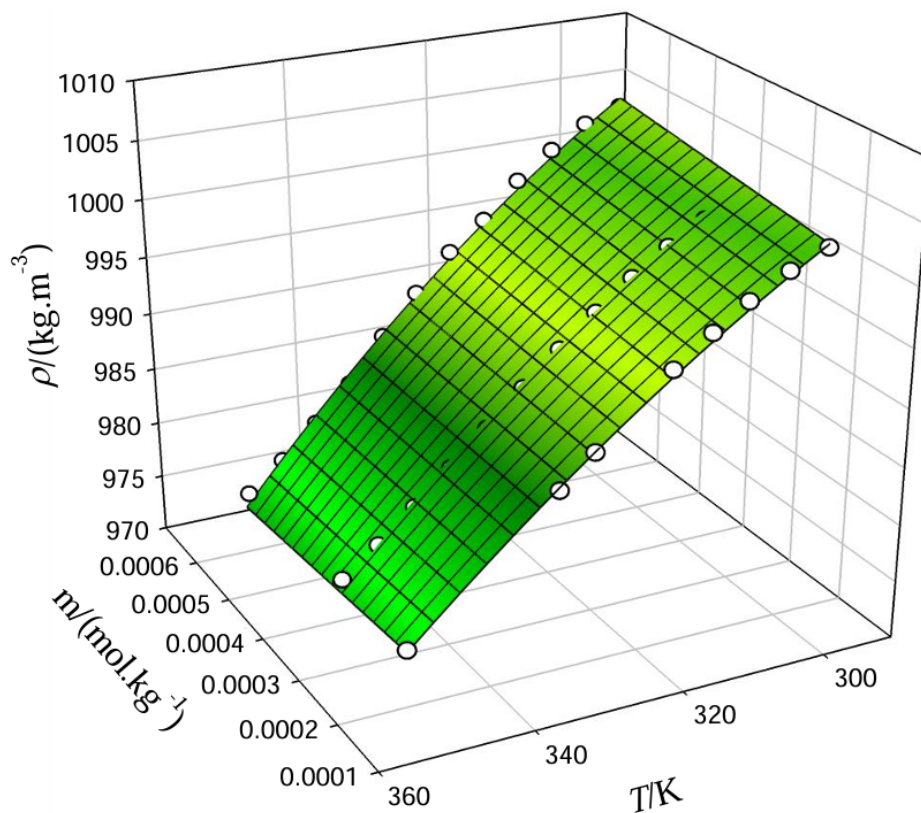


Figura 35. Representação 3D da massa volúmica das soluções de LCOG em tampão de fosfato de sódio em função da temperatura (T) e da molalidade (m).

4.8. VOLUME MOLAR APARENTE DAS SOLUÇÕES DA LCOG

Na literatura podem ser encontrados alguns, embora poucos, valores do volume parcial molar da lisozima quer em água quer em solução tampão. (Millero, Ward, e Chetirkin 1976) mediu a massa volúmica para soluções aquosas de lisozima a 20°C no intervalo de fração molar de lisozima de 0.05×10^{-2} a 1.08×10^{-2} e a 25°C e 30 °C no intervalo de 0.05×10^{-2} a 0.17×10^{-2} . Outros autores determinaram os valores de volumes molares aparentes a partir das massas volúmicas: (Jirasek et al. 2018) efetuaram medidas da massa volúmica de soluções de lisozima em soluções tampão de fosfato de sódio mono e dihidratado (pH=7.0), num densímetro de tubo vibrante Anton Paar DMA 5000M a 298.15 K e determinaram daqui valores de volumes molares aparentes (V_ϕ). (Chalikian et al. 1996) determinaram valores de V_ϕ para uma concentração de lisozima de 3 mg.cm^{-3} , em

soluções aquosas no intervalo 18 a 55 °C. (Son Ikbae, 2017) determinam valores de V_ϕ da LCOG em soluções tampão de fosfato de sódio a pH=7.0 no intervalo de temperatura 18, 25, 35 e 45 °C e para uma concentração de 6 mg.cm⁻³ de LCOG (num densímetro de tubo vibrante Anton Paar DMA 5000M). Alguns destes valores estão representados na Figura 36.

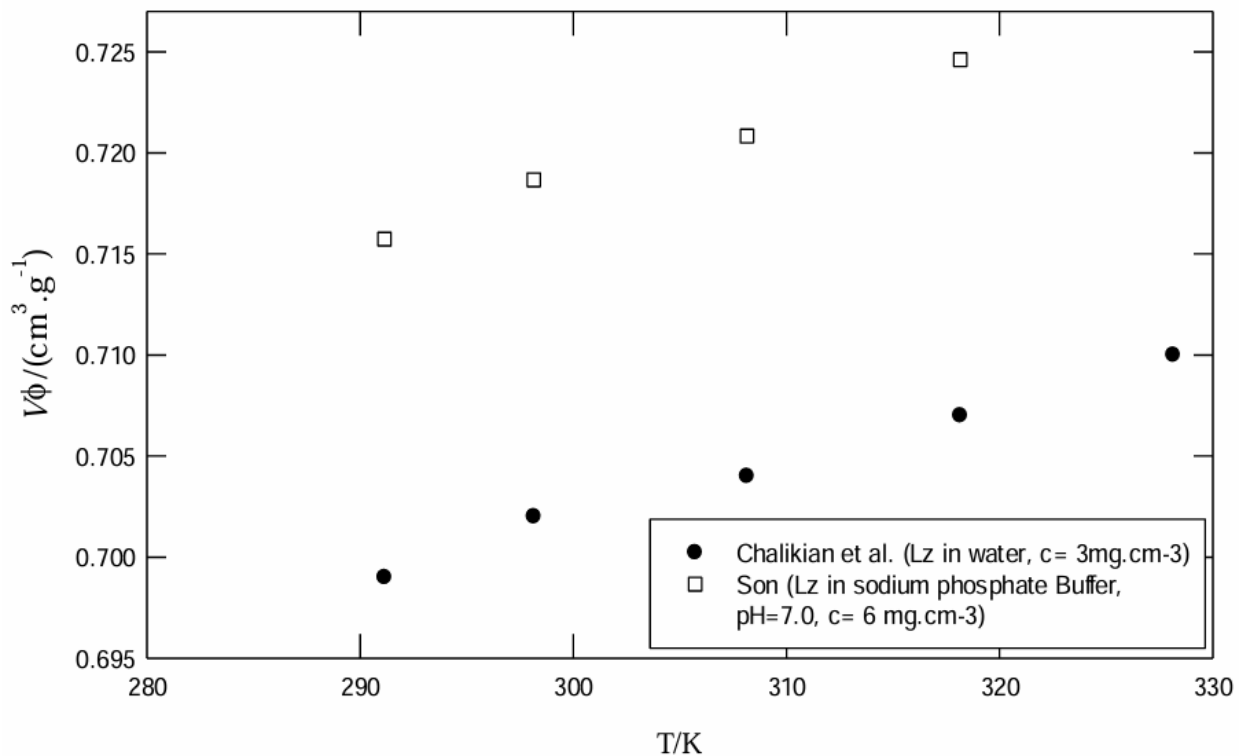


Figura 36. Volumes parciais específicos V_ϕ da LCOG em soluções aquosas em função da temperatura (T) selecionados da literatura.

Na Figura 36 não é evidente uma subida muito acentuada no volume molar aparente da LCOG com a temperatura, que é característica da desnaturação térmica da proteína pois os valores medidos situam-se abaixo da temperatura de desnaturação, $T_d = 344$ K (Li-Blatter e Seelig 2019).

Os volumes molares aparentes das soluções aquosas de LCOG nas soluções de tampão de fosfato de sódio foram calculados pela equação [25] onde ρ é neste caso a massa volúmica (medida) da solução de proteína para uma dada temperatura e molalidade e M

designa a massa molar da proteína (ou seja, o soluto, $M=14400 \text{ g.mol}^{-1}$). Nos cálculos foi utilizada novamente a equação [22] para descrever a massa volúmica da solução tampão de fosfato. Para a massa volúmica das soluções aquosas de LCOG utilizaram os valores experimentais registados na Tabela 15.

Tal como se pode verificar na Figura 37 as curvas de volume molar aparente da lisozima em função da temperatura relativas as concentrações ensaiadas são do tipo sigmodal, exibindo uma subida acentuada de V_φ a temperaturas superiores a 310 K a 320 K e estabilizando por volta dos 360 K. Todas mostram um comportamento típico da desnaturação térmica. Na primeira fase, observa-se um aumento ligeiro de V_φ com a temperatura, comportamento este que pode estar associado com a mudança do volume do estado nativo da lisozima devido à expansão térmica da proteína e ao aumento do volume da esfera de hidratação. Na segunda fase do gráfico $V_\varphi=f(T)$ (315 K a 350 K), observa-se um aumento muito maior do V_φ com a temperatura e este comportamento está relacionado com a desnaturação da proteína. A terceira e última fase resulta da expansão térmica da proteína desnaturada observando-se um notório decréscimo do V_φ com a T.

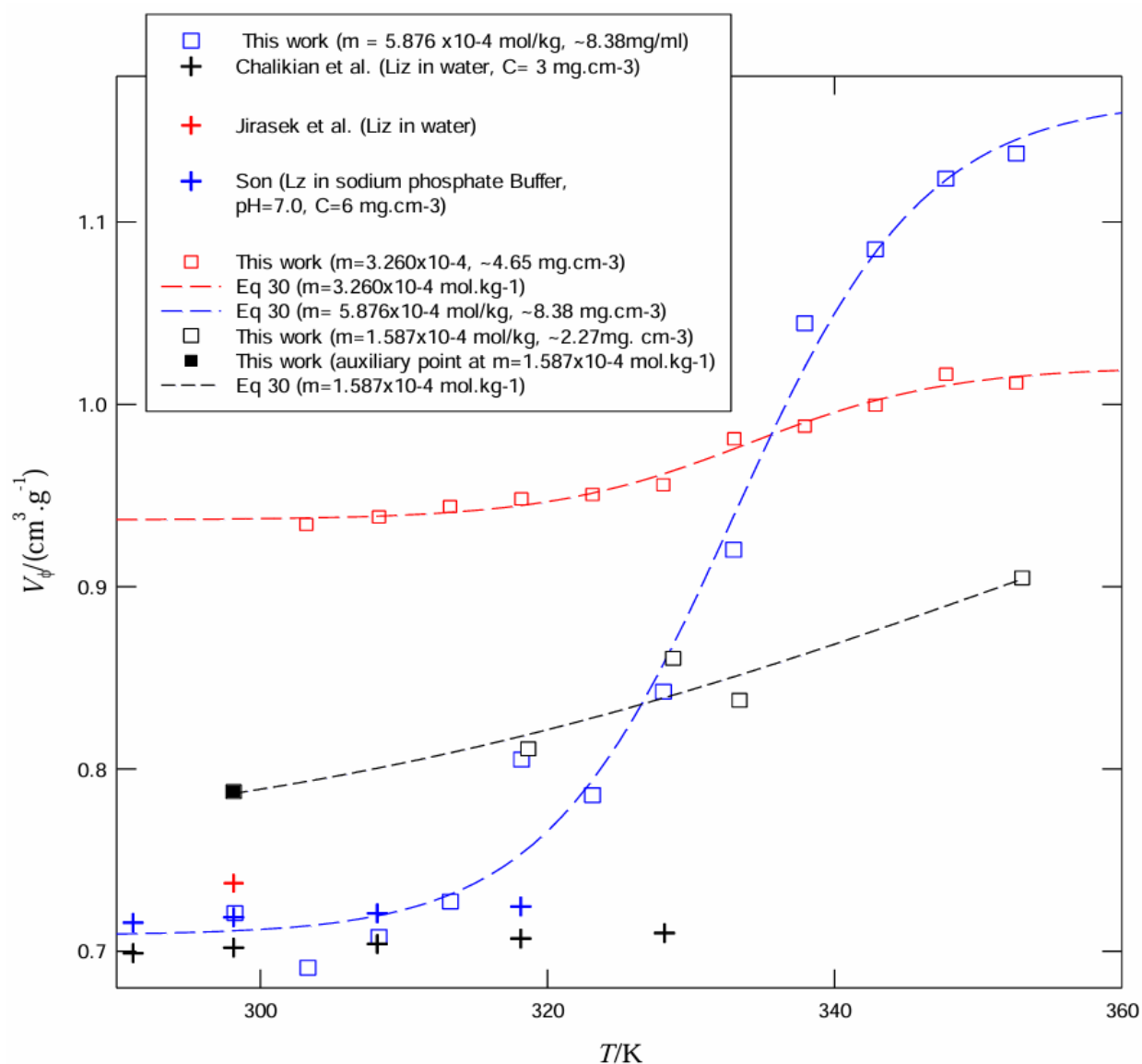


Figura 37. Volumes molares aparentes (V_ϕ) da LCOG na solução tampão de fosfato sódio (com pH = 7.2) em função da temperatura (T). Representam-se também valores selecionados da literatura, para comparação.

O mecanismo de desnaturação das proteínas induzido pela temperatura é altamente complexo e envolve principalmente a desestabilização das principais interações não covalentes. Em primeiro lugar, as interações por pontes de hidrogénio, eletrostáticas e de van der Waals são exotérmicas (classificadas como de natureza entálpica) sendo por conseguintes interações que são desestabilizadas a temperaturas elevadas e estabilizadas a baixa temperatura. No entanto, como as pontes de hidrogénio peptídicas nas proteínas estão principalmente situadas no seu interior, elas permanecem estáveis numa ampla faixa de temperatura. No caso da lisozima e com base nos resultados deste estudo a faixa de

temperatura da destabilização inicial poderá ser até 310-320 K correspondente à região de crescimento suave de V_ϕ com T. Em segundo lugar, as interações hidrofóbicas comandadas pela água circundante da proteína (água de solvatação) são endotérmicas (determinadas pela entropia) e, por conseguinte, as interações deste tipo são estabilizadas a alta temperatura e desestabilizadas a baixa temperatura. Portanto, à medida que a temperatura aumenta, as mudanças nas estabilidades desses dois grupos de interações não covalentes opõem-se. No entanto, a estabilidade das interações hidrofóbicas não pode aumentar infinitamente com o aumento da temperatura, porque acima de uma certa temperatura, a quebra gradual da estrutura da água acabará por desestabilizar as interações hidrofóbicas. Supõe-se que a intensidade das interações hidrofóbicas atinga um máximo a cerca de 60 - 70°C (correspondente à região 333a 343 K) ou seja a região onde se situa a temperatura de desnaturação da lisozima. Assim, no caso da lisozima, este facto será certamente influenciado pela destruição da estrutura da água de hidratação que envolve numerosas moléculas de água perto da superfície exposta da proteína que está carregada positivamente. Alguns estudos indicam que a massa volúmica da água na primeira camada de hidratação na região de temperatura cerca de 320 K é elevada, cerca de 15% superior á das regiões interiores da solução (bulk), longe da proteína.(Merzel e Smith 2002). É possível que a crescente destruição da estrutura de solvatação com o aumento de temperatura intensifique as repulsões entre resíduos e obrigue á exposição das partes mais internas ao solvente com subsequente destruição irreversível dessas regiões. À medida que a temperatura aumenta, o aumento da energia cinética térmica da cadeia polipeptídica facilita num grau importante o desdobramento da cadeia polipeptídica. A desnaturação de proteínas pelo calor também depende dos aminoácidos que

compõem as proteínas. As proteínas que contêm uma maior proporção de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos, especialmente de valina, isoleucina, leucina e fenilalanina, tendem a ser mais estáveis do que as proteínas mais hidrofílicas. Supõe-se que outros fatores, como ligações dissulfeto e a presença de pontes salinas do interior da proteína, também possam contribuir para a termoestabilidade. No caso da lisozima os aminoácidos mais hidrofóbicos representam apenas cerca de 23 % do total (ver no Anexo A). De acordo com a hidropatia, as hélices α mostram algum caráter hidrofóbico enquanto as folhas um caráter exclusivamente hidrofílico. Dado que a lisozima tem caracter mais hidrofílico que hidrofóbico, a exposição às moléculas de água contribuirá provavelmente para a desnaturação mais rápida.

As proteínas podem ser desnaturadas ao nível das estruturas secundária, terciária e quaternária, mas não no nível primário já que nesta última estrutura, a sequência de aminoácidos é mantida coesa por ligações peptídicas covalentes que não são rompidas pelo processo de desnaturação. Já na influência da desnaturação ao nível da estrutura secundária, as proteínas perdem as unidades de repetição como as hélices α e folhas β e adotam uma configuração onde estas formações se apresentam distribuídas de forma mais ou menos aleatória. Esta situação é determinada em larga medida pela ruptura das ligações de H existente entre aminoácidos de fragmentos diferentes na hélice α ou nas folhas β . A desnaturação ao nível da estrutura terciária envolve a interrupção de interações entre cadeias laterais de aminoácidos (como pontes dissulfeto entre grupos cisteína), de interações de van der Waals dipolo-dipolo entre aminoácidos polares de cadeias laterais e da água circundante, de van der Waals dipolo induzido, interações entre aminoácidos apolares de cadeias laterais (hidrofóbicas) e ligações iônicas como o

oxigênio de um grupo carboxilo e um grupo -NH_3^+ de aminoácidos próximos e entre grupos nos aminoácidos ácidos e básicos, caso do ácido aspártico que é muito abundante, cerca de 14 grupos na lisozima comparativamente com outros aminoácidos.

Para determinar a temperatura média de desnaturação da lisozima em soluções aquosas de tampão fosfato, os valores experimentais (T , V_φ) foram ajustados da Tabela 15 à equação [30].

$$V_\varphi = v_0 + \frac{v_1}{1 + \exp[-(T - T_0)/v_2]} \quad [30]$$

A equação [30] foi utilizada na literatura para modelar medidas da absorvância em função do tempo (curvas cinéticas) efetuadas em estudos de agregação da BSA (albumina de soro bovino) em solventes com adição de polissacarídeos (Ahanger, Parray, et al. 2021) açúcares e polióis (Sharma, Pasha, e Deep 2010) e soluções de BSA com GMS (Ahanger, Bashir, et al. 2021). Nestes estudos as curvas cinéticas exibem um perfil muito semelhante ao obtido na Figura 37 e todos os parâmetros encontram um significado físico rigoroso.

Os valores dos coeficientes v_i , T_0 e dos descritores estatísticos apresentam-se na Tabela 17.

Tabela 17. Coeficientes da equação [30] e parâmetros estatísticos relativos do ajustamento aos valores do volume molar aparente das soluções aquosas de LCOG nas soluções de fosfato de sódio.

m (mol.kg^{-1})	v_0 ($\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$)	v_1 ($\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$)	v_2 (K)	T_0 (K)	r^2
1.587×10^{-4}	0.7470	0.3172	28.4587	353.57	0.6771

3.260×10^{-4}	0.9367	0.0841	6.9908	334.02	0.974
5.876×10^{-4}	0.7088	0.4588	6.6326	332.10	0.984

$$AARD \% = \frac{100}{N} \sum \left| \frac{V_{\varphi}^{cal} - V_{\varphi}^{exp}}{V_{\varphi}^{exp}} \right|$$

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Da Tabela 17 verifica-se que os parâmetros da equação [30] têm valores semelhantes para as duas maiores concentrações de proteína. Para a menor concentração $m = 1.587 \times 10^{-4} \text{ mol.kg}^{-1}$ os valores são diferentes devido á falta de valores experimentais de V_{φ} como se observa na Figura 37.

A temperatura T_0 da equação [30] corresponde ao máximo da primeira derivada (dV_{φ}/dT) ou seja é o ponto de inflexão da curva (V_{φ} vs T) como se mostra na Figura 38 onde se representa dV_{φ}/dT em função da temperatura para as concentrações de proteína estudadas. O valor de T_0 pode tomar-se como uma boa aproximação da temperatura de desnaturação da lisozima na solução tampão. Portanto, de acordo com este estudo a temperatura de desnaturação da lisozima ocorre por volta de 333 K (60°C). Este valor é um pouco inferior relativamente a valores mencionados na literatura para soluções de lisozima a tampão de pH=7.0 (Li-Blatter e Seelig 2019) referem $T_0 = 344 \text{ K}$ (71 °C), determinados através da técnica de dicroísmo circular muito utilizada. Este valor é inferior ao encontrado para a solução $1.587 \times 10^{-4} \text{ mol.kg}^{-1}$ em lisozima.

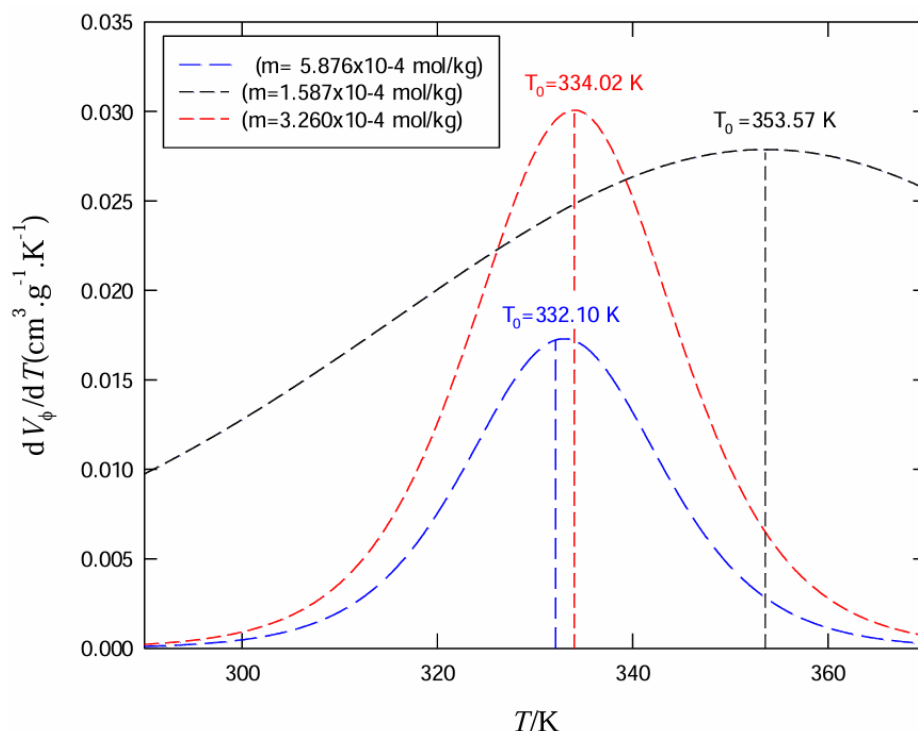


Figura 38. Derivada ($dV\varphi/dT$) em função da temperatura para as concentrações de lisozima estudadas.

Um dos estudos relevantes encontrados na literatura que corroboram os resultados obtidos neste trabalho foi o de (Mallamace et al. 2015). Os estudos de espectroscopia de RMN levado a cabo por alguns autores sobre a dinâmica da água na primeira camada de hidratação da lisozima permitiram retirar algumas conclusões interessantes sobre os diferentes estados do processo de desdobramento da lisozima na região de temperatura estudada neste trabalho. Nesses estudos, os autores concluíram que o coeficiente de autodifusão (D_s) medido na água de hidratação é menor do que no solvente bulk, e a razão entre esses dois valores em função do inverso da temperatura, mostra três mudanças aproximadamente em 277 K, 316 K e 342 K, com alterações correspondentes na energia de ativação. Quando $T < 277$ K, a rede de ligações de hidrogénio na superfície da proteína é forte e estável e a energia de ativação é aproximadamente 1.8 kcal/mol. A região até 316 K é a região térmica de funcionamento biológico ideal e exibe uma menor energia de ativação (~0.4 kcal/mol). Acima de aproximadamente 315 K, a rede de pontes de hidrogénio (LH) da

primeira camada de hidratação começa a romper-se e o processo de desdobramento da proteína começa. No entanto, na região $316\text{ K} < T < 342\text{ K}$ com energia de ativação aproximadamente 2.7 kcal/mol , o processo de desdobramento é ainda reversível (Mallamace et al. 2015). Finalmente, a $T 342\text{ K}$ e para energia de ativação de aproximadamente 5.3 kcal/mol , o processo de desdobramento torna-se irreversível, estado este referido como aquele em que a rede de ligações de hidrogénio se decompõe completamente, levando a uma estrutura da proteína que se assemelha a uma cadeia linear de aminoácidos. Um parâmetro importante nos estudos da desnaturação de proteínas é o raio hidrodinâmico de partículas, ξ . O raio hidrodinâmico corresponde ao raio de uma esfera rígida que se difunde á mesma velocidade que a proteína. Pode ser determinado a partir de D_s através da relação de Stokes-Einstein equação [31].

$$D_s = \frac{K_B T}{6\pi \eta \xi} \quad [31]$$

onde T designa a temperatura e η a viscosidade dinâmica.

Na Figura 39 representa-se ξ da lisozima em função de T (Mallamace et al. (2015)).

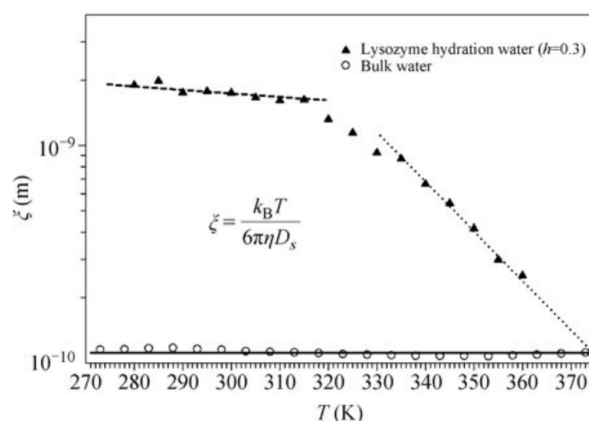


Figura 39. Raio hidrodinâmico em função da temperatura para a água bulk e água da camada de hidratação da lisozima (Mallamace et al., 2015).

À temperatura ambiente o raio é o da lisozima (≈ 1.8 nm) enquanto para $T > 320$ K, ξ diminui acentuadamente até 335 K e depois drasticamente. Quando $T > 345$ K, ξ aproxima-se do valor do correspondente ao da água interior (bulk). Este resultado confirma que quando a lisozima sofre desdobramento completo, as moléculas de água são livres e não estão ligadas aos resíduos da lisozima.

Para finalizar indicam-se na Figura 40, sobre a curva (V_ϕ vs T) para $m = 3.260 \times 10^{-4} \text{ mol.kg}^{-1}$, as regiões de temperatura correspondentes aos diferentes estados da lisozima nas soluções aquosas de tampão de fosfato de sódio de acordo com o exposto anteriormente. Nesta Figura 40 estão assinalados os valores da temperatura de desnaturação deste trabalho e o determinado por (Li-Blatter e Seelig 2019). O valor mencionado por estes autores em termos do presente estudo, encontra-se na região onde a desnaturação está concretizada, ou seja, irreversível.

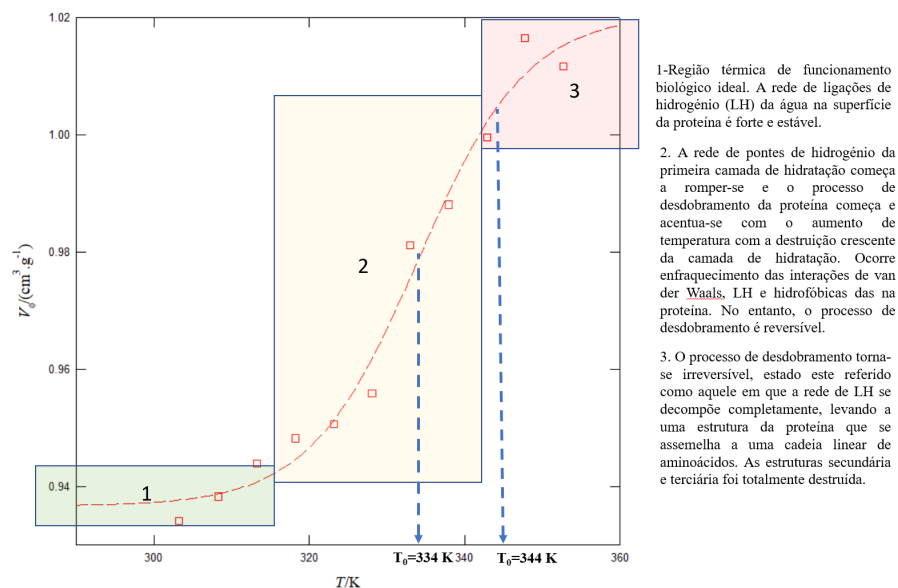


Figura 40. Resumo dos fenômenos ligados à desnaturação da lisozima que ocorrem de acordo com o andamento da curva (V_ϕ vs T) para $m = 3.260 \times 10^{-4} \text{ mol.kg}^{-1}$.

5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram obtidos resultados para a massa volúmica do glutamato de sódio e lisozima da clara de ovo da galinha em solução tampão de fosfato de sódio a $\text{pH} = 7.2$, na faixa de temperatura de 298 K a 353 K e à pressão de 1 atm.

A importância destes resultados tem a ver com os seguintes aspetos:

- O GMS é um sal que tem levantado polémica na sua utilização como aditivo de sabor para os alimentos, com a possibilidade de provocar desnaturação e agregação de proteínas responsáveis por doenças neurodegenerativas;
- As medidas volumétricas do GMS em solução aquosa são muito raras embora sejam de grande importância na investigação;
- Os métodos volumétricos são apontados como essenciais para obtenção das propriedades e comportamento das proteínas

em solução particularmente para o estudo da sua desnaturação e agregação em soluções aquosas de sais. A lisozima é uma proteína de baixo custo e referida como modelo nestes estudos;

- Para a lisozima são poucos os estudos volumétricos relevantes sobre a desnaturação térmica em especial no intervalo da temperatura onde ocorre a transição;
- A técnica de densitometria de tubo de vibrante é considerada como muito rigorosa neste tipo de trabalhos onde é exigida uma grande precisão nos resultados para o cálculo V_ϕ do soluto especialmente do seu valor em condições de diluição infinita.

As medidas de massa volúmica para soluções diluídas de GMS em tampão de fosfato de sódio numa gama largada de concentração ($0.25 \text{ mol.kg}^{-1} < m < 2.5 \text{ mol kg}^{-1}$) mostra variações de aproximadamente 155 kg.m^3 ou seja cerca de 15% quer a 298 K quer a 353 K;

Os resultados deste estudo quer de massa volúmica quer de volume molar aparente estão em excelente concordância com os valores encontrados na literatura a 298 K, determinados utilizando uma técnica diferente. O volume molar aparente do GMS dissolvido em solução tampão de fosfato de sódio mostra uma grande variação com a temperatura para soluções com molalidades inferiores 1.5 mol.kg^{-1} (variações entre $83 \text{ cm}^3.\text{mol}^{-1}$ até $134 \text{ cm}^3.\text{mol}^{-1}$ a 298 K e 353 K, respetivamente $m = 0.5 \text{ mol.kg}^{-1}$) sendo observadas a pequenas variações de V_ϕ para valores elevados de molalidades ($88 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ até $94 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ a 298K e 353 K respetivamente para $m=2.5 \text{ mol.kg}^{-1}$). A explicação deste comportamento terá a ver com a forte

interação do anião glutamato (com uma carga efetiva negativa a valores de pH 7) com a água circundante segundo um efeito estruturante que conduz á formação de aglomerados de moléculas de água de baixa massa volúmica e, conseqüentemente com o aumento do volume específico do soluto a diluição infinita.

Infelizmente não foi possível esclarecer e confirmar este comportamento quer ao nível quantitativo e qualitativo - por comparação com valores da literatura. Como trabalho futuro sugere-se repetir as medições de massa volúmica no sentido de confirmar as medições feitas e esclarecer o comportamento do volume molar aparente com a temperatura e a concentração de sal nas soluções aquosas ($V_\phi(T,m)$).

As medidas de massa volúmica e volume molar aparente da LCOG em solução tampão de fosfato de sódio foi efetuado no mesmo intervalo de temperatura do GMS para concentrações no intervalo de concentração de 2 mg.cm^{-3} a 8 mg.cm^{-3} . Neste intervalo de concentração a massa volúmica da LCOG apresentou variações muito pequenas de aproximadamente 1 kg.m^{-3} a 2 kg.m^{-3} no intervalo de temperaturas entre 298 K e 353 K.

Apesar da proximidade dos valores de massa volúmica no intervalo de temperatura considerado e para os valores de concentração, foi possível obter curvas do volume aparente em função da temperatura. Estas curvas apresentaram intervalos de variação de V_ϕ muito diferentes entre si, dependendo do valor da concentração considerada. No entanto todas as curvas têm dois pontos em comum: (i) todas as curvas podem ser bem descritas com funções sigmoidais onde o valor máximo da derivada (dV_ϕ/dT) permite prever a temperatura em que ocorreu desnaturação da proteína ($T_0 \approx 333 \text{ K}$)

próximo da temperatura referida na literatura ($T_0 \approx 344$ K); (ii) todas as curvas (T, V_ϕ) exibem um comportamento típico do processo de desnaturação térmica da proteína. Do trabalho experimental efetuado ficou claro que os estudos volumétricos devem considerar concentrações de LCOG acima de 2 mg cm^{-3} para que as massas volúmicas das soluções de proteína no tampão de fosfato de sódio com $\text{pH}=7.2$ se evidenciem claramente na região de temperatura considerada.

Este estudo foi um trabalho exploratório importante e um ponto de partida para trabalhos futuros onde em primeiro lugar se devem melhorar os resultados dos volumes molares aparentes quer do GMS quer da LCOG em soluções tampão de fosfato de sódio e em segundo lugar avançar para o estudo da massa volúmica e volumes molares aparentes em função da temperatura e concentração do LCOG em soluções de GMS e tampão de fosfato de sódio. É a partir destas últimas determinações que serão retiradas conclusões mais definitivas sobre a influência do GMS nos fenómenos de desnaturação e, provavelmente, de agregação irreversível com a formação de fibras de proteínas. Neste contexto, será de avaliar as condições de concentração de LCOG e GMS e de temperatura para os fenómenos de agregação/desnaturação da lisozima em soluções aquosas de GMS, assunto que atualmente está na frente da investigação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

_____. 2007. Calorimetric and Volumetric Data of Salting of Hen Egg Lysozyme Using NaCl Solution at PH 8.8. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 90 (3): 941–944.
<https://doi.org/10.1007/s10973-006-8299-2>.

Absorbancia. 2019. Em *Wikipedia, la enciclopedia libre*. Disponível em: <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Absorbancia&oldid=121707659>.

Adamenko, I. I., L. A. Bulavin, V. Ilyin, S. A. Zelinsky, e K. O. Moroz. 2006. Anomalous Behavior of Glycerol–Water Solutions. *Journal of Molecular Liquids*, International Conference on Physics of Liquid Matter: Modern Problems, 127 (1): 90–92. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2006.03.023>.

Ahanger, Ishfaq Ahmad, Sania Bashir, Zahoor Ahmad Parray, Mohamed F. Alajmi, Afzal Hussain, Faizan Ahmad, Md Imtaiyaz Hassan, Asimul Islam, e Anurag Sharma. 2021. Rationalizing the Role of Monosodium Glutamate in the Protein Aggregation Through Biophysical Approaches: Potential Impact on Neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience* 15: 636454. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.636454>.

Ahanger, Ishfaq Ahmad, Zahoor Ahmad Parray, Khalida Nasreen, Faizan Ahmad, Md. Imtaiyaz Hassan, Asimul Islam, e Anurag Sharma. 2021. Heparin Accelerates the Protein Aggregation via the Downhill Polymerization Mechanism: Multi-Spectroscopic Studies to Delineate the Implications on Proteinopathies. *ACS Omega* 6 (3): 2328–39. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05638>.

Alharbi, Naiyf S., Shine Kadaikunnan, Jamal M. Khaled, Taghreed N. Almanaa, Ganesh Moorthy Innasimuthu, Baskar Rajoo, Khalid F. Alanzi, e Shyam Kumar Rajaram. 2020. Optimization of Glutamic Acid Production by *Corynebacterium Glutamicum* Using Response Surface Methodology. *Journal of King Saud University: Science* 32 (2): 1403–8.

Banerjee, Tuhina, e Nand Kishore. 2006. Interactions of Peptides and Lysozyme with Aqueous Tetraethylammonium Bromide at 298.15 K. *Journal of Solution Chemistry* 35 (10): 1389–99. <https://doi.org/10.1007/s10953-006-9069-2>.

BIPM. 2023. Disponível em: <https://www.bipm.org/en/committees/jc/jcgm/publications>.

Bosart, L. W., e A. O. Snoddy. 1927. New Glycerol Tables1. *Industrial & Engineering Chemistry* 19 (4): 506–10. <https://doi.org/10.1021/ie50208a030>.

Callewaert, Lien, e Chris W. Michiels. 2010. Lysozymes in the Animal Kingdom. *Journal of Biosciences* 35 (1): 127–60. <https://doi.org/10.1007/s12038-010-0015-5>.

Chalikian, Tigran V., Maxim Totrov, Ruben Abagyan, e Kenneth J. Breslauer. 1996. The Hydration of Globular Proteins as Derived from Volume and Compressibility Measurements: Cross Correlating Thermodynamic and Structural Data. *Journal of Molecular Biology* 260 (4): 588–603. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0423>.

Chiti, Fabrizio, e Christopher M. Dobson. 2006. Protein Misfolding, Functional Amyloid, and Human Disease. *Annual Review of Biochemistry* 75 (1): 333–66. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.101304.123901>.

Conway, Myra E. 2020. Alzheimer's Disease: Targeting the Glutamatergic System. *Biogerontology* 21 (3): 257–74. <https://doi.org/10.1007/s10522-020-09860-4>.

Darbari, G. S., R. P. Singh, G. S. Verma, e S. Rajagopalan. 1967. Acoustic Absorption in Mixtures of Glycerol and Water below 1 MHz. — II. // *Nuovo Cimento B* (1965-1970) 52 (1): 1–17. <https://doi.org/10.1007/BF02710649>.

David L. Nelson e Michael M. Cox. 2017. *Lehninger Principles of Biochemistry* (7th Edition) (2017). Disponível em: <http://archive.org/details/lehninger-principles-of-biochemistry-w.-h.-freeman-2017>.

Ding, Jiaying, Xiuyu Hu, Zhihe Feng, e Liming Dong. 2022. Environmental Life Cycle Assessment of Monosodium Glutamate Production in China: Based on the Progress of Cleaner Production in Recent Ten Years. *Science of The Total Environment* 818 (abril): 151706. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151706>.

Dobson, Christopher M. 2003. Protein Folding and Misfolding. *Nature* 426 (6968): 884–90. <https://doi.org/10.1038/nature02261>.

Egas, Ana P. V., Nieves M. C. Talavera-Prieto, Abel G. M. Ferreira, Jaime B. Santos, Mário J. Santos, Zaida L. Almeida, e Isabel M. A. Fonseca. 2021. Speed of Sound and Derived Thermodynamic Properties of Glycerol. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 156 (maio): 106367. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2020.106367>.

Egorov, Gennadiy I., Dmitriy M. Makarov, e Arkadiy M. Kolker. 2013. Volume Properties of Liquid Mixture of Water+glycerol over the Temperature Range from 278.15 to 348.15K at Atmospheric Pressure. *Thermochimica Acta* 570 (outubro): 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2013.07.012>.

Egorov, Gennadiy I., e Dmitriy M. Makarov. 2012. Volumetric Properties of Binary Mixtures of Glycerol + Tert-Butanol over the Temperature Range 293.15 to 348.15 K at Atmospheric Pressure. *Journal of Solution Chemistry* 41 (3): 536–54. <https://doi.org/10.1007/s10953-012-9813-8>. 2014. Volumetric Properties of Binary Liquid-Phase Mixture of (Water+glycerol) at Temperatures of (278.15 to 323.15)K and Pressures of (0.1 to 100)MPa. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 79 (dezembro): 135–58. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2014.06.031>.

Ferreira Machado, Flávia, Jane S. R. Coimbra, Edwin E. Garcia Rojas, Luis A. Minim, Fabíola C. Oliveira, e Rita de Cássia S. Sousa. 2007. Solubility and Density of Egg White Proteins: Effect of PH and Saline Concentration. *LWT - Food Science and Technology* 40 (7): 1304–7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.020>.

Ge, Ming-Lan, Jing-Lan Ma, e Bin Chu. 2010. Densities and Viscosities of Propane-1,2,3-triol + Ethane-1,2-diol at T = (298.15 to 338.15) K. *Journal of Chemical & Engineering Data* 55 (7): 2649–51. <https://doi.org/10.1021/jc900938b>.

Gottardo, Franciele Maria, Ana Paula Alves da Silva, Luciana Ruschel dos Santos, Luciane Maria Colla, e Christian Oliveira Reinehr. 2022. Use of Monosodium Glutamate in Foods: The Good, the Bad, and the Controversial Side. *ABCS Health Sciences* 47 (agosto): e022305–e022305. <https://doi.org/10.7322/abcshs.2020155.1609>.

Hepler, Loren G. 1969. Thermal Expansion and Structure in Water and Aqueous Solutions. *Canadian Journal of Chemistry* 47 (24): 4613–17. <https://doi.org/10.1139/v69-762>.

Ihmels, E. Christian, e Jürgen Gmehling. 2001. Densities of Toluene, Carbon Dioxide, Carbonyl Sulfide, and Hydrogen Sulfide over a Wide Temperature and Pressure Range in the Sub- and Supercritical State. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 40 (20): 4470–77. <https://doi.org/10.1021/ie001135g>.

Jirasek, Fabian, Edder J. Garcia, Eva Hackemann, Nadia Galeotti, e Hans Hasse. 2018. Influence of PH and Salts on Partial Molar Volume of Lysozyme and Bovine Serum Albumin in Aqueous Solutions. *Chemical Engineering & Technology* 41 (12): 2337–45. <https://doi.org/10.1002/ceat.201800242>.

Kamiyama, Tadashi, Takanori Matsusita, e Takayoshi Kimura. 2003. Volumetric Study of Lysozyme in Dimethyl Sulfoxide + Water Solution at 298.15 K. *Journal of Chemical & Engineering Data* 48 (5): 1301–5. <https://doi.org/10.1021/je0340710>.

Kan, Jianquan, e Kewei Chen, eds. 2021. *Essentials of Food Chemistry*. Singapore: Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-0610-6>.

Kashiwagi, T., C. Sano, T. Kawakita, e N. Nagashima. 1995. Monosodium L-Glutamate Pentahydrate. *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications* 51 (6): 1053–56. <https://doi.org/10.1107/S0108270194014472>.

Kell, George S. 1975. Density, Thermal Expansivity, and Compressibility of Liquid Water from 0.Deg. to 150.Deg. Correlations and Tables for Atmospheric Pressure and Saturation Reviewed and Expressed on 1968 Temperature Scale. *Journal of Chemical & Engineering Data* 20 (1): 97–105. <https://doi.org/10.1021/je60064a005>.

Khelladi, Hassina, Frédéric Plantier, Jean Luc Daridon, e Hakim Djelouah. 2009. Measurement under High Pressure of the Nonlinearity Parameter B/A in Glycerol at Various Temperatures. *Ultrasonics* 49 (8): 668–75. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2009.05.001>.

Kijevčanin, Mirjana Lj., Emila M. Živković, Bojan D. Djordjević, Ivona R. Radović, Jovan Jovanović, e Slobodan P. Šerbanović. 2013. Experimental Determination and Modeling of Excess Molar Volumes, Viscosities and Refractive Indices of the Binary Systems (Pyridine+1-Propanol, +1,2-Propanediol, +1,3-Propanediol, and +glycerol). New UNIFAC-VISCO Parameters Determination. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 56 (janeiro): 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2012.06.031>.

Koohyar, Fardad, Abbas Ali Rostami, Mohammad Javad Chaichi, e Farhoush Kiani. 2011. Refractive Indices, Viscosities, and Densities for L-Cysteine Hydrochloride Monohydrate + D-Sorbitol + Water, and Glycerol + D-Sorbitol + Water in the Temperature Range between T=303.15 K and T=323.15 K. *Journal of Solution Chemistry* 40 (7): 1361–70. <https://doi.org/10.1007/s10953-011-9714-2>.

Krakowiak, Joanna, Magdalena Krajewska, e Jarosław Wawer. 2019. Monitoring of Lysozyme Thermal Denaturation by Volumetric Measurements and NanoDSF Technique in the Presence of N-Butylurea. *Journal of Biological Physics* 45 (2): 161–72. <https://doi.org/10.1007/s10867-019-09521-9>.

Lagourette, B, C Boned, H Saint-Guirons, P Xans, e H Zhou. 1992. Densimeter calibration method versus temperature and pressure. *Measurement Science and Technology* 3 (8): 699–703. <https://doi.org/10.1088/0957-0233/3/8/002>.

Li-Blatter, Xiaochun, e Joachim Seelig. 2019. Thermal and Chemical Unfolding of Lysozyme. Multistate Zimm-Bragg Theory Versus Two-State Model. *The Journal of Physical Chemistry. B* 123 (48): 10181–91. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.9b08816>.

Li, Qun-Sheng, Ming-Gao Su, e Shui Wang. 2007. Densities and Excess Molar Volumes for Binary Glycerol + 1-Propanol, + 2-Propanol, + 1,2-Propanediol, and + 1,3-Propanediol Mixtures at Different Temperatures. *Journal of Chemical & Engineering Data* 52 (3): 1141–45. <https://doi.org/10.1021/je060496l>.

Lima, Luís Spencer. 2013. Lei de Lambert–Beer. *Revista de Ciência Elementar* 1 (1). <https://doi.org/10.24927/rce2013.047>.

Mallamace, Francesco, Carmelo Corsaro, Domenico Mallamace, Nicola Cicero, Sebastiano Vasi, Giacomo Dugo, e H. Eugene Stanley. 2015. Dynamical Changes in Hydration Water Accompanying Lysozyme Thermal Denaturation. *Frontiers of Physics* 10 (5): 106104. <https://doi.org/10.1007/s11467-015-0486-9>.

Mangialardo, Sara, Lorenzo Contrani, Francesca Leonelli, Ruggero Caminiti, e Paolo Postorino. 2012. Role of Ionic Liquids in Protein Refolding: Native/Fibrillar versus Treated Lysozyme. *RSC Advances* 2 (32): 12329. <https://doi.org/10.1039/c2ra21593d>.

May, Eric F., Weparn J. Tay, Manuela Nania, Amos Aleji, Saif Al-Ghafri, e J. P. Martin Trusler. 2014. Physical Apparatus Parameters and Model for Vibrating Tube Densimeters at Pressures to 140 MPa and Temperatures to 473 K. *Review of Scientific Instruments* 85 (9): 095111. <https://doi.org/10.1063/1.4894469>.

McDuffie, G. E., J. W. Forbes, W. M. Madigosky, e J. J. Von Bretzel. 1969. Density and compressibility of four higher alcohols for pressures to 2800 kg. /sq. cm. *Journal of Chemical & Engineering Data* 14 (2): 176–80. <https://doi.org/10.1021/je60041a006>.

Merzel, Franci, e Jeremy C. Smith. 2002. Is the First Hydration Shell of Lysozyme of Higher Density than Bulk Water? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (8): 5378–83. <https://doi.org/10.1073/pnas.082335099>.

Millero, F J, G K Ward, e P Chetirkin. 1976. Partial Specific Volume, Expansibility, Compressibility, and Heat Capacity of Aqueous Lysozyme Solutions. *Journal of Biological Chemistry* 251 (13): 4001–4. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)33347-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)33347-1).

Moldovan, Octavia-Laura, Aura Rusu, Corneliu Tanase, e Camil-Eugen Vari. 2021. Glutamate - A Multifaceted Molecule: Endogenous Neurotransmitter, Controversial Food Additive, Design Compound for Anti-Cancer Drugs. A Critical Appraisal. *Food and Chemical Toxicology* 153 (julho): 112290. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112290>.

Neuberger, Albert. 1936. Dissociation constants and structures of glutamic acid and its esters. *Biochemical Journal* 30 (11): 2085–94.

NIST. 2023. Disponível em: <https://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/>.

Pace, C. Nick, Felix Vajdos, Lanette Fee, Gerald Grimsley, e Theronica Gray. 1995. How to Measure and Predict the Molar Absorption Coefficient of a Protein. *Protein Science* 4 (11): 2411–23. <https://doi.org/10.1002/pro.5560041120>.

Palani, R, G Srinivasan, e B Geeta Lakshmi. 2011. Ultrasonic Studies on Molecular Interaction of Arginine in Aqueous Disaccharides at 298.15K.

Prieto, Nieves M. C. T., Thiago A. Souza, Ana P. Egas, Abel G. M. Ferreira, Lélío Q. Lobo, e António T. A. Portugal. 2016. Liquid Glycerol: Experimental Densities at Pressures of up to 25MPa, and Some Derived Thermodynamic Properties. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 101 (outubro): 64–77.
<https://doi.org/10.1016/j.jct.2016.05.006>.

Protein Data Bank in Europe (PDBe) <EMBL-EBI PDR entry 8H3W. 2023. Disponível em:
<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/1uco/analysis>.

Rodante, F., G. Marrosu, e F. Fantauzzi. 1989. Thermodynamics of the Second Proton Dissociation Processes of Nine α -Amino-Acids and the Third Ionization Processes of Glutamic Acid, Aspartic Acid and Tyrosine. *Thermochimica Acta* 141 (março): 297–303.
[https://doi.org/10.1016/0040-6031\(89\)87065-0](https://doi.org/10.1016/0040-6031(89)87065-0).

Romero, Carmen M., Manuel S. Páez, e Dairo Pérez. 2008. A Comparative Study of the Volumetric Properties of Dilute Aqueous Solutions of 1-Propanol, 1,2-Propanediol, 1,3-Propanediol, and 1,2,3-Propanetriol at Various Temperatures. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 40 (12): 1645–53.
<https://doi.org/10.1016/j.jct.2008.07.005>.

Safarov, J., F. Millero, R. Feistel, A. Heintz, e E. Hassel. 2009. Thermodynamic Properties of Standard Seawater: Extensions to High Temperatures and Pressures. *Ocean Science* 5 (3): 235–46.
<https://doi.org/10.5194/os-5-235-2009>.

Sano, Chiaki, Nobuya Nagashima, Tetsuya Kawakita, e Yoichi Iitaka. 1989. Crystal and Molecular Structures of Monosodium L-Glutamate Monohydrate. *Analytical Sciences* 5 (1): 121–22. <https://doi.org/10.2116/analsci.5.121>.

Seuss-baum, Ingrid. 2007. Nutritional Evaluation of Egg Compounds. Em *Bioactive Egg Compounds*, editado por Rainer Huopalahti, Rosina López-Fandiño, Marc Anton, e Rüdiger Schade, 117–44. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-37885-3_18.

Sharma, Anurag, Javeed M. Pasha, e Shashank Deep. 2010. Effect of the Sugar and Polyol Additives on the Aggregation Kinetics of BSA in the Presence of N-Cetyl-N,N,N-Trimethyl Ammonium Bromide. *Journal of Colloid and Interface Science* 350 (1): 240–48. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.06.054>.

Siddique, Jamal Akhter, Sheetal Sharma, Umer Rashid, Kurt E. Geckeler, e Saeeda Naqvi. 2014. Thermodynamic Behavior of Glucose, Maltose, and Urea on Stabilization Lysozyme Solution. *Arabian Journal for Science and Engineering* 39 (7): 5445–49. <https://doi.org/10.1007/s13369-014-1114-7>.

Son Ikbae, 2017. s.d. Acedido a 19 de maio de 2023. https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/80737/1/Son_Ikbae_201711_PhD_thesis.pdf.

Suzuki, Yoshihisa, Hiroshi Matsuo, Yoshikata Koga, Katsuya Mukae, Tetsuya Kawakita, e Seiji Sawamura. 2001. Effects of Pressure and Temperature on the Solubility of Monosodium L-Glutamate Monohydrate in Water. *High Pressure Research* 21 (2): 93–104. <https://doi.org/10.1080/08957950108201007>.

Tanaka, M, G Girard, R Davis, A Peuto, e N Bignell. 2001. Recommended table for the density of water between 0 C and 40 C based on recent experimental reports. *Metrologia* 38 (4): 301–9. <https://doi.org/10.1088/0026-1394/38/4/3>.

Wagner, W., e A. Pruß. 2002. The IAPWS Formulation 1995 for the Thermodynamic Properties of Ordinary Water Substance for General and Scientific Use. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 31 (2): 387–535. <https://doi.org/10.1063/1.1461829>.

Xu, Li, Xingen Hu, e Ruisen Lin. 2003. Volumetric Properties of Glycerol with N,N-Dimethylformamide and with Water at 25 and 35°C. *Journal of Solution Chemistry* 32 (4): 363–70. <https://doi.org/10.1023/A:1023757905334>.

Yadav, Jay Kant. 2010. Effect of Monosodium Glutamate (MSG) on Alpha-Amylase Activity.

Zielenkiewicz, A. 2001. Apparent Molar Volumes and Heat Capacities of Nucleating Lysozyme Solutions at 25°C. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 65 (2): 467–72. <https://doi.org/10.1023/A:1017933220138>.

Zielenkiewicz, A., e W. Zielenkiewicz. 2005. Comparison of Enthalpy and Apparent Molar Volume Data on Nucleating Lysozyme Solution at Various Li₂SO₄, MgCl₂ and (NH₄)₂SO₄ Concentrations. *Journal of Molecular Liquids*, Selected papers of the 2nd International Symposium on the Thermodynamics and Structure of Liquids, 121 (1): 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2004.08.020>.

ANEXO A: Lisozima da clara do ovo da galinha

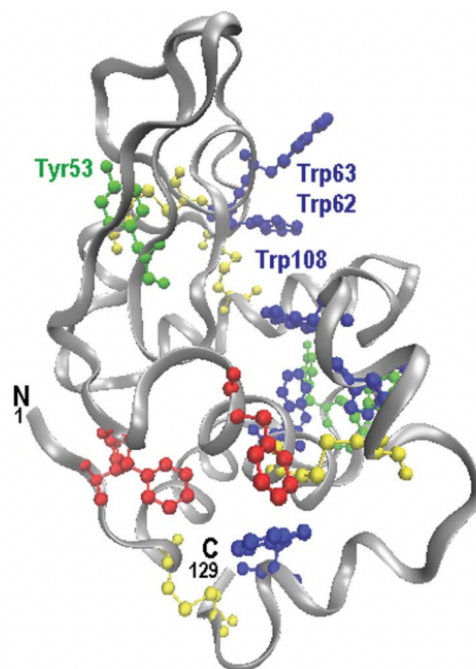


Figura 1. Lisozima de clara de ovo de galinha (HEWL). O terminal N e o terminal C estão marcadas. Os resíduos aromáticos que foram discutidos no texto estão destacados: Phe (vermelho), Tyr (verde), Trp (azul). Entre os resíduos de cisteína (amarelo) ocorrem as pontes de dissulfureto. Tyr53, Trp62, Trp63 e Trp108 encontram-se no sítio activo da enzima(Mangialardo et al. 2012).

ANEXO B: Dados experimentais para a calibração da sonda

Temperatura (T) do termómetro padrão em função da resistência (R).

T/ °C	R/ Ω	T/ °C	R/ Ω
7.10	102.86	35.01	113.72
7.11	102.87	35.01	113.71
7.12	102.87	34.97	113.70
7.13	102.87	39.81	115.55

10.19	104.05	39.82	115.55
10.21	104.07	39.83	115.56
10.23	104.07	39.82	115.55
15.66	106.19	44.75	117.46
15.67	106.20	44.74	117.45
20.30	107.96	50.19	119.56
20.64	108.13	50.20	119.56
20.70	108.16	55.06	121.44
20.71	108.16	55.13	121.47
20.72	108.17	55.12	121.46
20.73	108.17	60.00	123.34
29.93	111.70	65.09	125.29
29.85	111.69	65.10	125.30
29.84	111.68	70.22	127.26
29.84	111.69	70.23	127.26
34.96	113.67	70.24	127.27
34.95	113.66	74.86	129.04
34.93	113.66	74.88	129.05
30.33	111.90	74.87	129.04
30.32	111.89	79.73	130.86
30.33	111.90	79.74	130.86
34.96	113.69	79.75	130.87

ANEXO C: Dados experimentais para o vácuo

Períodos de oscilação em função da temperatura para o vácuo a pressão na ordem de 5 Pa.

$\tau/\mu\text{s}$	T/K	$\tau/\mu\text{s}$	T/K	$\tau/\mu\text{s}$	T/K
3.876027	292.99	3.881607	303.90	3.889216	318.6
3.876030	293.04	3.881606	303.90	3.889215	318.5
3.876035	293.07	3.881606	303.90	3.889217	318.5
3.876040	293.09	3.881606	303.90	3.889216	318.5
3.876042	293.07	3.881605	303.90	3.891765	323.4
3.876045	293.07	3.883971	308.48	3.891764	323.4

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

ANEXO D: Dados experimentais para o glicerol

Dados experimental para o glicerol (Resistência $R(\Omega)$ e período de vibração τ (μs)).

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)
109.84	4.138223	121.56	4.151412	117.67	4.1470
109.83	4.138241	121.56	4.151413	117.67	4.1470
109.84	4.138249	123.55	4.153676	117.66	4.1470
109.83	4.138252	123.55	4.153673	117.66	4.1470

109.84	4.138253	123.55	4.153672	119.7	4.1491
109.84	4.138253	123.55	4.153672	119.7	4.1491

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

ANEXO E: Dados para o glicerol de diferentes autores.

Resumo da massa volúmica de diferentes autores, com as técnicas usadas, gama de temperatura e pressão.

Autores	Ano	Np	$\Delta T/K$	P/MPa	$\rho / \text{kg} \cdot \text{m}^{-3}(\text{ur})$
(Bosart e Snoddy 1927)	1928	4	288.15–298.15	0.1	(1262–1; not
(Darbari et al. 1967)	1967	3	313.15–333.15	0.1	(1234–1; (ns)
(McDuffie et al. 1969)	1969	90	223–353	0.1	(1220–1; (0.05)

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

^a incerteza na massa volúmica, $u(\rho)$ é dada em $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ou em percentagem. Os limites superior e inferior de massa volúmica

foram arredondados para valores inteiros. ^b métodosVB: célula de volume variável; VTD: densímetro de tubo vibrante; PIC: picnómetro.

ANEXO F: Dados experimentais para as soluções de tampão

Dados experimentais para a solução tampão.

R (Ω)	τ (μ s)	R (Ω)	τ (μ s)
109.99	4.086078	120.74	4.097702
109.99	4.086053	120.73	4.097687
109.99	4.086026	120.73	4.097684
109.99	4.086005	120.73	4.09768
109.99	4.085983	120.73	4.097675
109.99	4.08596	120.73	4.097671
109.99	4.085942	120.72	4.097668
109.99	4.085923	120.72	4.097665
109.99	4.085907	120.72	4.097662
111.69	4.087386	122.86	4.099969
111.74	4.08765	122.86	4.099961
111.75	4.087792	122.86	4.099955
111.75	4.087863	122.86	4.09995
111.75	4.087893	122.86	4.099938
111.75	4.087897	122.86	4.099935
111.74	4.0877889	122.86	4.099932
111.74	4.087874	122.86	4.099929

111.74	4.087855	124.8	4.098907
111.74	4.087837	124.8	4.098867
111.74	4.087818	124.8	4.098838
111.73	4.087799	124.8	4.098832
111.73	4.087782	124.8	4.09883
111.73	4.087766	124.8	4.098836
111.73	4.087753	124.8	4.098838
111.72	4.087739	124.8	4.098837
111.72	4.087727	126.6	4.100436
111.72	4.087715	126.6	4.100434
113.85	4.090154	126.6	4.100429
113.85	4.090142	126.59	4.100425
113.84	4.090128	126.59	4.100424
113.84	4.090116	126.59	4.100422
113.84	4.090102	126.59	4.100422
113.84	4.090083	126.59	4.100419
113.84	4.090083	126.59	4.10042
113.84	4.090072	127.95	4.101412
113.84	4.090064	127.96	4.101442
113.84	4.090057	127.97	4.101472
115.65	4.092121	127.97	4.101475
115.64	4.092118	127.97	4.101501
115.64	4.092108	127.97	4.101506

115.64	4.09210	127.97	4.101525
115.64	4.092093	130.24	4.10316
115.64	4.092087	130.23	4.103076
115.64	4.092082	130.23	4.102978
115.64	4.092079	130.23	4.10293
118.18	4.094947	130.23	4.102962
118.17	4.094938	130.23	4.102966
118.17	4.094927	130.23	4.102961
118.17	4.094917	131.55	4.103719
118.17	4.094910	131.55	4.103741
118.17	4.094903	131.56	4.10375
118.17	4.094896	131.56	4.103743
118.17	4.094891	131.56	4.103723
118.17	4.094889	131.56	4.103743
118.17	4.094885	131.56	4.103744
120.74	4.097719	131.56	4.103744
120.74	4.097712	131.56	4.103744

ANEXO G: Dados experimentais para as soluções de GMS.

Dados experimentais do GMS para o ensaio 1 m = 0.2546/Al mol.kg⁻¹.

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K) media	ρ(kg.mol ⁻¹) media
110.00	4.093948	117.80	4.102915	293.80	1019.0

110.00	4.093944	117.80	4.102913	303.87	1013.2
110.00	4.093940	117.80	4.102912	313.91	1005.1
110.00	4.093938	117.80	4.102911	318.46	1001.4
110.00	4.093936	117.80	4.102911	323.53	996.5

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Dados experimentais do GMS para o ensaio 2 $m = 0.2546/A2 \text{ mol.kg}^{-1}$ (replica).

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K) media	ρ(kg.m ³) medi
108.23	4,091616	119,5	4,099079	298.22	1012.5
108.23	4,091612	119,5	4,105801	303.42	1010.4
108.22	4,091607	119,5	4,105788	308.77	1007.2
108.22	4,091602	119,5	4,105777	313.55	1003.9
108.22	4,091599	119,5	4,105773	318.70	1000.2

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Dados experimentais do GMS para o ensaio 3 $m = 0.5219/A1 \text{ mol.kg}^{-1}$

R (Ω)	τ (μ s)	R (Ω)	τ (μ s)	T (K) media	ρ (kg.m ⁻³) medi
110.00	4.093959	117.80	4.102917	298.64	1037.2
110.00	4.093952	117.80	4.102916	303.25	1035.1
110.00	4.093948	117.80	4.102916	308.51	1032.2
110.00	4.093942	117.80	4.102915	313.59	1029.1
110.00	4.093944	117.80	4.10213	318.85	1025.6

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

[https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?](https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage)
[noblockage](#)

Dados experimentais do GMS para o ensaio 4 m = 0.5219/A2 mol.kg⁻¹
(replica)

R (Ω)	τ (μ s)	R (Ω)	τ (μ s)	T (K) media	ρ (kg.m ⁻³) medi
109.89	4.102944	119.64	4.113842	298.34	1044.1
109.89	4.102935	119.64	4.113839	303.34	1041.6
109.89	4.102925	119.64	4.113838	308.32	1037.8
109.88	4.10292	119.63	4.113837	313.26	1034.1
109.88	4.102913	119.63	4.113834	318.22	1029.1

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de->

[lisoizima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?](#)
noblockage

Dados experimentais do GMS para o ensaio 5 m = 1.1006 mol.kg⁻¹.

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K) media	ρ(kg.mol ⁻¹) media
109.89	4.102944	117.68	4.111720	298.34	1082.1
109.89	4.102935	117.68	4.111717	303.43	1079.1
109.89	4.102925	117.68	4.111714	308.92	1076.4
109.89	4.102920	117.68	4.111720	313.30	1073.6
109.89	4.102913	119.64	4.113839	318.54	1069.9

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
[https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisoizima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?](https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisoizima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage)
noblockage

Dados experimentais do GMS para o ensaio 6 m = 1.1006mol.kg⁻¹
(replica).

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K) media	ρ(kg.mol ⁻¹) media
108.13	4.087677	119.62	4.099708	298.35	1082.0
108.13	4.08767	119.62	4.099707	303.35	1079.9
108.13	4.087662	119.62	4.099713	308.29	1077.9
108.13	4.087654	119.62	4.099710	313.26	1074.9
108.13	4.087648	119.62	4.099707	318.18	1071.9

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Dados experimentais do GMS para o ensaio 7 $m = 1.1477 \text{ mol.kg}^{-1}$.

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K)	ρ(kg.m ⁻³)
109.79	4.087865	121.56	4.100721	298.25	1126.6
109.79	4.087863	121.56	4.100716	303.82	1123.1
109.79	4.087861	121.56	4.100711	308.90	1120.2
109.78	4.087859	121.56	4.100708	313.57	1117.2
109.78	4.087855	121.56	4.100705	318.93	1113.5
109.78	4.087850	121.56	4.100703	323.55	1110.3

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:
<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Dados experimentais do GMS para o ensaio 8 $m = 2.4761 \text{ mol.kg}^{-1}$.

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K)	ρ(kg.m ⁻³)
111.92	4.122228	119.58	4.130897	303.61	1164.2
111.92	4.122223	123.41	4.135239	313.55	1157.9
111.92	4.122218	123.41	4.135232	323.47	1150.7

111.92	4.122213	123.41	4.135228	333.37	1143.4
111.92	4.122210	123.40	4.135223	343.20	1136.2

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Anexo H: Dados experimentais para as soluções de LCOG

Dados experimentais para LCOG ensaio 1 $C = 2.27 \text{ mg.cm}^{-3}$.

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K) media	ρ(kg.m ⁻³) media
109.88	4.086801	121.54	4.098526	298.17	1002.1
109.88	4.086805	121.54	4.098521	303.37	1001.2
109.88	4.086775	121.54	4.098538	308.74	999.4
110.01	4.086773	121.54	4.098535	313.52	997.4
110.01	4.086774	121.54	4.098535	318.67	995.1

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Dados experimentais para LCOG ensaio 2 $C = 4.35 \text{ mg.m}^{-3}$.

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K)	ρ(kg.m ⁻³)
-------	--------	-------	--------	-------	------------------------

109.88	4.086619	119.47	4.098525	298.12	1002.1
109.88	4.086618	119.47	4.098525	303.20	1001.3
109.88	4.086619	119.47	4.098525	308.27	999.6
109.88	4.086617	119.47	4.098525	313.22	997.5
109.88	4.086617	121.38	4.100835	318.19	995.2

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

Dados experimentais para LCOG ensaio 3 $C = 8.38 \text{ mg.m}^{-3}$.

R (Ω)	τ (μs)	R (Ω)	τ (μs)	T (K)	$\rho(\text{kg.m}^{-3})$
109.84	4.087101	119.47	4.099019	298.23	1004.1
109.84	4.087103	121.38	4.101286	303.32	1003.6
109.84	4.087106	121.38	4.101283	308.27	1001.7
109.84	4.087116	121.38	4.101266	313.24	999.5
109.84	4.087108	121.38	4.101259	318.21	996.6
109.84	4.087106	121.38	4.101256	323.14	994.2

△ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em:

<https://revistatopicos.com.br/artigos/densidades-de-glutamato-de-sodio-e-de-lisozima-da-clara-do-ovo-da-galinha-em-solucoes-aquosas-de-fosfato-de-sodio?noblockage>

ABREVIATURAS

AGL	Ácido Glutâmico
AAD	Desvio Médio Absoluto
AARD	Desvio Relativo Médio Percentual
CAS	Número de Registro
EFSA	Associação Europeia de Segurança Alimentar
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos
FAO	Organização da Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
GMS	Glutamato de Sódio
JECFA	Especialistas em Alimentos e Aditivos
LCOG	Lisozima da Clara do Ovo da Galinha
OMS	Organização Mundial da Saúde

SIMBOLOGIA

r^2	Coeficiente de Correlação
σ	Desvio Padrão
ρ	Massa volúmica
u	Incerteza
UV	Luz ultravioleta
M	Molalidade
τ	Período de Vibração
% m/m	Percentagem em Massa

R	<i>Resistência</i>
T	<i>Temperatura</i>
$V\varphi$	<i>Volume Molar Aparente</i>
$V\varphi_0$	<i>Volume Molar a Diluição Infinita</i>

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Química na especialidade de Biosistemas, orientada pelo Professor Doutor Abel Gomes Martins Ferreira, apresentada para Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.