

*Revista
Portuguesa
de
Química*

Editada pela
SOCIEDADE
PORTUGUESA
DE QUÍMICA
E FÍSICA

VOL. I

MARÇO 1958

N.º 1

Revista Portuguesa de Química

Editada pela
Sociedade Portuguesa de Química e Física

em continuação da

Revista de Química Pura e Aplicada

FUNDADA POR FERREIRA DA SILVA

Director: A. Herculano de Carvalho

Editor: J. Oliveira Cabral

VOL. I

MARÇO DE 1958

N.º 1

Índice:

ENSAIOS PARA A DETERMINAÇÃO DA VITAMINA K ₂ NA SARDINHA PORTUGUESA — <i>A. Forjaz, L. Brito, e L. Manso</i>	5
PREUVE ANALYTIQUE INDIRECTE DE L'EXISTENCE DE L'ANION SILICATE DANS LES EAUX NATURELLES — <i>A. H. de Carvalho</i>	7
REACÇÃO CORADA DO ERGOSTEROL E DO DE-HIDRO-7-COLESTEROL — <i>A. J. A. de Gouveia, Alfredo P. Gouveia e M. H. R. Fonseca</i>	15
POLARIMÉTRIE DES COMPLEXES ASPARTIQUES — <i>K. Jacobsohn</i>	37
QUANTITATIVE DETERMINATION OF RUTIN AND QUERCETIN BY THE RADIO- COBALT-60 — <i>V. Pereira Crespo, J. Santos Veiga, and F. Pinto Coelho</i>	45
DOSEAMENTO DE TITÂNIO EM ILMENITES POR ESPECTROFOTOMETRIA DIFERENCIAL — <i>R. A. Guedes de Carvalho</i>	49
NOVA REACÇÃO ESPECÍFICA PARA A IDENTIFICAÇÃO DA QUELINA — <i>A. J. Correia Ratha</i>	57
DOSAGE DE L'URANIUM PAR HAUTE FRÉQUENCE — <i>M. T. Silva e A. F. M. Coelho</i>	61
DISTINCTION ANALYTIQUE ENTRE LA GOMME NATURELLE ET LE NÉOPRÈNE, PAR L'IRRADIATION AVEC NEUTRONS — <i>F. Barreira et M. Laranjeira</i>	73

*Revista
Portuguesa
de
Química*

Editada pela
SOCIEDADE
PORTUGUESA
DE QUÍMICA
E FÍSICA

VOL. I

1958

EXPLICAÇÃO

Com a opinião favorável da Assembleia Geral, a Direcção da Sociedade Portuguesa de Química e Física resolveu dar novo impulso à publicação da sua revista, tornando-a regular e modificando um pouco a sua apresentação e o seu âmbito.

Esperando que, mais tarde, o mesmo possa fazer-se quanto à Física, a revista, nesta sua nova forma, passará a incluir apenas artigos e trabalhos sobre Química. A modificação do nome, não a afasta da realidade tradicional, se atendermos ao conteúdo da colecção da «Revista de Química Pura e Aplicada» fundada pelo saudoso e ilustre químico português, o Prof. Ferreira da Silva. A «Revista Portuguesa de Química» considera-se a sua continuadora, permanecendo no Porto a sede e o local de impressão.

Apenas por uma questão de comodidade, visto conterem fundamentalmente as comunicações portuguesas ao XV Congresso Internacional de Química Pura e Aplicada, são preparados e impressos em Lisboa os números a aparecerem no corrente ano.

Apela-se para os sócios da S. P. Q. F. que tenham trabalhos de Química a publicar para que dêem preferência à sua Revista. Só a correspondência a este apelo pode tornar realidade as intenções da Direcção.

Outro sim se pede que sejam formulados alvitres e sugestões para melhoramento e maior expansão da «Revista Portuguesa de Química».

Juntamente com o preito de saudade e gratidão que todos devemos à memória de Ferreira da Silva e seus colaboradores do início, fica também expresso o nosso reconhecimento aos que, nos últimos anos e através de dificuldades de toda a ordem, se esforçaram por não deixar morrer a única publicação portuguesa de Química conhecida lá fora, destacando-se, como é de justiça, o nome do Prof. Abílio Barreiro.

Lisboa, Março de 1958.

O SECRETÁRIO GERAL

ENSAIOS PARA A DETERMINAÇÃO DA VITAMINA K₂ NA SARDINHA PORTUGUESA

FORJAZ, A., BRITO, L. e MANSO, L.
Instituto Português de Conservas de Peixe
Lisboa - Portugal

A vitamina K₂, C⁴¹H⁵⁶O², 2,3-difarsenil-1,4-naftoquinona, fundamental no metabolismo redox, existe na sardinha, aumentando com a sua alteração.

100 g de sardinha ($\approx 70\%$ OH²) com umas 72 horas de frigorífico tem em média 40.000 unidades Dam, seja 2 mg de K₂. Tem-se admitido que o homem precisa diariamente de um mg.

Decorrem, no Laboratório do Instituto Português de Conservas de Peixe trabalhos de investigação analítica que tem como base a vitamina K₂ considerada como *índice bromatológico específico*.

Utiliza-se sempre o músculo da sardinha descabeçada, desviscerada, sem pele e sem espinha, reduzida a pasta.

Eis, em resumo o modo operativo:

- a) 10 g do músculo reduzido a pasta, misturados com 15 cm³ de ciclohexano permanecem em contacto 5 horas à temperatura ambiente e 16 horas no frigorífico (a cerca de + 5° C.). O líquido decantado, filtrado, é utilizado na determinação espectrofotométrica em 248 m μ .
- b) 10 g do músculo reduzido a pasta, são misturados com 10 g de sulfato de sódio anidro e extraídos a B. M. com éter de petróleo de ponto de ebulição 40-60° C. durante 8 horas.

Esta solução etérea, filtrada, se for necessário, passa por coluna de permutite (de 6 g) ; a coluna é lavada com benzeno, destilado, primeiro 10 cm³ e depois duas fracções de 5 cm³ cada [1].

O líquido etéreo é evaporado e o resíduo retomado por ciclohexano, filtrando-se se for preciso e completando-se o volume de 5 cm³, servindo esta solução para medida em 248 m μ , amostra 1. Com o líquido

benzénico completa-se um volume que se divide em duas partes iguais, que se evaporam também no vasio, destinando-se um resíduo a ser retomado por ciclohexano, completando-se o volume de 5 cm³, servindo para a medida espectrofotométrica em 248 m μ ; o outro resíduo reserva-se para a determinação colorimétrica.

As medições espectrofotométricas foram feitas em $\lambda = 248$ m μ , sobretudo num *Unicam*; as medições em $\lambda = 331$ m μ , após o uso da técnica ciano-acética de Pinder e Singer, a que demos preferência [2], foram efectuadas no modelo universal *Colleman*.

Foi imperativo acompanhar os trabalhos com padrões de *menadiona*, 2 metil 1-4 hidroxinaftoquinona, C¹¹H⁸O². E logo se fizeram ensaios juntando a 100 g da pasta da sardinha 4 mg de menadiona. Lavagens e adsorções foram por esse facto, acentuadamente perturbadas.

Não sendo fácil efectuar, sobretudo nos ensaios de rotina, a extracção integral da K₂, verificou-se a possibilidade de calcular os *factores de análise* pela variação da densidade óptica produzida, numa amostra da pasta da sardinha, pela adição da menadiona, tomada agora como indicador.

Nestes termos reconheceram-se já variações de K₂ compreendidas entre 1 mg e 7 mg (embora em certos casos tenha atingido 21 mg) referidas a 100 g da pasta da sardinha.

À parte termos alcançado já este objectivo observámos a possibilidade de dispensar as curvas de graduações habituais e de eliminarmos o efeito das impurezas, representadas pelo resíduo da pasta da sardinha pela adição de uma substância análoga à que se pretende dosear: julgamos que este artifício pode prestar serviços importantes, sobretudo nos ensaios ópticos de carácter biológico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Cf.: — *Vitamin methods*, György, 1950, v. I, p. 215; *Chemistry and Physiology of the Vitamins*, Rosenberg, 1945, p. 483.
[2] *The Analyst*, v. 65, p. 11 (1940).

PREUVE ANALYTIQUE INDIRECTE DE L'EXISTENCE DE L'ANION SILICATE DANS LES EAUX NATURELLES

CARVALHO, A. H. de
Instituto Superior Técnico
Lisbonne - Portugal

R É S U M É

Dans nombreuses analyses d'eaux minérales portugaises dont quelques unes possèdent une concentration relativement élevée de silice, nous n'avons rencontré que très rarement la nécessité de faire entrer dans le tableau des anions le silicate.

En réalité deux eaux seulement, du type des sulfurées sodiques, se sont présentées comme silicatées. Dans les autres (déjà plus d'une demi-centaine) la différence entre le nombre de milli-équivalents par litre (mval) des ions de signe contraire, $\Delta = V^- - V^+$ a été suffisamment petite pour être négligeable, tout en conservant l'hypothèse courante d'une indissociation totale de la silice.

Ces deux exceptions ne présentent pas, vis-à-vis les autres eaux congénères, des caractéristiques différentielles qui puissent expliquer l'anomalie.

Cela nous fait supposer qu'on a affaire à des systèmes dans un état d'évolution qui n'est pas vulgaire dans les eaux naturelles. On doit admettre qu'un équilibre vrai au sens physico-chimique n'est pas atteint à l'émergence et encore que cet état de faux équilibre se maintient pendant une période assez longue après le prélèvement.

Bien que cette lenteur d'évolution des solutions (ou des «soles») de silice ait été signalée par plusieurs auteurs, nous pensons que la présentation de cas ayant trait à des solutions naturelles de SiO_2 pourra contribuer à une connaissance plus approfondie de ces phénomènes.

Dans cette note on cite la méthode suivie pour la représentation des résultats analytiques et on fait son application à deux eaux de composition semblable, dont une présente l'anomalie.

On termine par quelques remarques sur la légitimité de la représentation adoptée et sur l'origine possible de l'anomalie.

1. Introduction

Dans les eaux de basse salinité dont le pH a une valeur inférieure à 8,35 on peut affirmer que la détermination classique de l'alcalinité donne un chiffre A qui exprime, en millival (milli-équivalents par litre), la concentration de CO_3H^- . Si l'on dose simultanément CO_2 total, on aura par différence CO_2 libre. À partir de la valeur du pH on peut confirmer les résultats obtenus.

Dans de nombreuses analyses d'eaux potables et minérales hiposalines dans ces conditions, nous n'avons jamais trouvé le cas: $A > C$ ⁽¹⁾ et, sauf pour des eaux fortement gazocarboniques, la confirmation à partir de la valeur du pH nous conduit presque toujours à un accord satisfaisant [1].

Quand on a $\text{pH} > 8,35$, l'alcalinité correspond à la somme des millival de toutes les bases fortes (anions d'acides faibles) qui existent dans la composition saline de l'eau.

Dans le cas le plus général on aura

$$\text{I) } A = [\text{CO}_3\text{H}^-] + 2 [\text{CO}_3^{-2}] + [\text{SH}^-] + [\text{BO}_2^-] + [\text{PO}_4\text{H}^{-2}] + [\text{SiO}_3\text{H}^-] \text{ (}^2\text{)}.$$

Si l'on détermine, par l'analyse, BO_2^- , PO_4H^- et SH^- , on aura

$$\text{II) } A' = A - [\text{BO}_2^-] - [\text{PO}_4\text{H}^{-2}] - [\text{SH}^-] = [\text{CO}_3\text{H}^-] + 2 [\text{CO}_3^{-2}] + [\text{SiO}_3\text{H}^-]$$

La distribution de C,

$$\text{III) } C = [\text{CO}_3\text{H}^-] + [\text{CO}_3^{-2}]$$

est faite à partir de la valeur du pH, en suivant la méthode des activités relatives, de McKinney [2], mais en employant la fonction:

$$\text{IV) } \beta (\text{pH}) = \frac{(\text{CO}_3\text{H}^-)}{(\text{CO}_3^{-2})} = \frac{f_1 [\text{CO}_3\text{H}^-]}{f_2 [\text{CO}_3^{-2}]},$$

ou f_1 et f_2 sont les coefficients d'activité que l'on calcule, en deux ou trois approximations successives, à partir de la force ionique μ [3].

⁽¹⁾ On désigne par C la concentration, en millimole/l, de CO_2 total.

⁽²⁾ Nous adoptons les symboles (X), [X], $\{X\}$, respectivement pour l'activité, la concentration molaire et la concentration équivalente de X, multipliées par 10^4 .

On obtiendra :

$$V) \quad [\text{CO}_3\text{H}^-] = \frac{\beta f_2}{f_1 + \beta f_2}$$

et, de l'expression III), on déduira $[\text{CO}_3^{-2}]$.

Dans quelques dizaines d'analyses d'eaux alcalines du Portugal, nous n'avons trouvé que deux cas où les valeurs, ainsi calculées, conduisent à : $A' > [\text{CO}_3\text{H}^-] + [\text{CO}_3^{-2}]$, c'est-à-dire, au cas :

$$[\text{SiO}_3\text{H}^-]^{(3)} > 0.$$

Dans ces cas on est obligé d'admettre que la silice existe total ou partiellement sous la forme dissociée. Bien que parfois une autre hypothèse soit possible, celle d'un faux équilibre du système $\text{CO}_3\text{H}^- - \text{CO}_3^{-2}$ elle est beaucoup moins probable, vu que l'évolution de ce système est relativement rapide et l'expérience nous montre que dans des récipients complètement remplis et bien bouchés ces eaux anormales conservent longtemps des valeurs très proches des valeurs initiales de A et du pH (4).

En admettant donc la première hypothèse, si S est la concentration, en millimole, de la silice total et a la fraction dissociée,

$$S' = a S = [\text{SiO}_3\text{H}^-], \text{ on tire de II et III:}$$

$$VI) \quad S' = A' - 2 C + [\text{CO}_3\text{H}^-].$$

$[\text{CO}_3\text{H}^-]$ nous est fourni par le calcul mentionné.

Une confirmation suffisante sera l'égalité des millival des ions des deux signes :

$$VII) \quad V^- = V^+$$

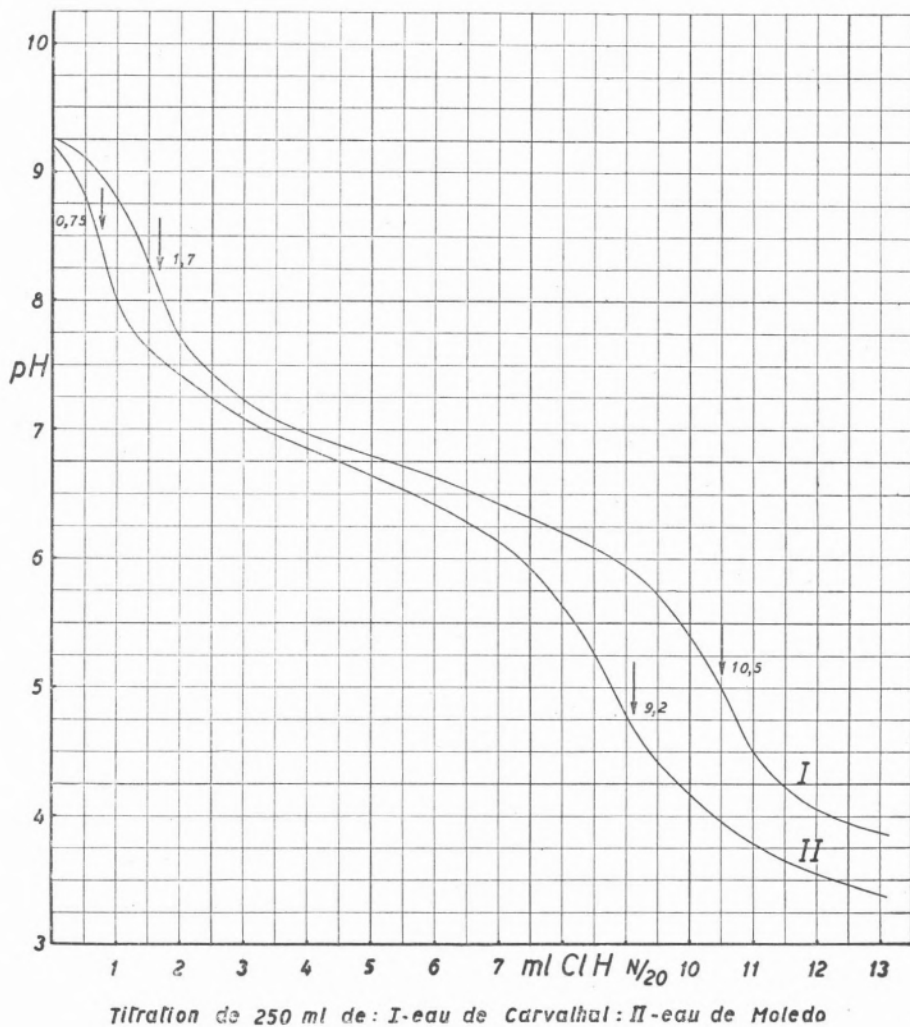
Remarquons cependant que cette égalité n'est pas directement une confirmation de l'existence du silicate mais montre seulement que l'alcalinité trouvée est d'accord avec les autres résultats analytiques.

(3) On suppose ici, uniquement pour simplicité, que l'anion dérivé de SiO_2 est le metasilicate acide mais, au fond, la question reste la même si on admet l'ion $\text{Si}_2\text{O}_5\text{H}^-$ ou un autre polysilicate.

(4) Dans la bibliographie hydrologique portugaise on trouve d'autres rares exemples de formulation de SiO_2 en silicate. Les anciens analystes l'adoptaient dès qu'ils trouvaient : $A' > 2 C$. Sinon, l'accord entre l'alcalinité et la condition $V^- = V^+$ était atteint, sans aucune dépendance du pH, en fixant convenablement le rapport

$$\frac{[\text{CO}_3\text{H}^-]}{[\text{CO}_3^{-2}]}$$

À ce propos nous devons dire que c'est notre habitude de chercher une autre confirmation de ces résultats en faisant passer l'eau par une résine échangeuse cationique et dosant, dans l'eau éluée, les anions



d'acides forts par neutrimétrie. Si P est le résultat de cette titration en millival, on doit avoir :

$$\text{VIII) } P + A = V^- = V^+$$

Nous avons trouvé toujours un accord satisfaisant.

2. Les eaux alcalines portugaises

Toutes les eaux portugaises de $\text{pH} > 8,35$ sont des eaux sulfurées sodiques. Avec une seule exception, toutes ces eaux présentent des teneurs élevées en fluor (jusqu'à 25 mg/l) et aussi en silice.

Elles ont une basse salinité (résidu de 200-500 mg/l).

Le borate et le phosphate y existent en des concentrations très basses et la sulfuration n'est pas accentuée. Parmi les cations, le sodium a une prédominance absolue: plus que 90 % des millival respectifs.

Étant donnée la zone de l'acidité réelle de ces eaux, la totalité de S^{-II} donnée par l'analyse est considérée sous la forme de SH^- .

3. Exemples

Nous nous occupons dans cette note d'une des deux exceptions rencontrées jusqu'à ce jour, c'est-à-dire, d'une eau où nous avons été obligés d'inclure le silicate dans le tableau des anions. Il s'agit de l'eau de Carvalhal (Source S. Lázaro) dont nous comparons les caractéristiques avec celle d'une autre eau du même type, Moledo (Source Piscina), pour laquelle l'analyse, comme c'est le cas général, n'a pas exigé la présence du silicate.

Dans les deux, l'examen a été très complet, comprenant le dosage de plus de 30 constituants et la détermination des constantes physico-chimiques habituelles.

Dans le tableau suivant nous ne mentionnons que les caractéristiques les plus importantes pour notre but.

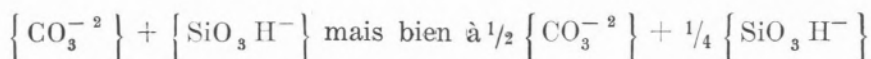
L'analyse complète conduit à une valeur négligeable de $\Delta = V^- - V^+$; dans les deux cas: $\Delta < 0,01$ mval. Le résultat du calcul ayant pour base les valeurs expérimentales de CO_2 total, de l'alcalinité et du pH s'accorde donc assez bien avec les autres données analytiques obtenues indépendamment. Cet accord est suffisant comme confirmation de l'analyse, mais l'hypothèse de l'existence de la silice dissociée dans l'eau de Carvalhal n'est qu'une «nécessité stécheométrique», justifiée par le fait que cette hypothèse est beaucoup plus plausible que celle d'un état de non-équilibre du système bicarbonate-carbonate ⁽⁵⁾.

Étant donnée la similitude de composition des deux eaux, on ne voit aucune raison d'ordre physico-chimique nous expliquant pourquoi dans l'eau de Moledo la silice est totalement indissociée et dans celle de Carvalhal au moins une partie de SiO_2 est sous la forme d'anion.

⁽⁵⁾ Considérant dans l'eau de Carvalhal toute la silice indissociée, on aurait $[\text{CO}_3^{--}] = 0,97$ et $[\text{CO}_3\text{H}^-] = 0,15$, ce qui exigerait, à l'équilibre, $\text{pH} > 11$.

Nous avons fait, pour les deux eaux, le titrage potentiométrique avec une solution 0,05 N de ClH en employant l'électrode de verre comme indicateur. Les deux courbes ont l'allure de la titration d'un mélange $\text{CO}_3^{-2} + \text{CO}_3\text{H}^-$, mais le point correspondant à la neutralisation de la moitié du carbonate qui, pour l'eau de Moledo, coïncide avec la prévision du calcul, s'en éloigne nettement pour Carvalho. Ce fait admet l'interprétation de la présence d'un autre anion d'un système dont la seconde constante d'acidité soit un peu supérieure à celle de CO_3H^- . La valeur de K_1 de SiO_3H_2 qu'on trouve dans la bibliographie, 2.10^{-10} [4] est, en effet, dans ces conditions.

En vérité, pour l'eau de Carvalho, on ne trouve pas un point d'inflexion qui corresponde à



Eau de:	Moledo	Carvalho	
Source	Piscina	S. Lázaro	
Température	38°,1	23°,9	—
pH	9,18	9,22	—
Alcalinité	1,94	2,22	m.val
Conductivité électrique (18°)	29,3	36,4	(ohm.cm). ⁻¹ 10 ⁻⁵
Indice cryoscopique	0,015	0,024	° C
Force ionique	4,03.10 ⁻³	4,62.10 ⁻³	—
Cl ⁻	0,646	0,795	m.val
F ⁻	1,000	1,268	»
SH ⁻	0,097	0,118	»
CO ₃ H ⁻	1,519	0,997	»
CO ₃ ⁻²	0,304	0,234	»
SO ₄ ⁻²	0,056	0,050	»
SiO ₃ H ⁻	0,00	0,852	»
Na ⁺	3,165	4,074	»
K ⁺	0,118	0,059	»
Li ⁺	0,023	0,027	»
Ca ⁺²	0,300	0,180	»
Mg ⁺²	0,010	0,004	»
Fe ⁺²	0,023	0,004	»
SiO ₂ totale	0,768	1,532	m.mole/l
CO ₂ total	1,671	1,114	»

On pourrait penser qu'il s'agit de l'acide SiO_4H_4 .

Le même titrage suivi par conductimétrie en H. F. nous a fourni des diagrammes avec trois points singuliers, nettement signalés, dont le premier seulement est d'interprétation facile puisqu'il correspond à l'alcalinité totale. Nous continuons à étudier cette titration car il paraît qu'elle permettra de doser neutrimétriquement le fluorure, base conjuguée de FH de force moyenne. Mais nous n'avons pas trouvé encore une preuve directe de l'ionisation de la silice dans l'eau de Carvalhal, preuve difficile bien que peut être possible ⁽⁶⁾.

4. Discussion

La seule différence évidente entre des deux eaux est celle de la température, plus basse dans l'eau silicatée. Cela ne peut constituer, cependant, une explication de l'anomalie car bien d'autres eaux froides du même type ne la présentent pas.

En admettant que tous les systèmes composant l'eau de Carvalhal sont en équilibre, on devait attribuer à la première constante d'acidité de SiO_3H_2 la valeur 7.10^{-10} , plus que trois fois supérieure à la valeur citée.

Mais il est inutile d'insister sur ce point, vu que l'expérience nous montre qu'il y a des eaux plus alcalines dans lesquelles la silice doit être considérée dans l'état moléculaire ou colloïdal.

Les affirmations de certains auteurs [5] [6] sur la polymérisation de l'acide silicique en solution ne paraissent pas applicables à des systèmes où la concentration totale de SiO_2 est de l'ordre de $1 \text{ à } 2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

À propos de la méthode colorimétrique à base de la formation du complexe silico-molybdique, nous avons discuté ce sujet [7] et trouvé des résultats s'accordant avec ceux de Lehrman et Shuldner [8], non sans avoir mis en évidence les contradictions qu'à ce propos on rencontre dans l'extense bibliographie sur ces questions.

Même l'action dépolymérisante de F^- sur l'acide silicique [9] ne peut pas être invoquée ici comme cause de l'anomalie, la presque totalité des eaux sulfurées sodiques portugaises étant fluorées. La seule explication possible de l'existence d'un anion silicate dans quelques eaux est d'admettre un état de faux-équilibre du système $\text{SiO}_2, \text{nOH}_2$. Le fait bien connu de la lenteur d'évolution de certaines phases de ce système rend plausible cette hypothèse.

⁽⁶⁾ Parmi d'autres difficultés on doit citer l'instabilité de l'eau qui, au contact de l'air, s'oxyde (SH^-) et se carbonate. Ces phénomènes se produisent donc pendant les essais de titration potentiométrique ou conductimétrique, de telle façon que l'alcalinité trouvée par ces moyens est toujours un peu plus basse qu'à l'émergence.

5. Conclusion

La grande majorité des eaux à l'émergence ont une composition où la silice est stéchiométriquement indissociée (probablement colloïdale). Dans des cas très rares, cependant, on est obligé de considérer cette substance, au moins partiellement, sous la forme d'anion se comportant comme une base forte, bien que la valeur du pH ne laisse pas prévoir la dissociation d'un acide que, dans autres eaux de réaction plus alcaline, ne se dissocie pas.

Vraisemblablement la silice «colloïdale» que, comme règle, nous trouvons dans les eaux naturelles, y existe dans un état avancé de l'évolution du système:

silicate — acide silicique — silice colloïdale,

évolution qui peut se terminer par une véritable floculation précédée d'un grossissement des micelles, phénomènes déjà signalés pour les solutions concentrées et que nous avons vérifiés aussi dans quelques eaux [7].

Les rares eaux silicatées, dont on connaît depuis longtemps des exemples analogues à celui qui fait l'objet de cette communication, seraient des systèmes plus jeunes dans lesquels l'ion silicate se maintiendrait, grâce à une valeur relativement haute du pH (présence de CO_3^{-2}).

Cela revient à dire que cette alcalinité, n'étant pas la cause de l'anomalie, peut être responsable de la persistance d'un état de faux équilibre.

L'origine de l'anomalie doit logiquement être recherché du côté de la genèse de ces eaux.

REFERENCES

- [1] Herculano de Carvalho, A. — Um processo de cálculo de CO_2 livre nas águas. *Rev. Q. P. e Aplic.*, xxxiii (1950).
- [2] McKinney — *Ind. Eng. Chem.-Analit. Ed. 3*, pg. 191 (1931).
- [3] Herculano de Carvalho, A. — Físico-Química das Águas. *Rev. Q. P. e Aplic.*, xxxv (1952).
- [4] Charlot, G. et Bézier, D. — *Analyse Quantitative Minérale*, pg. 677, Paris (1955).
- [5] Suckling — *The Examination of Water and Water Supplies*, pg. 303-4, Londres (1943).
- [6] Fricke und Hüttig — *Hydroxyde und Oxyhydrate*, pg. 134 ss., Leipzig (1937).
- [7] Herculano de Carvalho, A. — As soluções aquosas naturais de sílica. *Rev. Fac. C. Lisboa-II*, 85 (1953).
- [8] Lehrman, L. and Shuldner, H. L. — *J. A. W. W. A.*, 43, 175 (1951).
- [9] Piryutko e Shmidt — *Bull. Ac. Sc. URSS*, 4, 607 (1953); *cit. An. Chem.* Abril - Part. II, 563 (1956).

REACÇÃO CORADA DO ERGOSTEROL E DO DE-HIDRO-7-COLESTEROL

GOUVEIA, A. J. A. de, GOUVEIA, ALFREDO P. e FONSECA, M. H. R.

*Centro de Estudos de Química e Agrupamento Científico de Estudos
Ultramarinos, Laboratório Químico
Universidade de Coimbra - Portugal*

O tratamento prévio de soluções de ergosterol ou de-hidro-7-colesterol, em clorofórmio ou solventes similares, com certos agentes oxidantes — reagentes de adição da ligação etilénica — cloro, bromo, iodo, tetranitrometano, peróxido de hidrogénio, ácido perbenzóico, ozono, oxigénio — em determinadas condições, seguido de adição duma solução concentrada de tricloreto de antimónio, dá origem a um produto de reacção de cor vermelha violácea, intensa.

Reacção com tetranitrometano

Usámos inicialmente o tetranitrometano [1] nas seguintes condições:

Reagente — Solução saturada de tricloreto de antimónio, em clorofórmio, com 3 % em peso de *tetranitrometano*. A reacção realizava-se por adição dum excesso deste reagente, 5 ml, a 1 ml da solução de ergosterol ou de de-hidro-7-colesterol.

Ergosterol — As soluções resultantes da reacção apresentam cor vermelha violácea, estável durante cerca de 15 minutos, com uma banda bem definida em 520 $m\mu$, $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 230$ (Fig. 1). Contudo, a reprodução destes resultados não é absolutamente satisfatória, dependendo a intensidade e a estabilidade da cor de condições mal definidas. Dentro destas restrições, a lei de Beer verifica-se, com alguns afastamentos acidentais, entre 0,01 % e 0,05 % de ergosterol; para 0,063 % o afastamento é de -15 % e para 0,126 % de cerca de -25 % (Fig. 2).

Aumentando a percentagem de tetranitrometano, aumenta a intensidade de cor que passa por um máximo: 1 ml de solução de ergosterol a 0,015 %, 5 ml de solução saturada de tricloreto de antimônio em clorofórmio, com as quantidades de tetranitrometano a seguir indicadas e respectivas extinções:

mg de T. N. M.										
por ensaio ...	1,65	3,30	8,25	16,5	33,0	82,5	165	330	495	
$\log I_0/I$	0,375	0,448	0,456	0,475	0,490	0,525	0,544	0,530	0,385	
$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 520 $m\mu$...	150	179	182	190	196	210	221	219	162	

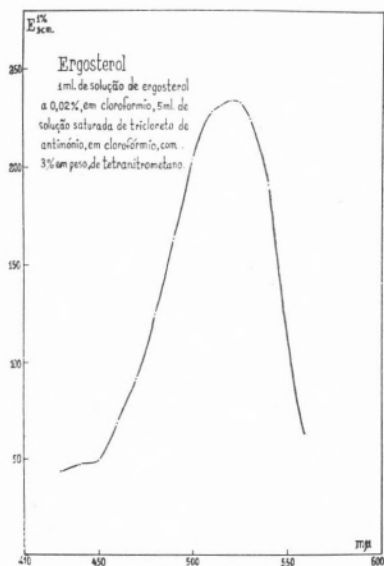


FIG. 1

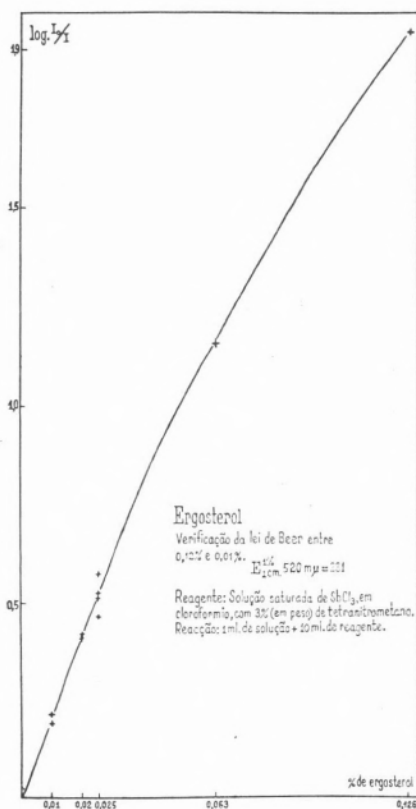


FIG. 2

O começo da saturação da cor verifica-se para mais de 10 mg de tetranitrometano (Fig. 3).

De-hidro-7-colesterol — Comportamento análogo ao do ergosterol;
 λ_{\max} 520 $m\mu$, $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 224$.

Escolha do solvente

Tanto com o tetranitrometano, como em sequentes ensaios com outros reagentes (iodo, ácido perbenzóico, cloro) verificou-se uma maior estabilidade do produto de reacção corado em soluções com dicloreto de etileno (dicloro-1,2-etano) [2].

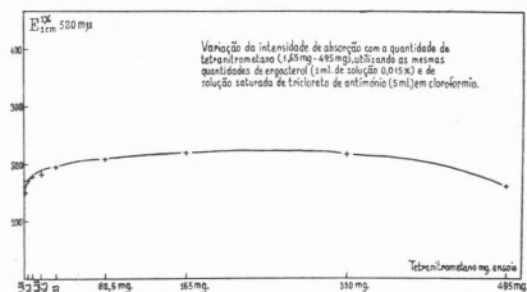


FIG. 3

Comparação da estabilidade do complexo, obtido em dicloreto de etileno e clorofórmio, com iodo:

Tempo	log (I _t /I) (dicloreto de etileno)	log (I _t /I) (clorofórmio)
5 min.	0,870	0,660
12 min.	0,840	0,448
20 min.	0,800	0,322
22 min.	0,800	0,305

No dicloreto de etileno a estabilidade é muito maior. Também no dicloreto de etileno a solubilidade do tricloreto de antimónio é muito maior e as soluções são mais estáveis e de fácil manejo.

O tetracloreto de carbone não solubiliza quantidade suficiente de tricloreto de antimónio, dando ensaio praticamente negativo.

Escolha do reagente

Referimos anteriormente a formação de complexo na presença de tetranitrometano. Consideremos agora outros reagentes.

Cloro

Solução de ergosterol, em dicloreto de etileno, a 0,1356 %, solução de tricloreto de antimónio a 33 %.

1.º) 1 ml de solução de ergosterol diluída 10 vezes, 5 ml da solução de tricloreto de antimónio e fazer passar imediatamente uma corrente de cloro: cor vermelha violácea que vai aumentando rapidamente e que pela continuação da passagem de cloro desaparece também rapidamente.

2.º) 1 ml de solução de ergosterol 0,0678 %, diluído com dicloreto de etileno. Fazer borbulhar cloro em excesso; expulsar o cloro a quente e evaporar à secura, em vazio com banho de água; dissolver o resíduo em 10 ml de dicloreto de etileno. 1 ml desta solução mais 5 ml de solução de tricloreto de antimónio dá ensaio negativo; adicionando 2 gotas duma solução de iodo decinormal, o ensaio mantém-se negativo.

3.º) 1 ml de solução de ergosterol a 0,1356 %, 5 ml de dicloreto de etileno, cloro em excesso durante mais de 5 minutos. Expulsar o excesso de cloro com dióxido de carbone e proceder como anteriormente. Ensaio negativo mesmo na presença de iodo.

4.º) 1 ml de solução de ergosterol, em dicloreto, 0,01356 %, 2 gotas de solução decinormal de cloro, em dicloreto, e 5 ml de solução de tricloreto de antimónio. Ensaio positivo, λ_{\max} 520 $m\mu$. $E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} = 392 (*)$.

5.º) Ensaio anterior, com 4 gotas de solução de cloro; obteve-se a mesma cor, um pouco menos intensa, $E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} 520 \text{ } m\mu = 333$.

Peróxido de hidrogénio

As soluções de ergosterol, em dicloreto de etileno, tratadas com água oxigenada, separadas e secas, pelo ensaio habitual revelam cor vermelha violácea, fraca.

Ozone

Fez-se borbulhar ozone na solução de ergosterol 0,01356 %; por adição da solução de tricloreto de antimónio, nas condições usuais, não se produz cor e há formação dum precipitado. Ensaio semelhante ao do cloro.

Ácido perbenzóico

Efeito da quantidade de ácido perbenzóico — 1 ml de solução de ergosterol 0,009 %, 1, 2 ou 6 gotas de ácido perbenzóico decinormal, ou 2 gotas de ácido perbenzóico normal, e, após 5 minutos, adição de

* Com as nossas pipetas calibradas, cada gota de soluções diluídas, em dicloreto de etileno, mede 0,012 - 0,013 ml.

5 ml de solução de tricloreto de antimónio e determinação imediata da intensidade de absorção em 520 $m\mu$:

Ácido perbenzóico	1 gota N/10	2 gotas N/10	6 gotas N/10	2 gotas N/1
log (I_0/I)	0,638	0,730	0,540	Não aparece cor e a solução turva.

Efeito do tempo de leitura no 2.º ensaio — (2 gotas de ácido perbenzóico N/10).

Minutos...	1,5	3	5	10
log (I_0/I)	0,730	0,715	0,700	0,670

Outro ensaio — Ergosterol 0,0161 %, 2 gotas de ácido perbenzóico N/10, com período de acção de 5 minutos:

Minutos	2	3	5	7	9
log (I_0/I)	1,320	1,317	1,317	1,300	1,245

Boa estabilidade da cor da solução com o tempo.

Efeito do período de acção do ácido perbenzóico

Ergosterol 0,0149 %, 2 gotas de ácido perbenzóico N/10.

Minutos	1	2	3	5	10	15	20	30
log (I_0/I)	0,920	1,086	1,225	1,225	1,312	1,347	1,337	1,295

Há estabilização de cor aos 5 minutos.

O ensaio executado nas condições anteriormente estabelecidas, 1ml de solução de ergosterol, em dicloreto de etileno, 2 gotas de ácido perbenzóico N/10, no mesmo solvente, 5 minutos para o período de acção do ácido perbenzóico, adição de 5 ml de solução de tricloreto de antimónio a 33 %, no mesmo solvente, e leitura imediata da absorção em 520 $m\mu$, permite determinar 2 μg de ergosterol, observando-se ainda a cor visualmente. Em técnica de gotas o ensaio dá positivo com 0,1 μg de ergosterol (1 gota de solução de ergosterol com 0,1 μg , 1 gota de ácido perbenzóico 0,03 N e 10 gotas de solução de tricloreto de antimónio).

O valor da extinção, com ergosterol, é $E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} 520 \text{ m}\mu = 690$.
O de-hidro-7-colesterol comporta-se duma maneira semelhante com $E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} 520 \text{ m}\mu = 670$.

O ácido perbenzóico não pode ser adicionado previamente à solução de tricloreto de antimónio, pois dá ensaio negativo ou muito fraco.

A reacção com o ácido perbenzóico apresenta boa sensibilidade, a cor da solução é estável e há pouca influência do tempo de mistura da solução da provitamina D e ácido perbenzóico, antes da adição do tricloreto de antimónio; como o ácido perbenzóico é incolor, não interfere com a cor do produto de reacção, constituindo um bom ensaio qualitativo. Veremos adiante que os inconvenientes do ácido perbenzóico, além da sua instabilidade, resultam principalmente de interferências acentuadas com o colesterol.

Se tratarmos a solução diluída de de-hidro-7-colesterol com ácido perbenzóico, removermos o excesso de ácido com bicarbonato ou hidróxido de sódio, lavarmos a solução com água e a secarmos com sulfato de sódio anidro, 1 ml desta solução com 5 ml da solução de tricloreto de antimónio dá ensaio positivo, com aparecimento da cor habitual. A solução seca, tratada com uma solução aquosa de iodeto de potássio ou tiosulfato de sódio, depois de lavada e novamente seca, continua a dar ensaio com a solução de tricloreto de antimónio, aparecendo a cor habitual. O tratamento com ácido perbenzóico modifica o espectro de absorção ultravioleta do de-hidro-7-colesterol, diminuindo a intensidade e desaparecendo completamente a absorção selectiva.

Ensaio — Solução de de-hidro-7-colesterol 0,0073 %. Extinções em 520 *m μ* , segundo os tratamentos anteriores:

	Inicial	Após extracção com NaOH	Após extracção com Na ₂ S ₂ O ₃
log I ₀ /I	0,665	0,571	0,565

O produto de reacção do de-hidro-7-colesterol com o ácido perbenzóico não é extraído por bases, nem reduzido pelo iodeto ou tiosulfato, e dá ensaio positivo com a solução de tricloreto de antimónio λ_{\max} 520 *m μ* . Ainda, a adição de iodo não aumenta a intensidade de cor.

A dosagem iodométrica do ácido perbenzóico, consumido pelo de-hidro-7-colesterol, nas condições óptimas do ensaio para a formação do complexo, dá uma molécula-grama de ácido perbenzóico por molécula-grama de de-hidro-7-colesterol \pm 1,8 %.

Iodo

Utilizámos ergosterol purificado; em referência aos resultados espectrofotométricos, o grau de pureza obtido não excedeu 0,915 [3].

Efeito da quantidade de iodo

Solução de de-hidro-7-colesterol 0,00891 %;

mg de I ₂ por ensaio	log (I ₀ /I)	E 1% 1 cm 520 m μ
0,017	0,235	186
0,033	0,450	355
0,050	0,615	486
0,067	0,670	529
0,084	0,710	561
0,100	0,720	569
0,134	0,775	612
0,167	0,795	628
0,334	0,805	635
0,501	0,820	648
0,668	0,820	648
0,835	0,820	648
1,00	0,805	635
1,17	0,805	635
3,34	0,775	612

De 1 gota de solução de iodo N/10 (0,167 mg de I₂) a 20 gotas (3,34 mg) não há grande variação de cor, sendo a concentração óptima 2 gotas (0,334 mg), Fig. 4.

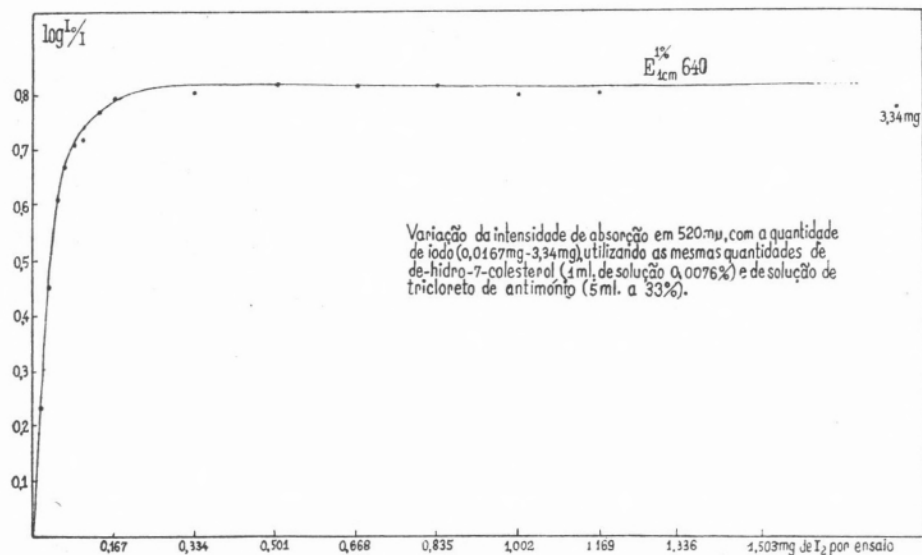


FIG. 4

Efeito do tempo de leitura

A cor é estável durante quinze minutos ou mais.

Efeito do período de acção do iodo

Solução de ergosterol 0,01356%. Para verificar o efeito do tempo na mistura ergosterol-iodo, antes da adição da solução de tricloreto de antimónio, a 1 ml da solução de ergosterol juntámos 2 gotas de iodo N/10 e imediatamente (Ensaio 1), 3 minutos após (Ensaio 2) ou 4 minutos depois (Ensaio 3) 5 ml da solução de tricloreto de antimónio:

	Ensaio 1 imediatamente	Ensaio 2 3 minutos	Ensaio 3 4 minutos
$\log I_0/I$	1,158	0,886	0,660
$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 520 $m\mu$	512	392	292

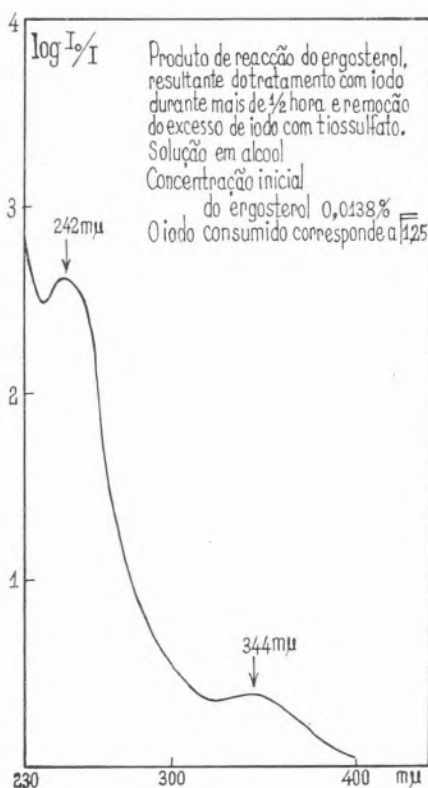


FIG. 5

Depois de 40 minutos da adição de iodo, não há praticamente cor com a solução de tricloreto de antimónio; com a acção do iodo verifica-se simultaneamente um abaixamento da intensidade da banda do ergosterol em 284 $m\mu$, com profunda modificação da absorção selectiva. Com efeito, tratou-se uma solução de ergosterol 0,0138 %, em tetracloreto de carbone, com um excesso de iodo durante mais de meia hora; removeu-se o excesso de iodo com tiosulfato de sódio, lavou-se, secou-se com sulfato de sódio, evaporou-se o solvente em vazio, dissolveu-se o resíduo em álcool e obteve-se o espectro de absorção indicado na Fig. 5, com máximos em 242 $m\mu$ e 344 $m\mu$.

O iodo consumido correspondia a um pouco mais de uma ligação etilénica, 1,25.

O resíduo anterior, em solução, nas condições habituais, dá ensaio negativo com solução de tricloreto de antimónio e iodo.

Uma solução de ergosterol em dicloreto de etileno, tratada durante mais de meia hora com iodo, nas condições de ensaio, e eliminado o excesso com tiosulfato de sódio e o resíduo passado para álcool, dá

um espectro de absorção sem bandas. O resíduo, dissolvido em dicloreto de etileno, dá ensaio negativo.

Também 10 ml de solução de ergosterol, 0,0125%, adicionados de 20 gotas de solução de iodo N/10, imediata e sucessivamente extraídos com uma solução aquosa de iodeto de potássio, até à remoção do iodo (praticamente incolor), dão depois de secos ensaio negativo. Antes do tratamento com o iodeto de potássio a solução dava a cor habitual.

Efeito da mistura iodo e tricloreto de antimónio

Como a acção do iodo é muito rápida e nas soluções de ergosterol ou de-hidro-7-colesterol, tratados com este reagente, se verifica, com o tempo, um rápido declínio na formação do complexo, realizámos as seguintes experiências, com o fim de verificar a possibilidade de administrar o iodo à solução de tricloreto de antimónio:

Ensaio 1 – 5 ml de solução de tricloreto de antimónio, 2 gotas de solução de iodo N/10 e 1 ml de solução de ergosterol a 0,0122 %.

Ensaio 2 – 1 ml de ergosterol, 2 gotas de solução de iodo e 5 ml de solução de tricloreto de antimónio.

Ensaio 3 – 5 ml de solução de tricloreto de antimónio e 2 gotas de solução de iodo (deixados durante 24 horas) e depois 1 ml de solução de ergosterol.

Tempo minutos	Ensaio 1 log I ₀ /I	Ensaio 2 log I ₀ /I	Ensaio 3 log I ₀ /I
4	1,187	1,205	1,184
6	1,184	1,202	1,172
8	1,182	1,200	1,170
10	1,181	1,202	1,168

Verifica-se que o reagente se mantém mais de 24 horas, com o iodo adicionado; que a diferença, para os resultados com o iodo separado, é inferior a 2 %; que as estabilidades de cor são boas.

Lei de Beer

Partindo de 1 ml de solução de ergosterol, com as concentrações abaixo indicadas, e de 5 ml de solução de tricloreto de antimónio, com

2 gotas de iodo N/10 (cerca de 0,334 mg de iodo), obtiveram-se as seguintes extinções:

% de ergosterol ...	0,0420	0,0336	0,0252	0,0168	0,0084	0,0076	0,0067	0,0059	0,0050	0,0042
$E_{1\text{ cm}}^{1\% 520\text{ m}\mu}$	585	571	589	571	585	575	580	578	584	582
% de ergosterol ...	0,0034	0,0025	0,0017	0,0008						
$E_{1\text{ cm}}^{1\% 520\text{ m}\mu}$	575	571	546	728						

Boa verificação da lei de Beer, com excepção das soluções muito diluídas, (Fig. 6).

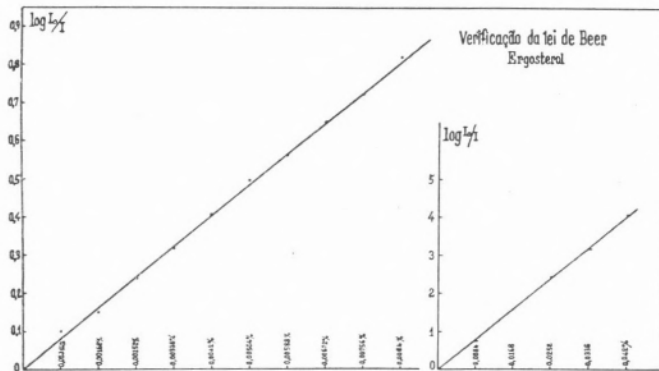


FIG. 6

O valor da extinção, com o ergosterol por nós purificado é:
 $E_{1\text{ cm}}^{1\% 520\text{ m}\mu} = 586$; aplicando o factor 1,092 de correcção de pureza, determinado por espectrofotometria, temos $E_{1\text{ cm}}^{1\% (\text{cor.}) 520\text{ m}\mu} = 640$ (Fig. 7).

O comportamento do de-hidro-7-colesterol é análogo ao do ergosterol; obtivemo-lo puro; a curva de absorção do complexo é análoga à obtida com o ergosterol (corrigida) (Fig. 7). Verifica-se também a lei de Beer (Fig. 8):

% de de-hidro-7-colesterol —	0,00136	0,0027	0,0068	0,0136
$E_{1\text{ cm}}^{1\% 520\text{ m}\mu}$	—	611	574	644
			644	640

Efeito da concentração do reagente na estabilidade do complexo

Utilizámos uma solução de de-hidro-7-colesterol a 0,0091%, em dicloreto de etileno, e partimos duma solução de tricloreto de antimónio a 33,3%, no mesmo solvente, que submetemos a diluições; em cada ensaio os 5 ml das soluções de tricloreto continham sempre 2 gotas de iodo N/10.

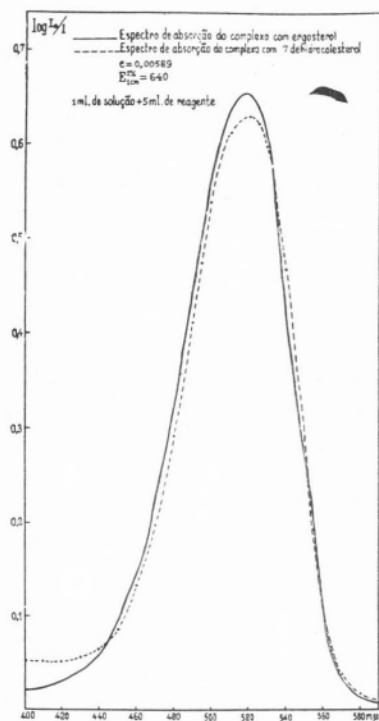


FIG. 7

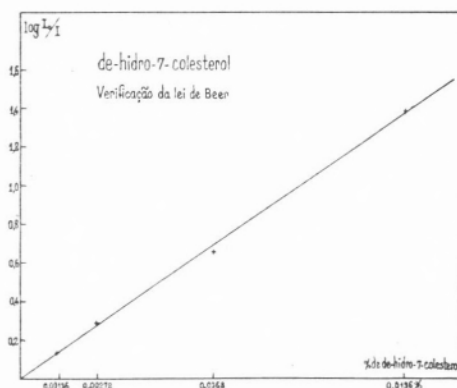


FIG. 8

Diluições da solução de tricloreto de antimónio a 33,3 %

Diluições da solução de tricloreto de antimónio a 33,3 %	$\log I_0/I$
0,1	0,340
0,2	0,590
0,3	0,784
0,4	0,930
0,5	0,950
0,55	0,950
0,6	0,932
0,65	0,940
0,7	0,965
0,8	0,945
1,0	0,940

A estabilidade da cor com o tempo aumenta com a concentração do reagente; o tempo de formação, quase instantâneo para soluções concentradas de tricloreto de antimônio, torna-se mais longo para soluções diluídas, aumentando também a instabilidade (a cor passa por um máximo sem se deter) e sendo a reacção incompleta.

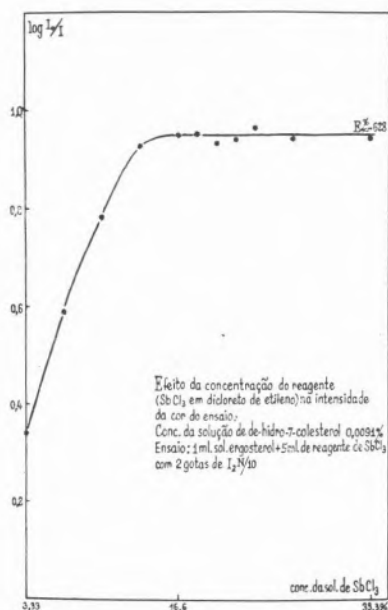


FIG. 9

O reagente de tricloreto a 33 %, diluído a 1/25, dá ensaio muito fraco; $\log I_0/I = 0,080$ esta solução reagente (1,33 %), saturada com cloro, expulso o excesso deste e feito o ensaio usual (com adição de iodo) dá ensaio positivo, ainda com $E_{1\text{ cm}}^{1\%} 520\text{ m}\mu = 332$ ($\log I_0/I = 0,720$).

Reacções com outros esteróis

Os esteróis saturados, colestanol e ergosterol, dão ensaios negativos com todos os reagentes; comportam-se, semelhantemente, os esteróis com uma ligação etilénica, endocíclica, separada do grupo hidroxílico 3, pelo menos, por três átomos de carbone — di-hidro-

-ergosterol [4], α -ergosterol [4], β -ergosterol [5], óxido de α -ergosterol [6].

As soluções de colesterol (-ol-3, $\Delta^{5,6}$) a 1% ou 2% não dão inicialmente reacção com o reagente com tetranitrometano (até 10 minutos). Uma solução de colesterol a 0,2%, passadas 24 horas, dá uma cor vermelha com uma banda bem definida, $\lambda_{\text{max}} 560\text{ m}\mu$ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 54$), Fig. 10. Com o colesterol a 2%, após 3h 45 min, cor vermelha com máximos em $500\text{ m}\mu$ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 14,3$) e $560\text{ m}\mu$ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 9,2$); depois de 4h 30 min, espectro com os máximos nas mesmas posições e intensidades respectivamente 19,2 e 11; após 5h 30min verificou-se aumento na intensidade da banda em $500\text{ m}\mu$ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 27,5$) e menor intensidade na banda $560\text{ m}\mu$ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 8,5$), numa solução equivalente às anteriores, mas mantida às escuras, em vez de à luz difusa (Fig. 10). Esta solução após 28 h apresenta uma intensa cor vermelha-vinosa, com os máximos

em 530 $m\mu$. ($E \frac{1\%}{1\text{ cm}} 67,5$) e 560 $m\mu$. ($E \frac{1\%}{1\text{ cm}} 62$); depois de 50 horas mantém-se a intensificação de cor, com os mesmos máximos ($E \frac{1\%}{1\text{ cm}} 530\text{ } m\mu = 100$; $E \frac{1\%}{1\text{ cm}} 560\text{ } m\mu = 84$), Fig. 10.

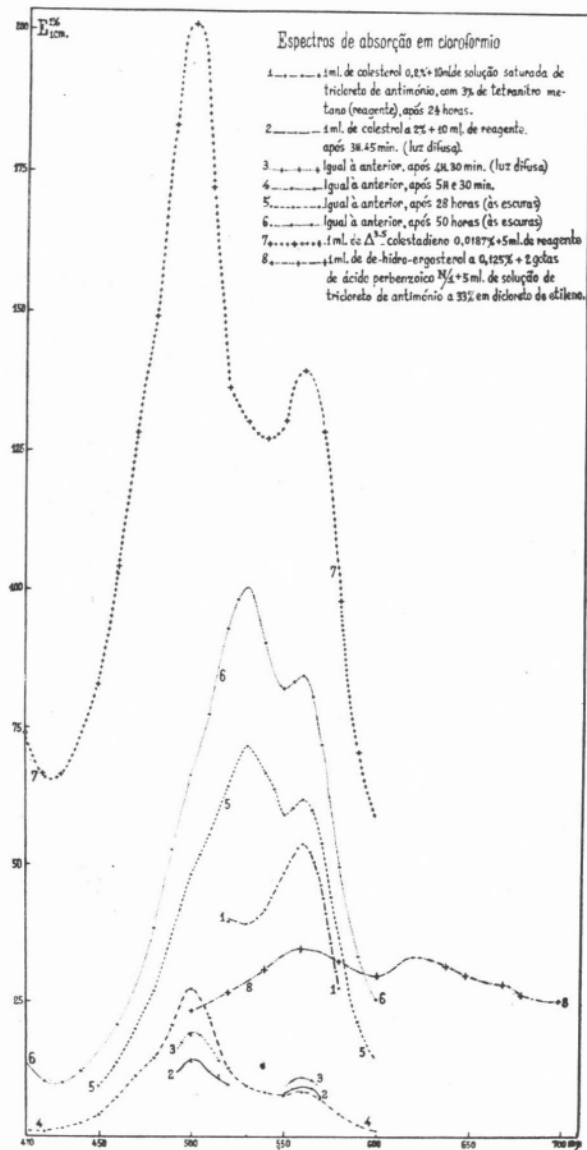


FIG. 10

O tetranitrometano inibe a formação do complexo durante 90 minutos na solução a 2 % de colesterol, 3 horas na solução a 1 % e mais de 6 horas com a solução a 0,5 %. Com segurança, não há interferência do colesterol nos primeiros 8 a 10 minutos.

O colesterol com o cloro dá de início uma cor acastanhada que com o tempo evolui para rósea.

O reagente com ácido perbenzóico dá uma interferência marcada com o colesterol; o reagente com iodo não dá praticamente interferência, supondo nós que um ligeiro acréscimo da absorção em 520 $m\mu$, verificado de início, é devido a uma impureza, possivelmente de-hidro-7-colesterol (Fig. 11).

Tanto para o ergosterol, como para o de-hidro-7-colesterol, verifica-se a lei de Beer, na presença de quantidades elevadas de colesterol (Fig. 12).

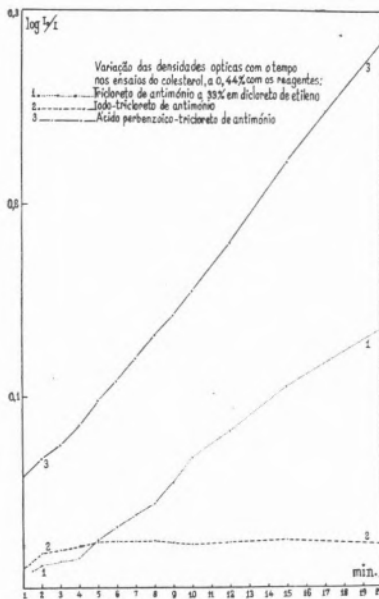


FIG. 11

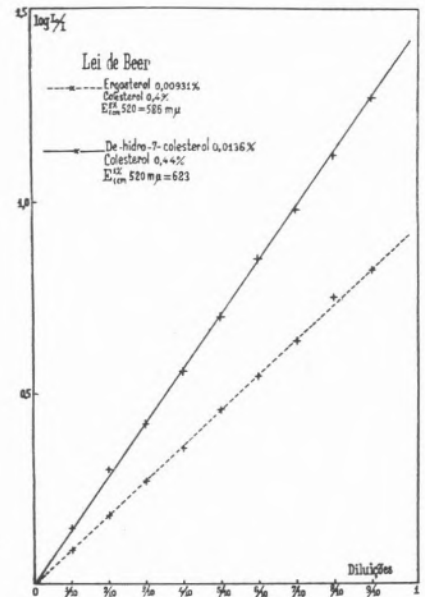


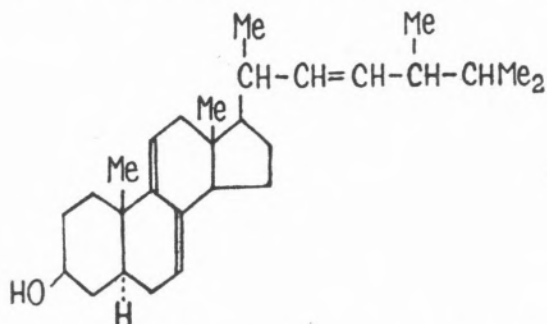
FIG. 12

Com ácido perbenzóico é reconhecível a presença das provitaminas D, numa solução com colesterol, na relação 1/2.000.

Na presença de redutores (hidrossulfito de sódio, hidroquinona) o reagente de tricloreto de antimônio não dá cor com o colesterol.

O de-hidro-ergosterol [6], com duas insaturações conjugadas, distribuídas nos anéis C e D, com o reagente de iodo, dá em solução a 0,1 % cor amarela intensa, pouco estável; com soluções mais diluídas, 0,01 %,

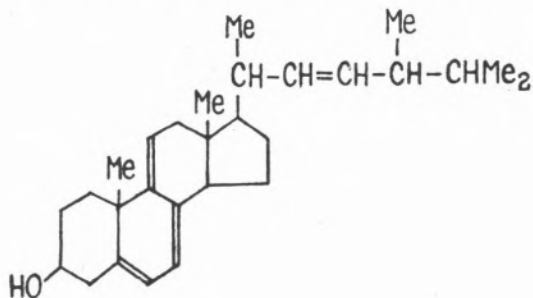
verifica-se apenas ligeira diminuição da cor do iodo; com o ácido perbenzóico o ensaio é negativo. O ergosterol D [7] tem um compor-



tamento análogo ao anterior, dando com o reagente de iodo, em concentrações de 0,1 %, cor amarela que aumenta de intensidade e passa a amarelo com fluorescência verde, λ_{\max} 440 $m\mu$, $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 440 $m\mu$ = 40, $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 520 $m\mu$ = 8,7. Com soluções diluídas, 0,01 %, verifica-se ligeira diminuição da cor do iodo; com ácido perbenzóico aparecimento de ligeira cor amarela.

O colestadieno-3,5 [8], com o reagente de tetranitrometano, dá, num curto espaço de tempo, uma cor vermelha intensa, semelhante à revelada lentamente com colesterol. O espectro de absorção, apresenta uma banda principal em 500 $m\mu$ e outra em 560 $m\mu$, com as intensidades, indicadas na curva 7 da Fig. 10, depois de estabilização (cerca de 20 minutos). As bandas em 500 $m\mu$ e 560 $m\mu$ devem corresponder às bandas determinadas na primeira fase da revelação de cor com soluções de colesterol (Curvas 1, 2, 3 e 4 da Fig. 10). O colestadieno revela também cor, sem tetranitrometano, embora mais lentamente. Na Fig. 13 vão indicadas as variações das intensidades de absorção em 500 $m\mu$ e 560 $m\mu$ com o tempo, nas revelações de cor com colesterol e colestadieno.

O de-hidro-ergosterol [9], com três ligações duplas conjugadas,



distribuídas nos anéis *B* e *C*, nas condições habituais de ensaio, com solução a cerca de 0,01 % e 2 gotas de ácido perbenzóico N/10, dá ensaio muito fraco com ligeira cor amarela; aumentando a concentração do ácido perbenzóico, 1 ou 2 gotas de solução N/1, obtém-se uma cor ligeira arroxeadada; aumentando também a concentração da solução de de-hidro-ergosterol e deixando actuar, como nos casos anteriores, o ácido perbenzóico durante 10 minutos, obtém-se uma cor azul intensa, λ_{\max} 560 e 620 $m\mu$ (Fig. 10). Com o reagente de iodo, 5 ml de solução de tricloreto de antimónio a 33 % em dicloreto de etileno, 2 gotas de iodo N/10 e 1 ml de de-hidro-ergosterol a 0,140 %, cor amarela; repetindo o ensaio com a solução diluída a 0,014 %, verifica-se ligeira diminuição da cor do iodo.

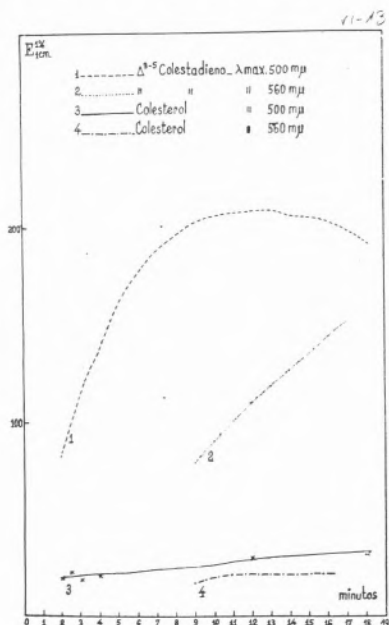


FIG. 13

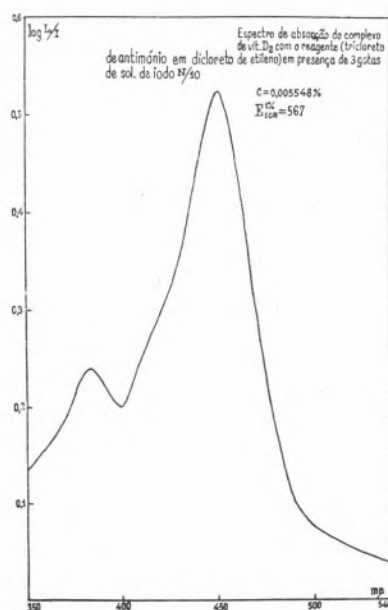


FIG. 14

A metilação do hidroxilo do ergosterol, com obtenção do éter metil-ergostenílico [10], não tem grande influência na formação do complexo, apresentando as soluções as mesmas cores e a mesma localização do máximo (520 $m\mu$); a intensidade de absorção é um pouco maior: com ácido perbenzóico, $E_{1\text{ cm}}^{1\%} 520\text{ m}\mu = 684$.

A vitamina D_2 (calciferol) dá com soluções de tricloreto de antimónio em clorofórmio ou dicloreto de etileno uma cor amarela intensa

com máximo em 500 $m\mu$. Com o reagente de iodo, 5 ml de solução de tricloreto de antimónio, em dicloreto de etileno, 3 gotas de iodo N/10 e 1 ml de solução de vitamina D₂ 0,005548 %, o espectro de absorção é deslocado para menores comprimentos de onda com máximos em 450 $m\mu$ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 567$) e 385 $m\mu$ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 260$); em 520 $m\mu$ o valor da extinção é $E_{1\text{ cm}}^{1\%} 58,3$ (Fig. 14). Nas determinações espectrofotométricas, comparando com o reagente de iodo, como este reage com a vitamina D, desaparecendo a cor, a correcção é negativa (de -0,06 a -0,07). A cor obtida com a vitamina D₂ aumenta até estabilizar (cerca de 10 minutos). As duas gotas de iodo N/10 são suficientes não aumentando a intensidade de absorção com mais iodo.

Escolha do reagente

Considerando os resultados experimentais atrás referidos, verifica-se que os reagentes, com iodo ou com ácido perbenzóico, apresentam maior sensibilidade do que o reagente com tetranitrometano. Também, há melhor verificação da lei de Beer, pois, com o tetranitrometano a reacção não é completa, aumentando a intensidade de cor com a percentagem deste reagente, ao mesmo tempo que a cor se torna mais instável. O reagente de iodo, sob o ponto de vista quantitativo, apresenta vantagens sobre o reagente com ácido perbenzóico; o efeito da concentração do iodo é menor e o ensaio é menos interferido pelo colesterol e outros esteróides; o iodo pode ser previamente adicionado à solução de tricloreto de antimónio, enquanto o ácido perbenzóico não, sendo necessário um certo tempo de actuação sobre a solução das provitaminas D. O reagente com ácido perbenzóico é vantajosamente utilizado em ensaios qualitativos visto o reagente ser incolor.

O dicloreto de etileno foi escolhido para solvente, visto dar cor mais intensa e estável. O reagente iodo-tricloreto de antimónio, em dicloreto de etileno pode ser definido pela densidade óptica em 520 $m\mu$: 2 gotas de iodo decinormal em 5 ml de solução $D = 0,220$.

Estabelecemos a seguinte técnica para o ensaio quantitativo com o reagente de iodo: a 1 ml de solução, contendo 0,4 — 0,008 mg de ergosterol ou de-hidro-7-colesterol, juntar 5 ml de reagente, constituído por 33g de tricloreto de antimónio e 10 mg de iodo, em 100 ml de dicloreto de etileno, e medir a absorção em 518 ou 520 $m\mu$, contra um branco de reagente.

Discussão do processo analítico

A espectrofotometria ultravioleta constitui um processo analítico importante na determinação qualitativa e quantitativa das provita-

minas D. A banda, com estrutura, é muito característica e, como a sua intensidade é elevada, permite identificar estas substâncias em produtos naturais. Contudo, a absorção irrelevante, proveniente de várias substâncias, não permite em geral determinações quantitativas rigorosas.

Há numerosas reacções de cor para o ergosterol e de-hidro-7-colesterol, mas todas elas apresentam falta de especificidade ou de sensibilidade. A reacção com tricloreto de antimónio, em clorofórmio ou outros solventes similares dá origem a cores muito fracas: ergosterol

$E_{1\text{ cm}}^{1\%} 505\text{ m}\mu = 12,4$; de-hidro-7-colesterol $E_{1\text{ cm}}^{1\%} 520\text{ m}\mu = 7,0$ [11].

A reacção das provitaminas D com o reagente de iodo, ou ácido perbenzóico, e tricloreto de antimónio é muito sensível e específica do sistema insaturado, conjugado, endocíclico, no anel B; a reacção não é interferida pelo colesterol, nem sensivelmente por quantidades apreciáveis de vitamina D. Substâncias, até agora estudadas, com duas ligações duplas conjugadas, distribuídas nos aneis C e D, praticamente não interferem com o ensaio. O de-hidro-ergosterol, com três ligações duplas conjugadas, distribuídas nos aneis B e C, também não tem influência apreciável.

Podemos assim concluir que esta reacção das provitaminas D associa a uma grande sensibilidade ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} 520\text{ m}\mu = 640$, com o iodo e ainda um pouco mais elevado com o ácido perbenzóico) uma grande especificidade, reproduzindo-se bem os resultados.

Discussão da natureza da reacção

Considera-se que os produtos corados obtidos pela reacção das vitaminas A e D e, também, dos carotenos, com certos halogenetos metálicos electrofílicos, são devidos à formação de complexos, constituídos por uma parte orgânica cationóide, carbonião estabilizado por ressonância, e dum anião inorgânico que contém o metal electrofílico. Considerando a reacção com os cloretos de antimónio, foi verificado que esta se passa com o pentacloreto, em quantidades equimoleculares com as vitaminas A e D e de 2:1 na relação $\text{SbCl}_5/\text{caroteno}$ [12].

O produto de reacção das provitaminas D com o reagente de iodo-cloreto de antimónio resulta da acção com o pentacloreto e comporta quantidades equimoleculares deste reagente e de provitamina D. Com efeito, partindo do reagente de tricloreto de antimónio, diluído a 1,6 %, que dá ensaio quase negativo com as provitaminas D, por saturação com cloro e remoção do excesso, o reagente passa a dar ensaio positivo, na presença de iodo, ou por prévio tratamento da solução de provitaminas com ácido perbenzóico. Utilizando o método

das variações contínuas, embora com uma certa dificuldade, em virtude de se verificar para as baixas concentrações de reagente, reacção lenta, acompanhada de destruição do produto formado, parece não haver dúvidas de que, na formação do complexo, a uma mole de provitamina corresponde uma mole de pentacloreto (Fig. 15).

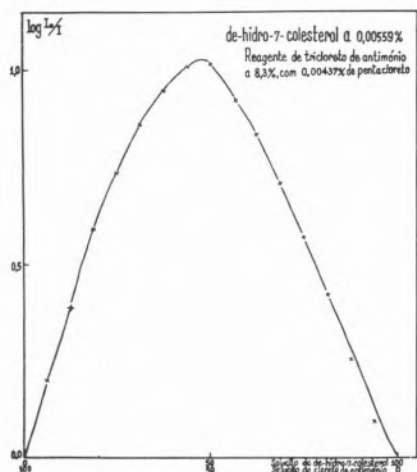
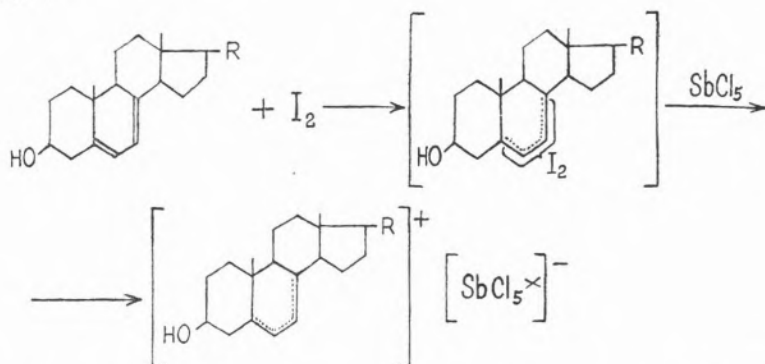


FIG. 15

Em que consistirá a reacção? Qualquer dos reagentes utilizados dá produtos de adição com a ligação etilénica. Considerando a adição de iodo, verifica-se que o contacto deste com as provitaminas diminui ou anula o ensaio, havendo neste último caso um consumo de iodo correspondente a uma ligação etilénica ou um pouco mais. Isto mostra que, se a adição ao sistema diénico se torna efectiva, o composto deixa de reagir com o pentacloreto de antimónio. Temos de admitir que inicialmente se dá reacção com

o composto diénico, pois, no caso do ácido perbenzóico, se este for adicionado à solução do tricloreto, o ensaio passa a ser negativo, e, na adição à solução do esterol, exige um certo tempo de acção para se obter a saturação de cor. Temos portanto de admitir a formação de um intermediário e, em virtude de termos indicação da equimolecularidade do esterol-pentacloreto de antimónio, propomos a seguinte hipótese:



Com o ácido perbenzóico há formação dum produto de adição mais estável (não removido pelas bases fortes e não reductível pelo tiosulfato ou iodeto) que sequentemente reage com o halogeneto de antimónio.

Com o colesterol a reacção é inicialmente diferente, pois, começa pela eliminação de água que cria um grupo diénico semelhante ao do colestadieno-3,5. Este dá reacção quase imediata com o reagente de iodo-cloreto de antimónio, por intermédio do sistema diénico conjugado, distribuído pelos anéis *A* e *B* ou *A*; estas duas possibilidades poderão interpretar a estrutura da banda e evolução do espectro.

O espectro do produto derivado do de-hidro-ergosterol, com bandas para maiores comprimentos de onda (λ_{\max} 560 e 620 *m μ*), é interpretada pela estrutura do complexo com um carbonião mesomérico num sistema triénico; a menor intensidade das bandas deve estar relacionada com a maior estabilidade do sistema triénico que exigiria uma maior energia de activação para a formação do intermediário; é de notar que o sistema triénico está localizado pelos átomos de carbone quaternários adjacentes..

O carácter exocíclico da insaturação da vitamina D₂ deve ser responsável pela cor, com absorção selectiva para menores comprimentos de onda (λ_{\max} 384 e 450 *m μ*).

SUMMARY

The previous addition of certain oxidizing agents (chlorine, bromine, iodine, tetranitromethane, hydrogen peroxide, perbenzoic acid), in determined conditions, to ergosterol or 7-dehydrocholesterol solutions, in chloroform or similar solvents, followed by the addition of a solution of antimony trichloride, gives rise to a deep pink colour, λ_{\max} 515-520 *m μ* . The stability of this colour and the high intensity of the well defined absorption band, commends this reaction for spectrophotometric determinations of provitamins D.

Setting up an analytical procedure, we arrived to the following results.

- a) Iodine is the most suitable oxidizing agent; there is very little effect of iodine concentration (0,5 *mg* to 3,5 *mg*/1 *ml* of provitamin D solution); The Beer's law holds for initial concentrations of the provitamin's solutions on the range 0,04 % — 0,008 %, there is no interference from cholesterol and other steroids with the same degree of unsaturation on the cyclic system (dihydroergosterol, ergosterol, α -ergosterol, β -ergosterol, stigmasterol); the interferences due to conjugated systems of two or more double bonds on B, C and D rings are weak (ergosterol D, dehydroergosterol, dehydroergosterol); vitamins A and D interfere with the test. Iodine can be previously added to the antimony trichloride solution.
- b) Ethylene dichloride was chosen for solvent, as it gave the most intense and stable colour.

- c) The following technique was established: to 1 ml of the solution (containing 0,4 — 0,008 mg of ergosterol or 7-dehydrocholesterol) add 5 ml of reagent (33 g antimony trichloride and 10 mg of iodine, in 100 ml of ethylene dichloride); measure the absorption at 518 $m\mu$ against the reagent's «blank». For a qualitative test, with perbenzoic acid, the pink colour is visible with 0,1 μg of provitamins D. $E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} 518 \text{ m}\mu = 640$ (with iodine).

The analytical process and the colour reaction are discussed.

BIBLIOGRAFIA

- [1] *Organic synthesis*, vol. 21, 105.
- [2] Lyness, W. I. e Quackenbush, I. N. — *Anal. Chem.*, 27, 1978 (1955).
- [3] Reindel, F., Walter, E. e Rauch, H. — *Ann.*, 452, 34 (1927).
- [4] Heilbron, I. M. e Sexton, W. A. — *J. Chem. Soc.*, 921 (1929)
- [5] Reindel, F., Walter, E. e Ranch, H. — *Ann.* 452, 34, (1927).
- [6] Morrison, A. L. e Simpson, J. C. E. — *J. Chem. Soc.*, 1710, (1932).
- [7] Heilbron, I. M., Johnstone, F. e Spring, F. S. — *J. Chem., Soc.*, 2248 (1929).
- [8] Montignie, E. — *Bull. Soc. Chim.*, 2, 1367 (1935).
- [9] Windaus, A. e Linsert, O. — *Ann.*, 465, 148, (1928).
- [10] Heilbron, I. M. e Simpson, J. C. E. — *J. Chem. Soc.*, 268 (1932).
- [11] Mueller, A. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 71, 924, (1949).
- [12] Brüggmann, J., Krauss, W. e Tiews, J. — *Chem. Ber.* 85, 315, (1952).

POLARIMÉTRIE DES COMPLEXES ASPARTIQUES

JACOBSOHN, K.

*Faculdade de Ciências de Lisboa e Instituto Rocha Cabral
Lisboa - Portugal*

L'importance biochimique décisive qu'on attribue au cycle citrique de Krebs comme mécanisme principal du catabolisme anaérobie chez beaucoup d'organismes dirige l'attention des chercheurs sur les processus de l'analyse de ses composants.

Parmi ceux-ci et parmi d'autres substances métabolisées avec formation de constituants de ce cycle, on trouve plusieurs composés asymétriques accessibles — au point de vue théorique — à l'analyse polarimétrique: l'acide l-malique, l'acide l-isocitrique, l'acide l-aspartique, etc., ce dernier important en tant qu'agent de la transamination qui produit l'acide oxalacétique faisant partie du cycle mentionné.

Cependant la polarimétrie de ces composés — comme celle de l'acide tartrique dont l'intervention biologique est encore mal entrevue — est assez difficile du fait que leur pouvoir rotatoire spécifique dépend des conditions d'essai et surtout de la concentration, mais aussi du pH et de phénomènes d'hydratation et de polymérisation.

Ces problèmes ont été étudiés systématiquement et résolus, au moins pour l'analyse de routine, dans le cas de plusieurs hydroxyacides. L'acide l-malique a été soumis en particulier à l'analyse polarimétrique.

Avec ce composé — et avec l'acide tartrique et isocitrique — on a observé, en présence des ions uranyl, béryllium et molybdate, des complexes, caractérisés par des valeurs polarimétriques très hautes et par un autre avantage analytique, celui d'être indépendantes de la concentration.

Nous avons déjà constaté, dans des travaux précédents, que notre technique-routine [1] basée sur un travail d'Auerbach [2] ne peut être appliquée au dosage de l'acide l-malique qu'avec certaines restrictions. Nous avons surtout mis en évidence [3] qu'il faut mainte-

nir entre cet acide et le molybdate une relation molaire qui ne doit pas être supérieure à la valeur 2, afin d'éviter une diminution du pouvoir rotatoire, due à un déficit en molybdate. Dans d'autres essais nous avons montré que la présence de l'acide phosphorique [4], de certains composés d'arsenic [5], et en particulier [6] de plusieurs poly-alcools (glycol, glycérine, mannose, dulcité) produisent également une diminution appréciable de la rotation optique du malate, ce qui nous a conduit parfois à l'emploi de son dosage pondéral.

Nous avons vérifié, en outre [7], que l'acide citrique, par exemple, peut produire la diminution de la rotation optique du même composé optiquement actif, dans les conditions de la méthode-routine. Le pouvoir rotatoire de l'acide isocitrique et celui de l'acide tartrique sont également diminués par le citrate.

L'augmentation de la concentration en molybdate a évidemment annulé l'effet de cet hydroxy-acide, qui s'est accentué à son tour par l'augmentation des quantités de ceux-ci. Une haute concentration de l'acide citrique a même inversé la rotation du l-malate.

L'acide oxybutyrique, toutefois, n'a pas eu le même effet et les acides succinique, aspartique, fumarique ne diminuent non plus la valeur rotatoire de l'acide l-malique, en présence de quantités de molybdate suffisantes pour ce composé seul [8]. En même temps, nous avons étudié l'effet produit par le malate racémique sur le pouvoir rotatoire du l-malate et nous avons constaté une action égale à celle de l'acide citrique: ainsi pour des solutions concentrées en d,l-malate, la concentration du molybdate étant constante et insuffisante, une solution contenant des quantités égales des deux composants a présenté une rotation réduite à peu près à la moitié de la valeur théorique, et le redoublement de la concentration du racémate a déterminé jusqu'à l'inversion de la rotation antérieure.

Il est toutefois curieux que, d'après Krebs et Eggleston [9], en présence de quantités suffisantes de molybdate, l'acide citrique puisse exercer un effet contraire, c'est-à-dire augmenter l'activité optique des complexes de l'acide malique et également celle du complexe isocitrique. Nous avons recherché [8], si cette augmentation du pouvoir rotatoire de l'acide l-malique se vérifie aussi en présence de l'acétate d'uranyl. Cependant avec ce composé nous n'avons pas observé cet effet qu'on ne peut attribuer non plus à l'action directe du citrate sur le l-malate parce que nous ne l'avons pas constaté, en l'absence du formateur de complexe. D'un autre côté, l'acide d,l-malique, en présence de quantités suffisantes du molybdate, n'augmente pas comme le citrate l'activité optique du l-malate.

Pour l'explication des phénomènes en question on doit considérer que non seulement le composé optiquement actif, qui subit la diminution de sa rotation, mais aussi le composé produisant cet effet sont

des substances hydroxylées; ce phénomène a attiré notre attention sur un travail de Bancroft et Davis [10] qui expliquent le pouvoir rotatoire des acides malique et tartrique, variable avec les conditions d'essai (concentration), par un équilibre dynamique entre les formes tautomères de ces composés. D'après ces auteurs, l'atome d'hydrogène du groupe alcoolique subit une migration et forme un autre hydroxyle avec le groupe carboxyle voisin, connexé par un pont oxydique à l'atome de carbone en position- α : on pourrait admettre un phénomène analogue pour des composés analogues, par exemple pour l'acide iso-citrique, d'après le schéma général:



La forme tautomère (I) correspondrait à une configuration stéréochimique dont le sens rotatoire serait opposé à celui de la forme (II) optiquement active elle aussi. Les auteurs s'appuient sur les observations suivantes: l'équilibre entre les deux formes serait facilement déplacé par la présence de radicaux alcoyl ou de halogènes remplaçant l'atome d'hydrogène qui subit la migration; et surtout les ions uranyl, beryllium et molybdate détermineraient la formation d'une seule forme, dont les solutions présenteraient, par conséquent, un pouvoir rotatoire spécifique fixe, indépendant de la concentration.

Dans le but d'expliquer la diminution de l'activité optique provoquée par certains oxyacides, en présence du molybdate, à laquelle on a fait allusion ci-dessus, nous admettons que les oxyacides accompagnant les substrata optiquement actifs réagissent avec lui de la même façon que ces derniers, en sorte que fréquemment les quantités présentes en molybdate ne sont plus suffisantes pour empêcher la formation d'un équilibre des deux tautomères.

Il va sans dire qu'en polarimétrie on peut éviter cet inconvénient, soit par dilution de la solution à analyser, soit par augmentation de sa concentration en molybdate d'ammonium.

Dans le présent travail, il nous a semblé intéressant d'étudier si on pourrait observer des effets analogues à ceux qui ont été décrits avec l'acide aspartique (qui se distingue de l'acide l-malique par la

substitution de l'oxydryle par l'aminogène) et cela surtout parce que le pouvoir rotatoire de cet acide aminé dépend également de la concentration [11] et des dissolvants — souvent des acides — [12] employés dans les solutions soumises à l'analyse polarimétrique.

Nous avons vérifié, en effet, que la présence du molybdate d'ammonium en quantité suffisante ne produit pas seulement un pouvoir rotatoire constant du aspartate, mais aussi que celui-ci s'élève à une valeur beaucoup plus haute ($[\alpha]_D^{20} = 40^\circ$) que celle que l'on a observé en l'absence du formateur de complexes, bien que cette augmentation ne soit pas caractérisée par les dimensions vérifiées avec l'acide l-malique et l'acide d-tartrique, ce qui diminue un peu l'application analytique. L'acétate d'uranyl toutefois ne provoque aucune augmentation de l'activité optique de l'acide aspartique qui soit digne d'intérêt analytique (Tableau I).

TABLEAU I
Pouvoir rotatoire du complexe aspartique

	a)	b)	c)	d)	e)	f)
Aspartate de sodium à 5 % ml	10	2	2,5	3	3,5	4
Molybdate d'ammonium à 14,2 % »	—	8	7,5	7	6,5	6
Volume »	10	10	10	10	10	10
Concentration de l'essai en aspartate M	0,37	0,07	0,09	0,11	0,12	0,17
$\frac{[\text{Aspartate}]}{[\text{Molybdate}]}$	—	0,70	1,06	1,30	1,60	2,13
α (d = 2)	— 1,20°	0,80°	1,00°	1,15°	1,25°	1,40°
$[\alpha]_D^{20}$	— 12°	40°	40°	38°	36°	35°

Il faut toutefois mettre en évidence que le pouvoir rotatoire des solutions dépend encore d'un effet de dilution (Tableau II), qu'on peut observer avec une solution de l'aspartate saturée avec du molybdate et après diluée. On constate que malgré une raison constante et à peu près suffisante entre ces deux substances le pouvoir rotatoire diminue avec la dilution.

Quant à l'action des composés polyhydroxylés et des polyacides hydroxylés, mentionnée ci-dessus pour le cas des acides l-malique et d-tartique [6,7], on a noté pour l'acide aspartique des effets analo-

TABLEAU II
Effet de dilution

	a)	b)	c)	d)
Aspartate de sodium à 5 %, saturé avec du molybdate d'ammonium ml	5	5	5	5
Eau »	1	2	3	5
Volume »	6	7	8	10
α (d=2)	3,2°	2,6°	2,2°	1,7°
$[\alpha]_D^{20}$	39°	37°	35°	34°

gues : le citrate (Tableau III), le d,l-malate, le d,l-tartrate (Tableau IV) et la glycérine (Tableau V) provoquent l'augmentation du pouvoir rotatoire de l'aspartate, même en présence de quantités presque insuffisantes de molybdate. Dans le cas du citrate (III, e,f) toutefois, l'insuffisance prononcée du formateur du complexe a produit l'inversion de cet effet, comme on l'a déjà observé avec le l-malate [7]. En réalité, une saturation de la solution soumise à l'analyse polarimétrique a rétabli l'effet de l'augmentation rotatoire.

Les valeurs mentionnées ont été obtenues à partir de solutions de aspartate de sodium à 5% (pH=7,0) ; celles de l'acide aspartique libre, même les sursaturées, n'ont pas révélé l'action décrite du molybdate, de telle façon qu'une application analytique soit possible. D'autre

côté, nous avons fait une étude analogue sur l'asparagine avec le même résultat. Enfin la présence du molybdate dans les solutions du glutamate (pH=7,0) n'a pas déterminé non plus une augmentation appréciable de l'activité optique de cette diacide aminé, qui serait analogue à celle observée avec l'aspartate.

Au point de vue théorique, l'hypothèse mentionnée de Bancroft et Davis, à notre avis, ne suffit plus parce qu'elle ne s'applique qu'aux acides hydroxylés. On doit admettre plutôt que, chez beaucoup des

TABLEAU III
Action du citrate

	a)	b)	c)	d)	e)	f)	g)
Concentration de l'essai en:							
Aspartate de sodium M	0,30	0,30	0,26	0,26	0,18	0,18	0,18 (*)
Molybdate d'ammonium »	0,12	0,12	0,10	0,10	0,07	0,07	0,07
Citrate de sodium »	—	0,15	—	0,25	—	0,44	0,44
α (d=2)	2,90°	4,20°	2,60°	3,50°	1,70°	0,55°	2,60°
$[\alpha]_D^{20}$	37°	50°	37°	49°	34°	11°	52°

* Liqueur d'essai saturé avec du molybdate solide.

composés en question, des forces intramoléculaires sont établies entre des fonctions différentes et voisines et que ces forces peuvent déterminer, en certains cas, des équilibres entre les structures traduites par les formules conventionnelles (qui sont caractérisées par des fonctions isolées) et d'autres structures qui se distinguent par l'interdépendance de ces fonctions. Avec les hydroxyacides on trouve ainsi des ponts lactoniques, oxydiques, osidiques, etc., selon la chimie classique. Ces équilibres entre des composés tautomères seraient déplacés, par exemple, par la dilution des solutions respectives.

La formation des complexes étudiées aurait, surtout, une action décisive sur les liaisons intramoléculaires, avec production de composés définis, ayant une activité optique spécifique extrême (sans équilibre).

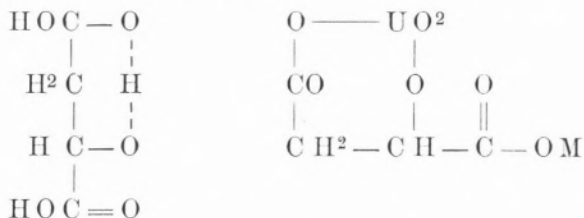
Dans le cas de l'acide aspartique, la formation du complexe avec le molybdate produit, à notre avis, également la formation d'une seule

TABLEAU IV
Action du d,l-malate et du d,l-tartrate

	a)	b)	c)	d)	e)
Concentration de l'essai en:					
Aspartate de sodium M	0,30	0,30	0,30	0,18	0,18
Molybdate d'ammonium »	0,12	0,12	0,12	0,04	0,04
d,l-Malate de sodium »	—	0,18	—	—	0,23
d,l-Tartrate de sodium »	—	—	0,18	—	—
α (d=2)	2,90°	3,50°	3,70°	0,80°	0,40°
$[\alpha]_D^{20}$	37°	42°	44°	27°	13°

structure définie, par élimination des forces plus ou moins prononcées (selon la dilution etc.), qui peuvent s'établir entre l'aminogène et les carboxyles.

En réalité, certains auteurs [13] avant Bancroft et Davis avaient établi, comme formules de constitution pour l'acide malique, les suivantes qui peuvent être considérées comme tautomères aux formules conventionnelles et qui révèlent des liaisons intramoléculaires différentes de celles admises par Bancroft et Davis :



Les conceptions électroniques modernes sur la valence et sur les complexes, en particulier, rapprochent les hypothèses de ces auteurs de celle de Bancroft et Davis. L'interdépendance mutuelle entre plusieurs fonctions pourrait, d'une façon générale, causer des phénomènes structurels analogues à ceux que nous avons décrits ci-dessus et qui se reflètent, par exemple, en polarimétrie. Nous admettons que les difficultés qui en résultent peuvent être résolues dans d'autres cas, également par la formation de complexes.

TABLEAU V
Action du glycérol

	a)	b)	c)	d)
Concentration de l'essai en:				
Aspartate de sodium	M 0,25	0,25	0,23	0,23
Molybdate d'ammonium	» 0,10	0,10	0,09	0,09
Glycérol	» —	0,38	—	0,53
α (d = 2)	2,60°	3,10°	2,20°	2,60°
$[\alpha]_D^{20}$	36°	43°	35°	42°

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Jacobsohn, K. P., Pereira, F. B. et Tapadinhas, J. — *Biochem. Z.* 54, 117 (1932).
- [2] Auerbach, P. et Krüger, D. — *Zt. Unters. Nahrm. Genussm.*, 46, 97 (1932).
- [3] Jacobsohn, K. et Tapadinhas, J. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 18, 1674 (1936).
- [4] Pereira, F. B. et Soares, M. — *C. R. Soc. Biol.* 121, 235 (1936).
- [5] Jacobsohn, K. P. et Pereira, F. B. — *C. R. Soc. Biol.*, 113, 747 (1938).
- [6] Jacobsohn, K. P. et Tapadinhas, J. — *Biochem. Z.*, 269, 225 (1934).
- [7] Jacobsohn, K. P. et Tapadinhas, J. — *Bull. Soc. Portug. Sc. Nat.*, 14, 31 (1942).
- [8] Jacobsohn, K. P. — *Arch. Portug. Sc. Biol.*, 7, 1 (1944).
- [9] Krebs, H. A. et Eggleston, L. V. — *Biochem. J.*, 37, 334 (1943).
- [10] Bancroft, W. D. et Davis, H. L. — *J. Physiol. Chem.*, 34, 897 (1930).
- [11] Lutz, O. et Jirgensons, B. — *Ber.* 1, 448 (1930); *Beilstein*, IV, p. 472; 2. *Ergb.*, p. 843.
- [12] Greenstein, J., Birnbaum, S. et Otey, M. C. — *J. Biol. Chem.*, 204, 307 (1953).
- [13] Andrews, voir Bancroft, W. D. et Dawis, H. L. — 1. *c. Lowy et Burgen*, *ibidem*.

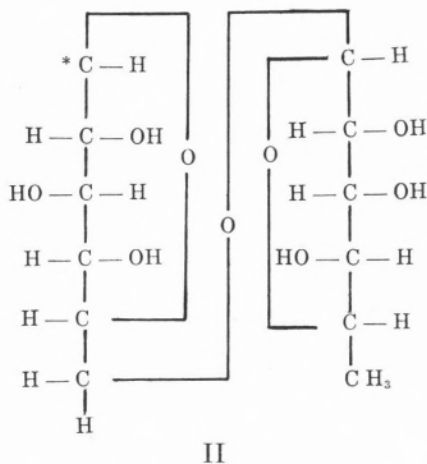
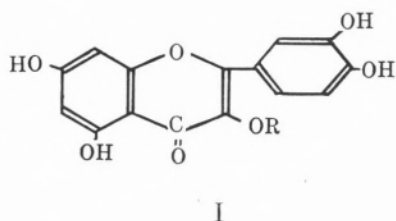
QUANTITATIVE DETERMINATION OF RUTIN AND QUERCETIN BY THE RADIO-COBALT-60

PEREIRA CRESPO, V., SANTOS VEIGA, J.
and PINTO COELHO, F.

*Centro de Estudos de Química Nuclear e Radioquímica da Faculdade
de Ciências da Universidade de Coimbra*

Coimbra - Portugal

Rutin (I; R = II) is a flavonol glycoside which on hydrolysis yields quercetin (I; R = H), rhamnose and glucose in equimolecular proportions.



The methods described in the chemical literature for the quantitative determination of rutin and quercetin are essentially spectrophotometric. The first of these is, that of Porter and collaborators [1] modified later by the Research Division of Penick and Company [2], New York and the second the method of Swann [3].

In the twenty third Congress «Luso Espanhol» for the progress of science, held in Coimbra, last May, we suggested in a preliminary

communication the possibility of utilisation of cobalt-60 in quantitative determination of rutin.

In this communication we describe the conditions under which it is possible to determine quantitatively the flavonols rutin and quercetin.

These flavonols are easily separated by paper chromatography [4]. After this separation we used the property of these flavonols to give easily compounds with metals [5].

The cobalt, sodium and ammonia derivatives are soluble in water and can be separated from their concentrated solutions by addition of acetone.

We used a solution of cobalt nitrate labelled with cobalt-60 in the preparation of the compound on the paper. The measure of the activity of the compound on the paper after the removal of the excess of cobalt gives us the possibility of quantitative determination of these flavonols.

Experimental

We used ascending chromatography on Whatmann number two filter paper (9×20 cm).

The paper with a wet spot of flavonol is placed for one hour in a cylinder saturated with concentrated ammonia (25 %).

After the paper has been removed, we passed air on it, for one hour and a half, in order to eliminate the excess of ammonia, and we put on the spot an excess of the solution of labelled cobalt nitrate, saturated with hydroxide. On the same paper we did a blank test with the same volume of solution. After one minute of contact we dry the spots with a current of warm air until a pink colour appears.

Then the paper is introduced into a cylinder saturated with a mixture of equal volumes of ethyl alcohol and of amyl alcohol saturated with water.

The equilibration time of the paper is ten minutes and the irrigation time two and half hours. In any case the brown yellow compounds formed have an $R_f = 0$ (zero), the cobalt an $R_f = 0.4$ and the flavonols a higher R_f .

After drying the filter paper the spots of compound were cut and we did the same for the blank test.

The two filter paper discs were placed in turn in a reproducible position near a Scintillation counter (thallium activated sodium iodide crystal) connected to a Tracerlab Superscaler. The difference between these two values gave the activity of the compound.

The activity of the solution of cobalt nitrate (38.54 grammes/litter) was 4×10^{-3} μc /mililiter.

The blank test gave a mean value of 130 counts/minute. In the graph, Fig. 1, we have plotted the mean values of counts/minute against the corresponding quantities of the flavonols.

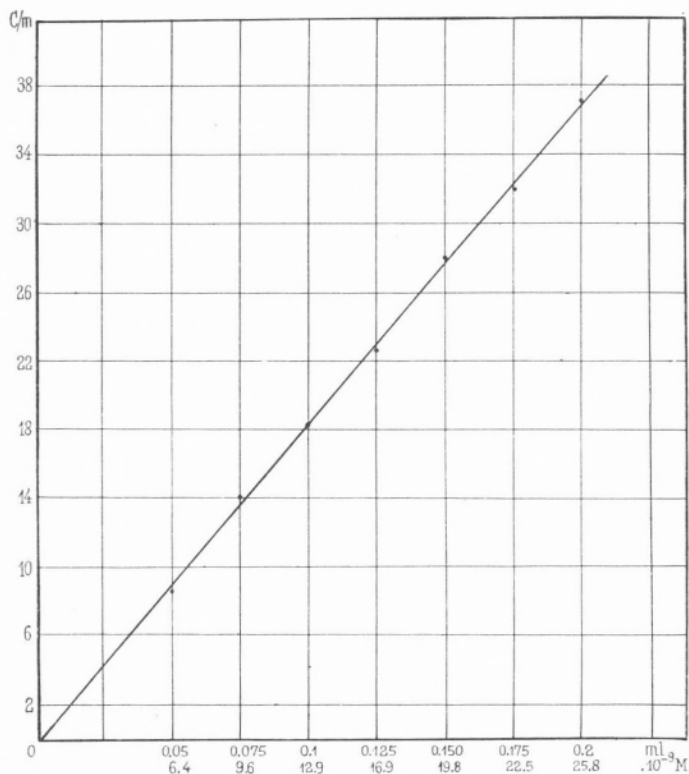


FIG. 1

Conclusions

The method described may be applied to the quantitative determination of flavonols (rutin and quercetin) after a suitable separation by paper chromatography. When we use cobalt nitrate solution with a specific activity of $0.1 \mu\text{C}/\text{grammes}$ of cobalt nitrate we can detect about 10^{-9} moles of flavonols.

The sensitivity can be increased by the use of solutions of higher specific activity.

REFERENCES

- [1] Porter, W. L., Brice, B. A., Copley, M. J. and Couch, J. F. — (Eastern Regional Research Laboratory, Philadelphia) *U. S. Dept. Agr. Bur. Agr. Ind. Chem.*, AIC-159 (1947).
- [2] Rutin-Provisional Standards and Specifications. *Research Division of S. B. Penik and Company*, New York (1948).
- [3] Swann, R. V. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1, 323 (1949).
- [4] Gage, T. B., Douglass, C. D. and Wender, S. H. — *Anal. Chem.*, 23, 1582 (1951).
- [5] a) Clark, W. G. and Geissman, T. A. — *Federation Proc.* 7, 21 (1948).
b) Hörhammer, L. and Hänsel, R. — *Archiv der Pharmazie, Ber. Dtsch. Pharmazeutischen Ges.*, 285/57, 438 (1952).

DOSEAMENTO DE TITÂNIO EM ILMENITES POR ESPECTROFOTOMETRIA DIFERENCIAL

GUEDES DE CARVALHO, R. A.

Laboratórios Kudi

Porto - Portugal

O doseamento de titânio em ilmenites é geralmente efectuado por processos volumétricos de oxidação-redução. Alguns destes métodos são relativamente expeditos (especialmente aqueles que não envolvem uma separação prévia do ferro) e de execução prática não complicada, pelo que são extensivamente utilizados em laboratórios onde grande número de análises devem ser efectuadas.

Dos diversos elementos que podem interferir no doseamento oxidimétrico do titânio [1], o Nb apresenta-se como o de maior importância, uma vez que ocorre praticamente em todas as ilmenites, e a sua separação completa do titânio é uma operação difícil e morosa. É mesmo opinião expressa de Hillebrand [1] que na presença de nióbio o método não pode ser usado.

O nióbio é reduzido também pelos amálgamas ou metais em meio ácido, e em seguida consome agente oxidante quando se procede à oxidimetria provocando portanto resultados elevados para o titânio.

A dificuldade assume um aspecto mais agudo quando nos surgem ilmenites impuras provenientes de tratamentos de tantalite-columbites, contendo grandes quantidades de nióbio, e onde se pretende dosear o titânio por um processo rápido.

Foi precisamente o facto deste problema se nos ter deparado com muita frequência que nos levou ao presente estudo.

Procuramos resolvê-lo aplicando o método espectrofotométrico desde há muito usado para o titânio, utilizando a reacção deste elemento com a água oxigenada. Era já sabido que a interferência do Nb neste método é muito pequena e nós estudamos um método simples de calcular essa interferência mesmo sem o conhecimento prévio da quantidade de nióbio presente.

Uma vez que se tratava de determinar valores de titânio que oscilavam geralmente entre 30 a 60 %, era evidente que um método diferencial nos conviria. Estudamos portanto as condições ótimas de aplicação do método, as quais verificamos depois, serem perfeitamente concordantes com as estabelecidas por Neal [2] num trabalho publicado nessa ocasião.

Resolvemos contudo fazer a espectrofotometria diferencial utilizando dois padrões em lugar de um só como é hábito, seguindo a técnica recente preconizada por Reilley e Crawford [3], com a qual se consegue um aumento de precisão.

Quanto à separação do ferro do titânio que é necessário efectuar antes de proceder à colorimetria, escolhemos o método do tanino de Schoeller [4], pois por experiência própria nos parece ser o mais rápido de todos os propostos, não apresentando o inconveniente do uso do SH_2 utilizado no processo clássico.

1. Condições para a espectrofotometria diferencial

As condições que estabelecemos aproximam-se muito das estabelecidas por Neal, e são as seguintes:

- a) concentração da solução padrão próxima de: 150 mg Ti por litro (250 mg O_2Ti por litro).
- b) acidez da solução: 10 % (v/v) de SO_4H_2 .
- c) concentração de água oxigenada: 0,5 ml de O_2H_2 (30 %), para 100 ml da solução.
- d) largura da fenda do espectrofotómetro: a mínima compatível com uma resposta adequada do aparelho.
- e) Absorção dos tubos: deve ser determinada para cada tubo exactamente nas mesmas condições do ensaio e o seu valor deduzido às leituras feitas.
- f) intervalo de tempo entre a reacção e a leitura: até 12 dias após a reacção verificou-se não haver qualquer alteração.

Para efectuarmos a espectrofotometria diferencial com dois padrões, devemos escolher estes padrões não muito afastados, para que a precisão seja maior e até para que o método seja executável praticamente.

Por razões que mais tarde veremos, escolhemos quatro zonas limitadas da seguinte forma:

20,0 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml	— Zona 1 —	22,5 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml
22,5 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml	— Zona 2 —	25,0 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml
25,0 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml	— Zona 3 —	27,5 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml
27,5 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml	— Zona 4 —	30,0 mg $\text{O}_2\text{Ti}/100$ ml

1.1. Medição com 2 padrões

Neste sistema de determinação não há necessidade de fazer o traçado da curva de graduação como no sistema de um padrão único.

Quando se pretende determinar a densidade óptica de uma solução, escolhem-se duas soluções padrões que compreendam entre si a solução a medir, para o que tem que se efectuar uma medida preliminar aproximada. Então enchem-se três tubos do espectrofotómetro respectivamente com:

solução padrão inferior — P_1
solução padrão superior — P_2
solução desconhecida — S

Procura-se em seguida que o espectrofotómetro marque 0 % de transmitância com P_2 , e 100 % com P_1 . Para conseguir isto tem que se proceder por tentativas sucessivas uma vez que podemos actuar sobre três variáveis: corrente escura, sensibilidade e largura de fenda. O processo que nós usamos foi fixar o botão da corrente escura no máximo (posição extrema no sentido dos ponteiros do relógio) e, manejando simultaneamente com os outros dois botões, conseguir o desejado. Logo que se obtém este ajustamento mede-se a solução S , encontrando uma determinada transmitância t . Com uma simples interpolação numérica ou gráfica determina-se a concentração da solução desconhecida. É evidente que a interpolação só é válida quando os limites escolhidos são próximos, tal como sucede no nosso caso.

Convém não esquecer que os tubos são todos diferentes e que essas diferenças se acentuam nestas técnicas diferenciais em que se trabalha com fendas largas.

Portanto, após a determinação das condições aproximadas de trabalho, determina-se qual a absorção dos tubos usando a solução P_1 , e essas absorções terão que ser consideradas.

2. Interferência do ferro

O ferro interfere na colorimetria do titânio pela cor das suas soluções, o que conduz a resultados elevados. Neal (loc. cit.) estudou a influência do ferro e concluiu que esta aumenta com a quantidade de titânio presente. Para a concentração média que usualmente empregamos de 15 mg de Ti por 100 ml de solução, a presença de 1 % de ferro é equivalente a 0,007 % de titânio.

Nós resolvemos fazer uma investigação à cerca da influência do ferro utilizando as mesmas condições que seguiremos depois na análise do titânio, comparando no espectrofotômetro a cor das soluções que continham ferro + titânio, com a da solução que só continha titânio. Os resultados obtidos foram os seguintes:

QUADRO I

Concentração de Ti em mg de O_2Ti por 100 ml	Concentração de Fe em mg de Fe por 100 ml	Erro devido à presença de Fe em mg O_2Ti por 100 ml
20,0	1,5 mg	+ 0,02
20,0	3,1 mg	+ 0,07

Consideramos a interferência do ferro, pois embora se faça a separação entre este elemento e o titânio por intermédio do tanino, há quase sempre uma pequena quantidade de ferro que fica retida pelo precipitado do complexo tanino-titânio. Porém esta quantidade foi por nós doseada em algumas dezenas de ensaios e verificou-se nunca ser superior a 2 mg de Fe. Ora uma vez que, como se verá na descrição do método final, se faz uma diluição de 1:1 da solução antes de efectuar a colorimetria, não deverá haver mais de 1 mg de Fe por 100 ml na solução final, e portanto a interferência desse ferro não será de considerar.

3. Interferência do nióbio

Determinamos primeiramente a influência do nióbio em soluções isentas de titânio, mas nas mesmas condições já descritas anteriormente, isto é, contendo:

- 2,4 % de $S_2O_7K_2$
- 10 % (v/v) de SO_4H_2 , $d = 1,84$
- 0,5 % (v/v) de O_2H_2 (30 %)

Seguidamente fizemos idênticas medidas, mas utilizando soluções contendo 25,0 mg de O_2Ti por 100 ml, e medindo a densidade óptica dessas soluções tomando como referência a solução contendo titânio.

Verifica-se que a presença de titânio praticamente não altera a influência do nióbio, mas unicamente provoca uma maior irregularidade nas medidas, o que não é de admirar, pois se tem que trabalhar com fendas muito maiores (da ordem de 0,60 a 0,80 mm).

4. Cálculo aproximado da quantidade de nióbio presente

Como é necessário conhecer a quantidade de nióbio presente numa amostra para determinar qual o erro cometido na determinação de titânio, tivemos que procurar um método expedito que nos desse aquela indicação. Dos métodos conhecidos para separação do nióbio do titânio somente o cromatográfico [5] é perfeito, mas, embora rápido, não nos permitiria efectuar o doseamento do titânio com a rapidez que desejaríamos.

Por isso estabelecemos um método que nos pode dar um valor do teor de Nb, que, embora aproximado, é suficiente para calcular a interferência deste elemento com rigor satisfatório.

Segundo o estudo de Palilla e colaboradores [6] sabe-se que a coloração devida ao peróxido de nióbio aumenta com a concentração da solução de SO_4H_2 (atingindo um máximo com SO_4H_2 , $d=1,84$) e com a concentração da solução em O_2H_2 (atingindo um máximo quando a relação $\text{O}_2\text{H}_2/\text{Nb} > 20$, isto para soluções de SO_4H_2 concentrado, únicas em que o efeito da água oxigenada foi estudado).

Sabe-se também que a coloração do peróxido de titânio diminui à medida que a concentração em SO_4H_2 aumenta, mas não sofre variação à medida que se aumenta a concentração da água oxigenada para além da relação $\text{O}_2\text{H}_2/\text{Ti} = 1$.

Estes factos permitiram-nos idealizar o seguinte método: a diferença de densidades ópticas entre uma solução sulfúrica de Ti + Nb com uma pequena concentração de O_2H_2 , e a mesma solução com a mesma acidez mas com uma grande concentração de O_2H_2 , é função da quantidade de nióbio presente.

Para fazer a prova experimental realizamos duas séries de ensaios: uma com soluções contendo unicamente nióbio, e outra com soluções de nióbio e titânio.

Verifica-se que, embora o valor absoluto das densidades ópticas medidas não seja o mesmo nos dois gráficos, as diferenças entre essas densidades para uma certa concentração de nióbio são as mesmas. Portanto prova-se assim que a presença ou ausência de titânio não tem influência na diferença de densidades ópticas medidas.

5. Método

0,25 a 0,75 g de minério fundem-se com 6 g de $S_2O_7K_2$ em cadinho de quartzo, a massa dissolve-se com uma solução saturada de oxalato de amônio, e segue-se o método do tanino de Schoeller para a precipitação de todo o titânio, tântalo e nióbio presentes.

O conjunto de óxidos é desagregado com 6 g de $S_2O_7K_2$, a massa dissolvida, a quente, no próprio cadinho com 25 ml de SO_4H_2 , $d = 1,84$, e, após arrefecimento, diluída a 250 ml num balão aferido, obtendo-se assim a solução que designaremos por S_p .

Medem-se 25 ml desta solução para um balão marcado de 50 ml, adicionam-se 0,25 ml de O_2H_2 (30 %) e completa-se ao volume.

Mede-se a densidade óptica da solução pelo método dos dois padrões descrito na alínea 1.1, tomando para padrões as duas soluções de titânio que compreendam entre si a solução a analisar.

Finalmente, com o fim de ver se existe nióbio na amostra, medem-se 25 ml da solução S_p para um balão marcado de 50 ml, e adicionam-se 20 ml de O_2H_2 (30 %), 2 ml de SO_4H_2 , $d = 1,84$, completando ao volume. Determinando no espectrofotómetro a diferença de densidade óptica desta solução com a anteriormente preparada, pode determinar-se, aproximadamente, a concentração de O_5Nb_2 da solução. O valor de O_2Ti correspondente a este nióbio terá que ser deduzido ao valor encontrado para titânio.

6. Resultados

Fizémos muitos ensaios partindo de amostras de O_2Ti puro, de misturas de $O_2Ti + O_3Fe_2$ e misturas de $O_2Ti + O_3Fe_2 + O_5Nb_2$, nunca obtendo um erro maior que 0,24 % do O_2Ti presente, o que corresponderá a 0,12 % de erro final se se tratasse de uma ilmenite de 50 %.

Também fizémos ensaios com uma ilmenite de 48,5 % de O_2Ti , à qual adicionamos 10 a 50 mg de O_5Nb_2 a cada toma. Tendo feito o doseamento pelo método volumétrico encontrámos, respectivamente, 49,68 e 59,08 %, enquanto que o método proposto forneceu 48,53 e 48,49 %.

7. Discussão

— Quando se trate de ilmenites concentradas (40 a 60 % de O_2Ti) a toma inicial é de 0,25 g. Num caso destes se existir 5 % de O_5Nb_2 no minério (o que já é anormalmente elevado), teríamos 0,0125 g de O_5Nb_2 na amostra, o que, de acordo com os valores da alínea anterior, daria um erro por excesso para o titânio de somente 0,0001 (5) g, que seria equivalente a 0,06 % no teor de titânio. Quer isto dizer que no

caso das ilmenites concentradas não é necessário considerar a influência do nióbio, o que muito simplifica a análise.

— Sempre que se trate de minérios com mais de 5 % de O_5Nb_2 convém efectuar a correcção para o nióbio presente. Estes casos aparecem com frequência em minérios mistos de ilmenites-columbites, em colombo-tantalites impuras, nas fracções magnéticas do tratamento das cassiterites, etc. Em certos casos chegam a inverter-se os valores das percentagens dos elementos com tantalites-columbites concentradas em que se encontra de 30 a 50 % de O_5Nb_2 e 1 a 5 % de O_2Ti .

— Quando o teor de titânio oscila entre 20 a 40 % a toma inicial deverá ser de 0,5 g. Para teores menores do que 20 % poderá tomar-se 0,75 g, a menos que se trate de tantalites columbites, caso em que não convém ir além de 0,5 g, por causa dos volumosos precipitados obtidos com o tanino.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Hillebrand, W. F. e Lundel, G. E. F. — *Applied Inorganic Analysis*, 2.^a ed., New York, p. 584-585 (1953).
- [2] Neal, W. T. L. — *The Analyst*, 79, 403 (1954).
- [3] Reilley, C. N. e Crawford, C. M. — *Anal. Chem.*, 27, 716 (1955).
- [4] Schoeller, W. R. e Powell, A. R. — *The Analysis of Minerals and Ores of the Rarer Elements*, 3.^a ed., Londres, p. 126 (1955).
- [5] Mercer, R. A. e Wells, R. A. — *The Analyst*, 79, 339 (1954).
- [6] Palilla, F. C., Adler, N. e Hiskey, C. F. — *Anal. Chem.*, 25, 926 (1953).

NOVA REACÇÃO ESPECÍFICA PARA A IDENTIFICAÇÃO DA QUELINA (*)

CORREIA RALHA, A. J.

Secção de Investigação do Laboratório Normal de Lisboa
Lisboa - Portugal

Para a identificação da quelina foram já descritas várias reacções coradas mas quase todas elas pecam por falta de especificidade pois dão colorações idênticas ou muito próximas com as outras furanocromonas existentes na *Ammi visnaga* em quantidade apreciável: visnagina e quelolglucosido (visaminol e quelinol).

Estão neste caso a coloração vermelha, característica das 2-metil- γ -pironas [1], produzida pela quelina, visnagina e quelolglucosido quando postas em contacto, em solução etanólica, com hidróxido de sódio ou de potássio [2], a coloração amarelo-alaranjada (devida à formação de um sal de oxónio) produzida quando se dissolve qualquer das cromonas citadas em SO_4H_2 [3] ou PO_4H_3 [4], a coloração vermelho vinosa produzida com iodo e uma solução de hidróxido de potássio depois de evaporação [5], a coloração vermelho violácea produzida pela Fenilhidrazona das furanocromonas citadas com hidróxido de potássio [6], e a coloração rósea violácea fugaz produzida com o nitroprussiato de sódio [7].

Também às reacções propostas por BARAKAT e BADRAN [8] (com ácido fosfórico, molibdato de amónio, tungstato de sódio, ferrocianeto de potássio, reagente de Mayer, piroantimoniato de potássio, cloreto de platina, aloxana, anidrido acético e ninidrina) falta especificidade, pois as colorações produzidas por cada uma das furanocromonas referidas são, a maior parte das vezes, idênticas ou susceptíveis de originar confusão.

Na reacção agora proposta apenas se observa coloração com a quelina. A visnagina, o quelolglucosido, o visaminol e o visnagano não dão esta reacção positiva.

(*) Comunicação publicada na «Revista Portuguesa de Farmácia» — 6,109 (1956).

TÉCNICA

A cerca de 1 mg de quelina, dissolvido em 0,1 ml de ácido acético, junta-se 0,05 ml de NO_3H ($d = 1,40$). Forma-se imediatamente uma coloração amarelo-alaranjada com qualquer das furanocromonas da *Ammi visnaga* (sal de oxónio). Ao fim de 5 minutos junta-se 0,5 ml de OHNa 2N com o que a coloração só não desaparece se se tratar de quelina (quelinquinona), em que a cor passa para violeta depois de adição de mais 0,5 ml de OHNa 2N.

A mesma técnica pode ser realizada como reacção de gota nas seguintes condições:

Um cristal de quelina é dissolvido numa gota de ácido acético glacial e junta-se-lhe uma gota de ácido azótico concentrado. Forma-se imediatamente uma coloração amarelo-alaranjada com qualquer das furanocromonas. Deixa-se estar cinco minutos e adiciona-se depois uma gota de hidróxido de sódio a 30 %. A coloração só se mantém se se tratar de quelina. Juntam-se mais III gotas da solução de OHNa a 30 % e a coloração amarelo-alaranjada passa a violácea.

Limite de identificação	5 γ
Limite de diluição	1:100.000

INTERPRETAÇÃO

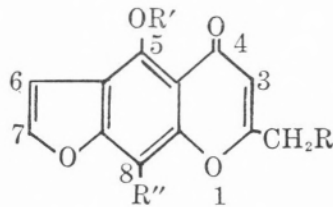
A interpretação é fácil pois, nas cromonas, a desmetilação oxidativa feita pelo ácido azótico a frio só conduz à formação de uma quinona se nas posições 5 e 8 existirem grupos OH ou OCH_3 [9]. Assim, das furanocromonas presentes na *Ammi visnaga*, só a quelina, (o quelinol e o amniol) está em condições de originar uma p-quinona: a quelinquinona. A coloração produzida pelo sal de oxónio, que mascara a cor da quinona, pode eliminar-se por simples diluição com água ou, mais facilmente, por adição de uma solução alcalina. Neste último caso, se o valor de pH aumentar suficientemente produz-se uma coloração violeta intensa, característica de muitas quinonas em meio alcalino.

A visnagina, o quelol, o quelol glucosido, o visaminol e o visnagano não dão esta reacção positiva. As três primeiras destas cinco substâncias originam coloração amarela quando adicionadas de ácido azótico (sais de oxónio) mas a cor desaparece por simples diluição com água.

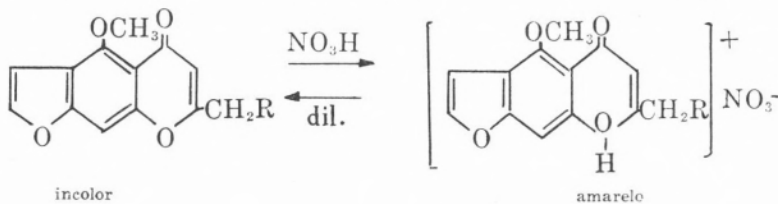
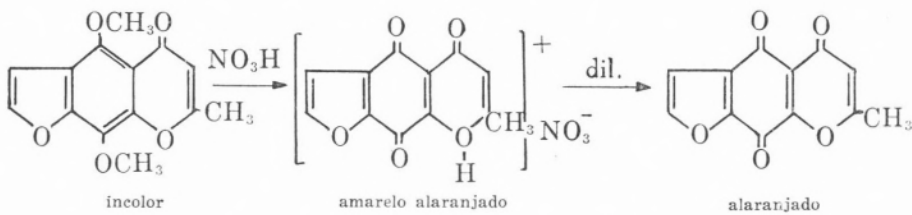
Apenas o amniol e o quelinol interferem na reacção agora proposta. A interferência não é muito importante pois não só existem

em quantidades insignificantes como, pelo menos, para um deles (quelinol) é possível fazer a distinção ou mesmo a separação atendendo a que tem uma função fenólica livre.

CROMONAS DA AMMI VISNAGA



Cromona	R =	R' =	R'' =	Bibl.
Quelina...	- H	- CH ₃	- OCH ₃	10
Visnagina ...	- H	- CH ₃	- H	11
Quelol ...	- OH	- CH ₃	- H	12
Quelol-glucosido ...	- O-Glucose	- CH ₃	- H	12
Amniol ...	- OH	- CH ₃	- OCH ₃	13
Quelinol ...	- H	- H	- OCH ₃	14



R = H visnagina
 R = OH quelol
 R = O-Glucose quelol-glucosido

SUMMARY

The Author reports all the coloured reactions described for the identification of khellin and other furanochomones which in general are not quite specific, and further describes a new one that produces only positive results with khellin and fails when a OH or OCH₃ group does not exist in the 5 and 8 position. This reaction is carried out dissolving the substance in nitric acid and destroying the oxonium salt by deluting the mixture with an alkaline solution. In these conditions the colour which stays is due to the chinone formed by oxidation in the nitric acid.

A spot test based on this reaction is also indicated as well the sensivity.

BIBLIOGRAFIA

- [1] SCHÖNBERG, A. e SINA, A. — *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 1612 (1950).
- [2] FAHMY, I. R. e EL-KEYI — *Rep. Pharm. Soc. Egypt*, 8, 36 (1931).
- [3] FAHMY, I. R., BRADRAN, N. e MESSEID, M. F. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1, 529-534.
- [4] BAISSÉ — *Bull. Soc. Chim. France*, 1280 (1950).
- [5] FAHMY, I. R., BADRAN, N. e MESSEID, M. F. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1, 535-537 (1949).
- [6] STRASSBERGER, L. e VONESCH, E. E. — *Anales Asoc. quim argentina*, 40, 203-205 (1952).
- [7] LAUBIE, H. — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 90, 108 (1952) e *Anal. pharm. franç.*, 12, 396-7 (1954).
- [8] BARAKAT, M. Z. e BADRAN, N. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 3, 576-580 (1951).
- [9] RAO, RAO e SESHADRI — *Proc. Indian Acad. Sci.*, 27-A, 245 (1948).
- [10] SPÄTH, E., e GRUBER, W. — *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 71, 106 (1938).
- [11] SPÄTH, E. e GRUBER, W. — *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 74, 1942 (1941).
- [12] SPÄTH, E. e GRUBER, W. — *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 74, 1549 (1941).
- [13] SEITZ, G. — *Arch. Pharmaz.*, 287, 79 (1954).
- [14] BENCZE, W., EISENBEISS, J. e SCHMID, H. — *Helv. Chim. Acta*, 39, 923-944 (1956).

DOSAGE DE L'URANIUM PAR HAUTE FRÉQUENCE

SILVA, M. T. e COELHO, A. F. M.

Laboratório de Química dos Centros de Estudos
de Energia Nuclear — I. S. T.

Lisboa - Portugal

On prétend doser U(VI) en utilisant un oscillateur de haute-fréquence pour détecter le point final de la réaction.

On a essayé comme solution titrante celle des complexon III, CO_3Na_2 , PO_4H_3 , PO_4HNa_2 et $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$.

Employant complexon III [1] et CO_3Na_2 les points d'inflexion pour la fréquence de 10,7MC ne sont pas nets. C'est possible que son emploi soit praticable avec un autre oscillateur de haute-fréquence.

En utilisant PO_4H_3 comme solution titrante et en employant les différentes fréquences et capacités possibles, nous avons localisé le point final de la réaction à une fréquence de 10,7MC. Deux points d'inflexion se présentent ici, un maximum et un minimum, que nous trouverons dans la suite de tous les titrages à haute-fréquence de l'ion UO_2^{+2} par PO_4H^{-2} . Avec PO_4H_3 , bien qu'on obtienne le point final de la réaction, les différences entre les valeurs des conductivités dans son voisinage sont si petites pour les concentrations essayées qu'il ne nous est pas possible de réaliser l'essai avec la précision et la sensibilité désirées. Son emploi serait uniquement praticable pour une limite inférieure de concentration qui est plus grande que celle qu'on désirait.

Quand on emploie PO_4HNa_2 comme solution titrante, à la fréquence de 10,7MC, on obtient des courbes avec deux points d'inflexion assez nets (fig. 1). Avec cette solution titrante il serait déjà possible de doser l'uranium en conditions acceptables avec une erreur de $\pm 1,5\%$. La courbe présente après le deuxième point d'inflexion plusieurs points anguleux qui se répètent pour des volumes approximativement constants. Il est possible que ces points soient en rapport avec la formation

des complexes ou avec la simple variation de la concentration en ions hydrogène du milieu, mais ceci pourrait être seulement confirmé par une vérification postérieure. Afin de nous éloigner du problème des uranates de sodium qui pourraient se former, nous avons décidé

d'utiliser comme solution titrante $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$ et nous avons obtenu des résultats excellents.

Ainsi, nous nous sommes appliqués à l'emploi du $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$, ce qui nous a permis d'obtenir des points finals nets, car la variation de la conductivité est plus régulière et les diagrammes obtenus permettent une lecture plus facile. Dans le titrage de l'U (VI) avec $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$, nous avons trouvé également deux points d'inflexion, le volume de la solution titrante du second point étant le double du volume du premier.

Le premier point d'inflexion correspond à la formation du précipité et le second correspond à une réaction secondaire qui se passe dans la phase liquide.

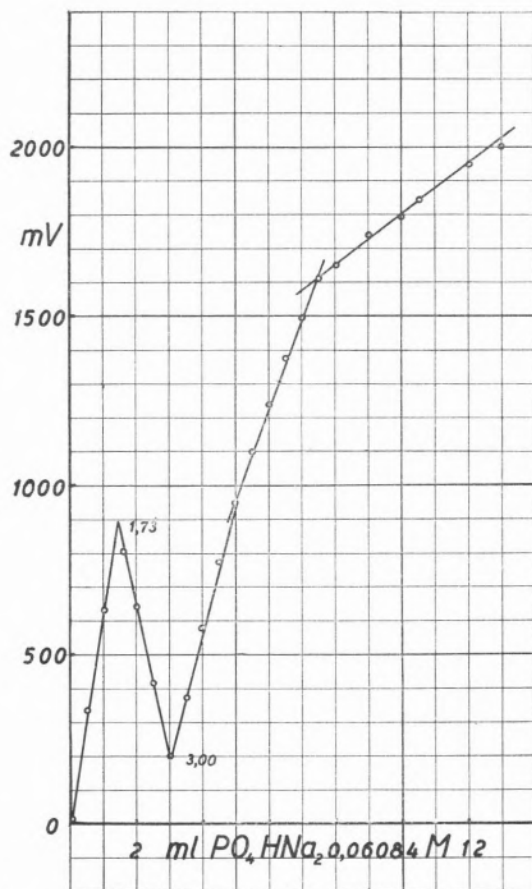


FIG. 1

Le dosage du précipité implique la réaction suivante :



et pour le second point d'inflexion on peut admettre que



Par suite nous avons toujours adopté comme solution titrante le $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$.

Méthode Experimentale

Le facteur dominant de la méthode de titrage à haute-fréquence c'est la variation de conductance de la solution provoquée par les changements de concentration.

L'appareil utilisé c'est du type «capacitatif» dans lequel le système vase-liquide à titrer fonctionne dans le circuit oscillateur de radio-fréquence comme un condensateur, la mesure de la variation de la conductance étant donné par la variation de potentiel de la grille de la valve oscillante.

Dans les mesures nous avons utilisé un millivoltmètre électronique, portant dans les diagrammes le potentiel en ordonnées et en abscisses le volume de solution titrante additionnée.

Par ce procédé il nous a été possible d'obtenir une plus grande précision dans les lectures et des courbes plus régulières et plus reproductives.

Les électrodes étant extérieures à la solution, il n'y a pas le danger de contamination, ce qui est très avantageux.

Les solutions employées ont été indifféremment du nitrate, du chlorure et de l'acétate d'uranile.

Appareillage

Nous avons utilisé un oscillateur de radio-fréquence, construit dans le Laboratoire d'Électronique des Centres d'Études d'Énergie Nucléaire, selon un schéma indiqué par J. Hall et collaborateurs [2]. L'appareil nous permet de travailler dans une zone de fréquence de 2 à 10,7MC, obtenant ces valeurs par moyen du changement du pair bobine-cristal.

Intégré dans le circuit oscillant y existe un condensateur de capacité variable en parallèle avec le vase conductimétrique, qui est destiné à syntoniser le circuit.

Le vase qui contiendra la solution est formé par deux bechers en Pyrex, l'un dans l'autre. Le becher intérieur est entouré par deux anneaux de cuivre (1 mm d'épaisseur et 20 mm de hauteur) qui se trouvent parfaitement ajustés à la paroi du verre et qui fonctionnent comme électrodes.

Afin de régler la sensibilité de l'ensemble plusieurs condensateurs de 2, 5, 15 et 30 μF ont été disposés en série avec le vase.

Nous avons utilisé comme appareil de mesure un millivoltmètre électronique Philips, type GM-6010.

Les valeurs de pH ont été déterminées avec le potentiomètre de valve Cambridge et avec un appareil de mesure de pH Metrohm.

Reactifs

Les solutions d'uranium ont été obtenues en partant des reactifs p. a. d'acétate et nitrate d'uranile. Ces solutions ont été étalonnées au débout et pendant les travaux par les méthodes gravimétrique, volumétrique et colorimétrique.

En partant des solutions «mères» on a fait les solutions employées en effectuant les dilutions nécessaires. En certains cas nous avons employé Cl_2UO_2 , qui a été obtenu à partir des solutions «mères» par évaporation répétées avec acide chlorhydrique.

La solution étalon de phosphate diammoniaque a été faite par pesage. Selon la concentration d'uranium à doser, nous avons employé des solutions de $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$ avec différents titres, les dilutions nécessaires ayant été faites en partant de la solution étalon.

L'alcool éthylique, exempt d'aldehyde, nous a été aimablement fourni par le Laboratoire Normal.

Technique

On a suivi la technique usuellement employée pour la conductimétrie avec légères modifications et certains soins auxquels nous ferons référence.

Dès que l'appareil est en plines conditions de fonctionnement on commence l'essai, ayant soin, dans le cours du titrage, de ne pas altérer les positions relatives du système et d'éviter l'approximation d'objets étrangers du vase conductimétrique, au moment de la lecture, car les variations de capacité résultantes pourraient altérer les résultats.

Il est aussi de tout avantage de maintenir l'agitateur avec une vélocité constante, puisque toute variation de celle-ci provoquerai des anomalies dans les valeurs trouvées.

On a vérifié que l'intervale de temps nécessaire pour atteindre des valeurs stationnaires c'est de l'ordre de 5 minutes, cet espace de temps étant conditionné fondamentalement par la stabilisation électrique de l'appareil. Il faut un intervalle de temps plus grand quand les concentrations d'uranium sont très petites et il suffit un temps inférieur à 5 minutes quand les concentrations de U_3O_8 sont plus grandes. La meilleure réponse de l'oscillateur de radio-fréquence s'obtient quand les deux plaques de cuivre se trouvent couvertes de liquide. Nous avons donc travaillé toujours dans ces conditions, ce que correspond à l'emploi d'un volume initial de 70 ml.

Resultats

En employant $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$ comme solution titrante et en suivant la technique décrite, il nous a été possible de doser facilement U(VI) pour des concentrations entre 1000 et $50\mu\text{g U}_3\text{O}_8/\text{ml}$.

TABLEAU I

U_3O_8 existante mg	U_3O_8 trouvée mg	Erreur %	Relation entre 2 p. de inflexion	Temps entre lectures minutes
99,8	100,21	+0,41	1,83	1
89,1	89,68	+0,65	1,92	1
19,96	19,93	-0,15	2,02	3
9,7	9,68	-0,21	2,01	3
8,91	8,88	-0,34	2,05	4
7,92	7,86	-0,76	2,02	4
7,92	7,86	-0,76	2,36	4
7,92	7,86	-0,76	1,89	5
7,92	7,92	0,00	1,99	8
6,99	7,02	+0,43	—	5
5,34	5,30	-0,75	2,02	4
4,99	4,93	-0,20	—	5
4,99	4,98	-0,20	—	5
4,95	4,91	-0,80	1,98	8
4,85	4,84	-0,21	2,06	5
3,96	3,92	-1,01	1,98	5
3,96	3,99	+0,51	2,08	8
3,88	3,99	+2,83	2,04	4
2,91	2,92	+0,34	2,07	5
2,50	2,42	-3,20	2,11	10
2,48	2,56	+3,23	1,93	5

Pour des valeurs supérieures à $100\mu\text{g}/\text{ml}$ on dose l'uranium avec une erreur $\leq \pm 1\%$, pour des concentrations inférieures, la méthode est moins rigoureuse, mais on peut l'employer avec une tolérance de $\pm 3,5\%$ jusqu'à $30\mu\text{g}/\text{ml}$. Dans le tableau (I) on trouve quelques

valeurs des 300 essais réalisés. À mesure que la concentration de l'uranium devient moins forte, le problème se complique du point de vue pratique, car l'essai devient plus lent, puisqu'on a besoin d'un intervalle de temps plus long pour atteindre l'équilibre.

Les figures 2 et 3 correspondent à courbes obtenues pour 285 et 71 μ g de U_3O_8 par ml, les erreurs étant respectivement de 0,15 et 0,84%.

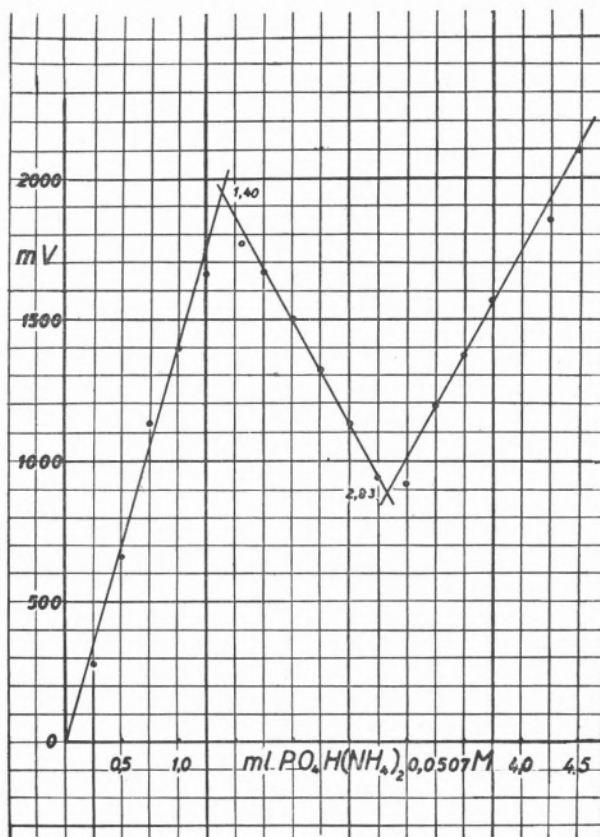


FIG. 2

Nous avons observé que si on arrête la continuité du titrage dans le premier point, en séparant la phase solide et en continuant le titrage du liquide, on obtient de nouveau le même second point d'inflexion.

Des Interférences

Puisque la méthode est franchement acceptable pour doser U(VI) nous avons vérifié les interférences que les ions étrangers peuvent avoir sur le titrage.

Cuivre—Nous n'avons pas trouvé d'interférence du Cu(II) dans la détermination du point final comme on note dans le dia-

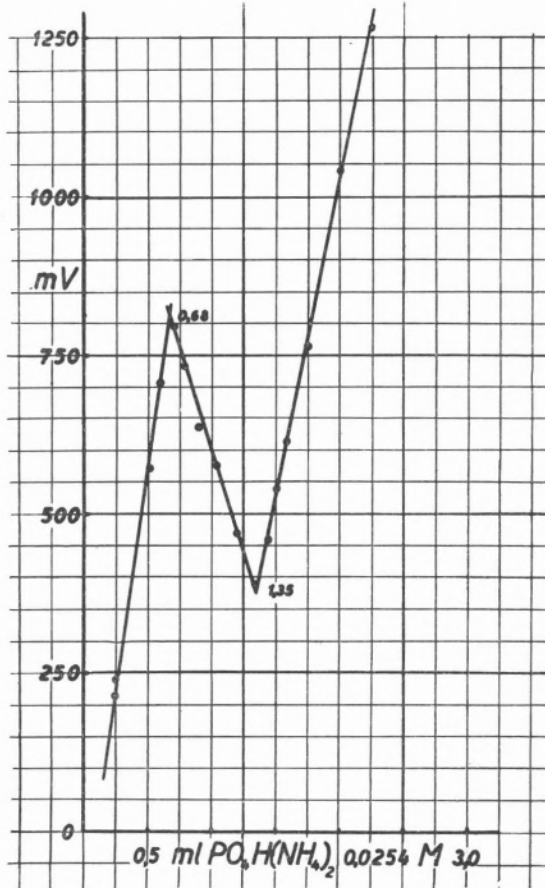


FIG. 3

gramme représenté dans la figure 4 où on fait le dosage de 100 µg U₃O₈/ml dans la présence de 28,6 µg Cu/ml. L'erreur constaté dans ces cas est minime puisqu'elle est inférieure à 1%. Dans le tableau II on trouve les résultats de quelques essais et on vérifie que le rapport entre les deux points d'inflexion reste approximativement égal à 2 comme dans le cas où seulement l'uranium est présent.

Fer — L'ion Fe(III) interfère dans le titrage quand le rapport $[\text{Fe}^{\text{III}}]/[\text{U}_3\text{O}_8]$ est supérieur à 0,5. Nous avons essayé de résoudre cet inconvénient soit en employant d'autres anions soit en modifiant le pH de la solution. Nous avons vérifié qu'il est pratiquement indifférent pour le but cherché, qu'on utilise $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$ et Cl_3Fe , et que la question du pH est d'importance fondamentale.

Ainsi, si au lieu de maintenir comme limites de pH les valeurs 3,5 et 4,5 que nous avons accepté initialement on prend l'intervalle

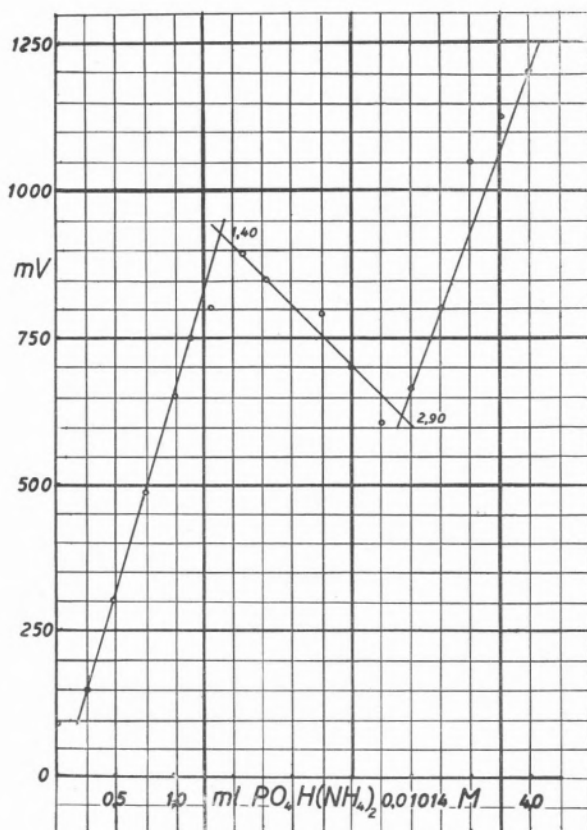


FIG. 4

de 3,8 et 4,2, les résultats trouvés sont meilleurs comme le montre le tableau (II).

On note dans ce cas que la position du deuxième point d'inflexion a varié et ne correspond plus au double du volume de solution titrante relatif au premier point d'inflexion. Cette variation peut s'observer en plus ou en moins.

La courbe représentée dans la figure 5 correspond au titrage de 111 μg de $\text{U}_3\text{O}_8/\text{ml}$ par $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$ 0,0203M étant présente 0,8 μg Fe/ml, le rapport entre les volumes correspondants aux deux points d'inflexion étant approximativement égal à 2,6.

TABLEAU II

U_3O_8 existante mg	U_3O_8 trouvée mg	Fe III existante mg	$\frac{[\text{Fe III}]}{[\text{U}_3\text{O}_8]}$	Erreur %	Relation entre 2 p. inflexion	pH
19,96	19,93	0,30	0,015	- 0,15	—	—
19,96	19,98	0,12	0,006	+ 0,10	—	—
7,92	7,97	4,00	0,505	+ 0,63	1,43	4,00
7,92	7,92	3,00	0,380	0,00	1,76	3,94
7,92	7,92	3,00	0,380	0,00	1,62	4,12
7,92	7,86	0,24	0,031	- 0,76	—	4,00
7,76	7,83	0,12	0,016	+ 0,90	2,93	4,40
7,76	7,77	0,12	0,016	+ 0,13	2,93	4,40
7,76	7,69	0,12	0,016	- 0,90	2,98	4,20
7,76	7,77	0,06	0,008	+ 0,13	2,49	4,10
7,76	7,86	0,06	0,008	+ 1,29	2,55	4,00
6,99	6,98	0,06	0,007	- 0,14	—	—
U_3O_8 existante mg	U_3O_8 trouvée mg	Cu II existante mg	$\frac{[\text{Cu II}]}{[\text{U}_3\text{O}_8]}$	Erreur %	Relation entre 2 p. inflexion	pH
7,92	7,86	5,00	0,63	- 0,74	2,04	3,84
6,99	6,98	20,00	2,96	- 0,14	1,97	4,10
6,99	6,98	10,00	1,43	- 0,14	2,03	4,10
6,99	6,98	2,00	0,29	- 0,14	—	4,20

On a observé aussi que les cations Mn(II), Mg(II), Ba(II) et Ca(II), n'interfèrent pas dans le titrage d'uranium, mais que si ces cations sont tous présents le second point d'inflexion n'apparaît plus.

Aluminium — Les résultats obtenues en présence d'aluminium ne sont pas du tout encourageants, car même pour des concentrations

très faibles de ce cation relativement à U_3O_8 nous n'avons pas pu obtenir le point final de la réaction, ou il s'écarte beaucoup de la valeur théorique.

De même pour le Fe (III) nous avons essayé de limiter davantage la zone du pH, mais, sans résultats satisfaisants. Ce résultat ne nous a pas surpris étant donné l'insolubilité du phosphate d'aluminium.

Afin de résoudre ces difficultés, nous avons essayé de doser U (IV) au lieu de U (VI), attendu que le produit de solubilité du

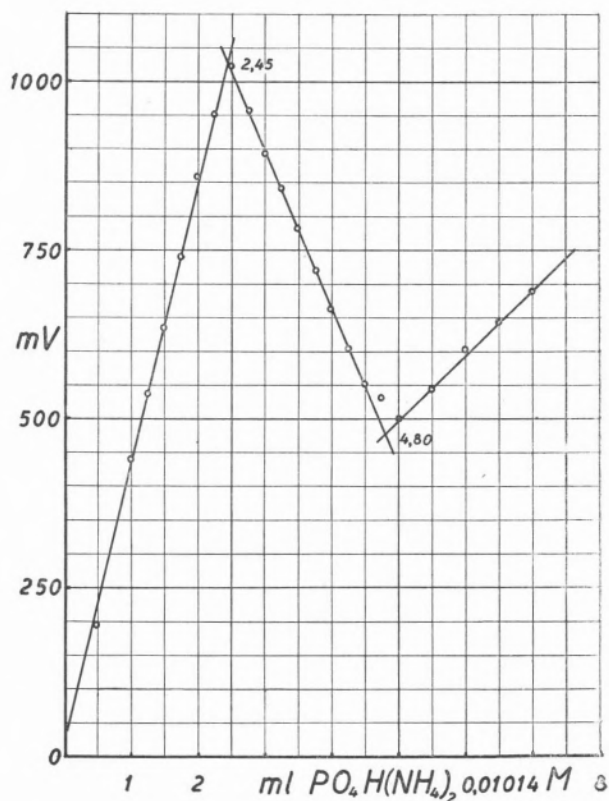


FIG. 4

phosphate de U (IV) devait être plus éloigné des phosphates des autres cations que de celui du phosphate de l'U (VI).

Nous avons essayé différents procédés pour obtenir U (IV) et avons choisi celui de la réduction photochimique au moyen de l'alcool éthylique indiqué par G. Gopala Rao et collaborateurs (3).

Nous avons employé comme agent réducteur une solution aqueuse d'alcool éthylique (1M) exempte d'aldéhyde en présence de SO_4H_2 5M,

et nous avons utilisé la lampe Philips «Repro» dans les conditions mentionnées par les auteurs précités (3).

Par ce procédé nous avons obtenu facilement la réduction intégrale à U(IV), mais les résultats obtenus dans le titrage avec $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$ par haute fréquence ont été nettement imparfaites.

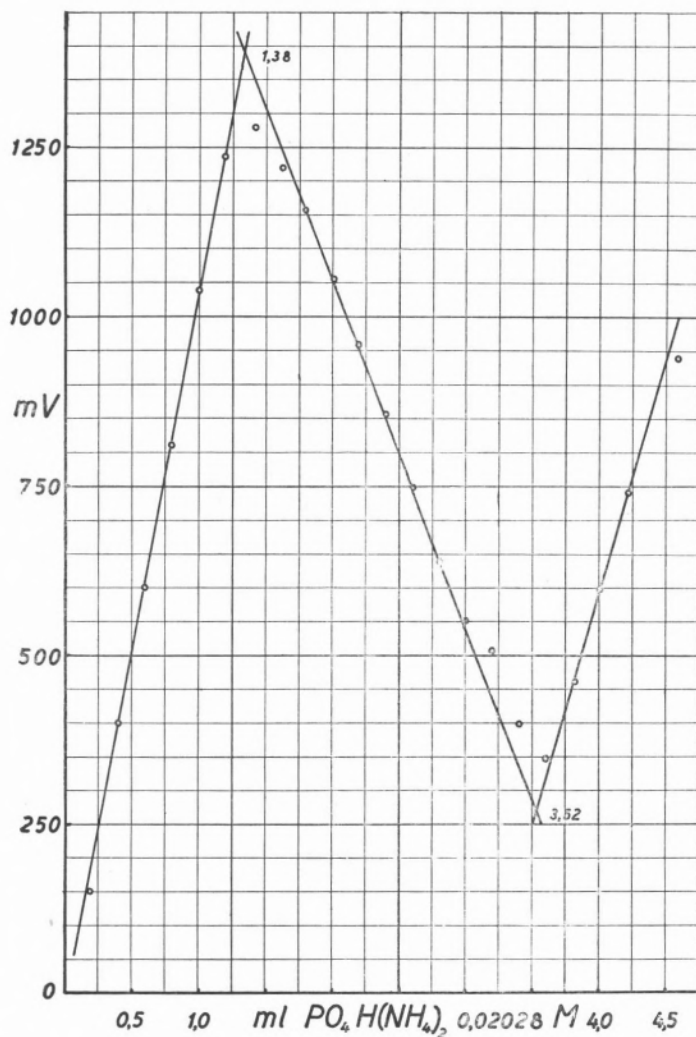


FIG. 5

Cette question continue à être étudiée, en essayant d'éliminer l'interférence due à quelques cations pendant le titrage de l'U (VI) par $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$.

Conclusions

Il est possible de doser U (VI) par $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$ en haute-fréquence (10,7MC) par des solutions avec pH compris entre 3,5 et 4,5.

On détermine ainsi des concentrations de U_3O_8 entre 1000 et 100 $\mu\text{g/ml}$ et avec une erreur inférieure à 1 %. Pour des concentrations inférieure à 100 $\mu\text{g/ml}$ et jusqu'à 30 μg , limite inférieure, l'erreur augmente, mais ne dépasse pas 3,5 %.

Les ions Cu(II), Mn(II), Mg(II), Ca(II), et Ba(II), n'interfèrent pas dans le tritage.

Le Fe(III) n'interfère que si sa concentration reste inférieure à celle de U_3O_8 . Pour des concentrations supérieures de Fe(III) la méthode n'est pas employable dans les conditions indiquées. L'élimination de l'interférence Al(III) dans ce procédé continue à être étudiée.

*

Nous sommes très reconnaissants au Professeur A. H. de Carvalho de ses conseils et orientations qui ont rendu possible la réalisation de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] West, P. W. — *Anal. Chim. Acta*, 12, 285 (1955).
- [2] Hall, J. L., Gibson Jr., J. A., Phillips, H. O. et Critchfield, F. E. — *J. Chem. Educ.*, 31, 54 (1954).
- [3] Rao, G. G., Rao, V. P. et Venkatamma, N. C. — *Z. Anal. Chem.*, 150, 178 (1956).

DISTINCTION ANALYTIQUE ENTRE LA GOMME NATURELLE ET LE NÉOPRÈNE, PAR L'IRRADIATION AVEC NEUTRONS

BARREIRA, F. et LARANJEIRA, M.
Centros de Estudos da Energia Nuclear
Laboratório de Física
Lisbonne

1. Introduction

L'usage d'élastomères de synthèse pour remplacer la gomme naturelle est à présent très généralisé [1]. Il est donc nécessaire d'établir des méthodes analytiques permettant de faire facilement la distinction entre le produit naturel et celui de synthèse.

Parmi les élastomères employés, c'est peut-être, le néoprène, celui qui ressemble davantage à la gomme naturelle par ses propriétés et constitution chimique [1]. C'est un polymère du chloroprène, un dérivé halogéné, qui diffère de l'isoprène par la substitution du groupe méthyle par un atome de chlore.

Les méthodes analytiques qui ont été utilisées pour faire la distinction entre le néoprène et la gomme, se basent généralement dans cette différence entre la molécule des deux monomères. L'essai classique de Beilstein a été employé maintes fois pour faire cette distinction. La détermination quantitative du chlore par les méthodes d'analyse organique nous permet de faire la détermination quantitative du néoprène, même quand il est mélangé avec la gomme.

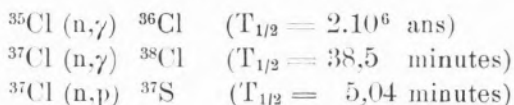
Le comportement différent, en relation aux propriétés physiques, a permis d'établir des méthodes physiques qualitatives d'analyse, pour faire la distinction entre les différents élastomères de synthèse et la gomme. Parmi d'autres, nous faisons mention des essais basés sur l'augmentation du volume par la chaleur [2].

Les méthodes qui ont été mentionnées qu'elles soient physiques qu'elles soient chimiques, sont destructives. Parfois il faut essayer des échantillons qu'on a besoin de conserver. Ainsi, dans ce travail, nous tâchons d'établir une méthode analytique de la caractérisation du néoprène, non destructive, en utilisant l'activation par neutrons.

2. *Fondement de la méthode*

Le chlore naturel a deux isotopes avec les numéros de masse 35 et 37, dont les abondances relatives sont de 75,4 et 24,6 % respectivement [3].

Quand le chlore naturel est bombardé avec neutrons, les deux isotopes originent les réactions nucléaires suivantes :

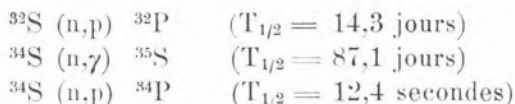


Les deux premières réactions ont lieu avec des neutrons lents et la dernière avec des neutrons rapides.

Les autres éléments contenus dans la molécule du chloroprène, carbone et hydrogène, n'originent aucune réaction nucléaire importante par action des neutrons.

Mettant de côté la formation du ${}^{36}\text{Cl}$, duquel, dû à sa période extrêmement élevée, on pourrait obtenir seulement quantités appréciables avec très grande intensité de neutrons et avec irradiations très prolongées, on vérifie que par l'irradiation du néoprène on obtient les activités correspondantes au ${}^{38}\text{Cl}$ et au ${}^{37}\text{S}$.

Après la vulcanisation avec du soufre, il faut considérer encore les réactions nucléaires suivantes, qui ont lieu avec cet élément, par l'action des neutrons :



Les isotopes obtenus ont des périodes suffisamment différentes de ceux qui se forment à partir du chlore. Ainsi elles ne donnent pas lieu à des interférences. Nous pouvons prévoir, de plus, que l'activité due au ${}^{34}\text{P}$ sera basse parce que le ${}^{34}\text{S}$ se trouve dans le soufre naturel dans un pourcentage très bas et aussi parce que la «cross section» de la réaction qui l'origine est très petite.

3. *Partie expérimentale*

On a vérifié la méthode proposée pour faire la distinction entre le néoprène et la gomme naturelle, en irradiant des échantillons de ces deux substances en différentes phases de fabrication. Ainsi qu'il a été déjà discuté, il suffit pour faire cette identification, qu'on détermine les périodes des substances formées, lesquelles sont assez différentes.

On a utilisé des échantillons d'élastomères crus, plastifiés et vulcanisés. La vulcanisation a été faite avec du soufre.

Pour l'irradiation on a utilisé une source de neutrons de Ra-Be avec 500 mg de radioélément à laquelle correspond un flux total de $7,97 \cdot 10^6$ neutrons/s. La source est placée au centre d'un bloc de paraffine qui sert de modérateur aux neutrons. Ce bloc a des orifices qui servent pour y introduire les substances à irradier.

Les échantillons des élastomères ont été irradiés en caisses d'aluminium comme on fait couramment.

On mesure les activités induites après avoir terminé l'irradiation par moyen d'un tube G. M. avec fenêtre de mica, de 4 mg/cm^2 d'épaisseur, monté dans une protection de plomb. Le tube est attaché à une unité d'haute tension qui le polarise et à un compteur lequel à son tour est connecté à un enregistreur graphique.

Afin de renforcer les activités présentées par chaque échantillon, après avoir été irradié, on place immédiatement derrière l'échantillon une plaque circulaire en plomb avec 0,5 cm d'épaisseur pour profiter de l'effet de retrodiffusion.

Avec l'enregistreur graphique on enregistre le décroissement de l'activité des échantillons duquel on déduit la valeur des périodes présentées.

Le tableau suivant nous montre les résultats obtenus :

TABLEAU

Échantillon	Temps d'irradiation	Périodes trouvées
gomme naturelle crue	6 heures	ne présenta aucune activité
gomme naturelle plastifiée ...	6 heures	ne présenta aucune activité
gomme naturelle vulcanisée ...	24 heures	période supérieure à une dizaine d'heures
néoprène cru	6 heures	3,5 m et 38 m
néoprène plastifié	6 heures	5,0 m et 34,5 m
néoprène vulcanisé	24 heures	4,5 m, 36 m et période supérieure à une dizaine d'heures

4. Conclusions

La méthode proposée pour faire la distinction analytique entre le néoprène et les autres élastomères non chlorés, par moyen d'irradiation avec neutrons, a été essayée, ayant obtenu des résultats favorables relativement à la distinction entre la gomme naturelle et ce produit de synthèse.

Comme on sait déjà, on arrive au point de saturation dans la formation des radionuclides artificiaux par irradiation, au bout d'un intervalle de temps équivalent à 6 fois la période de la substance formée. On peut baser l'identification du néoprène dans la formation du ^{38}Cl et ^{37}S , étant suffisant pour cet effet, d'irradier les échantillons à analyser pendant 3 heures.

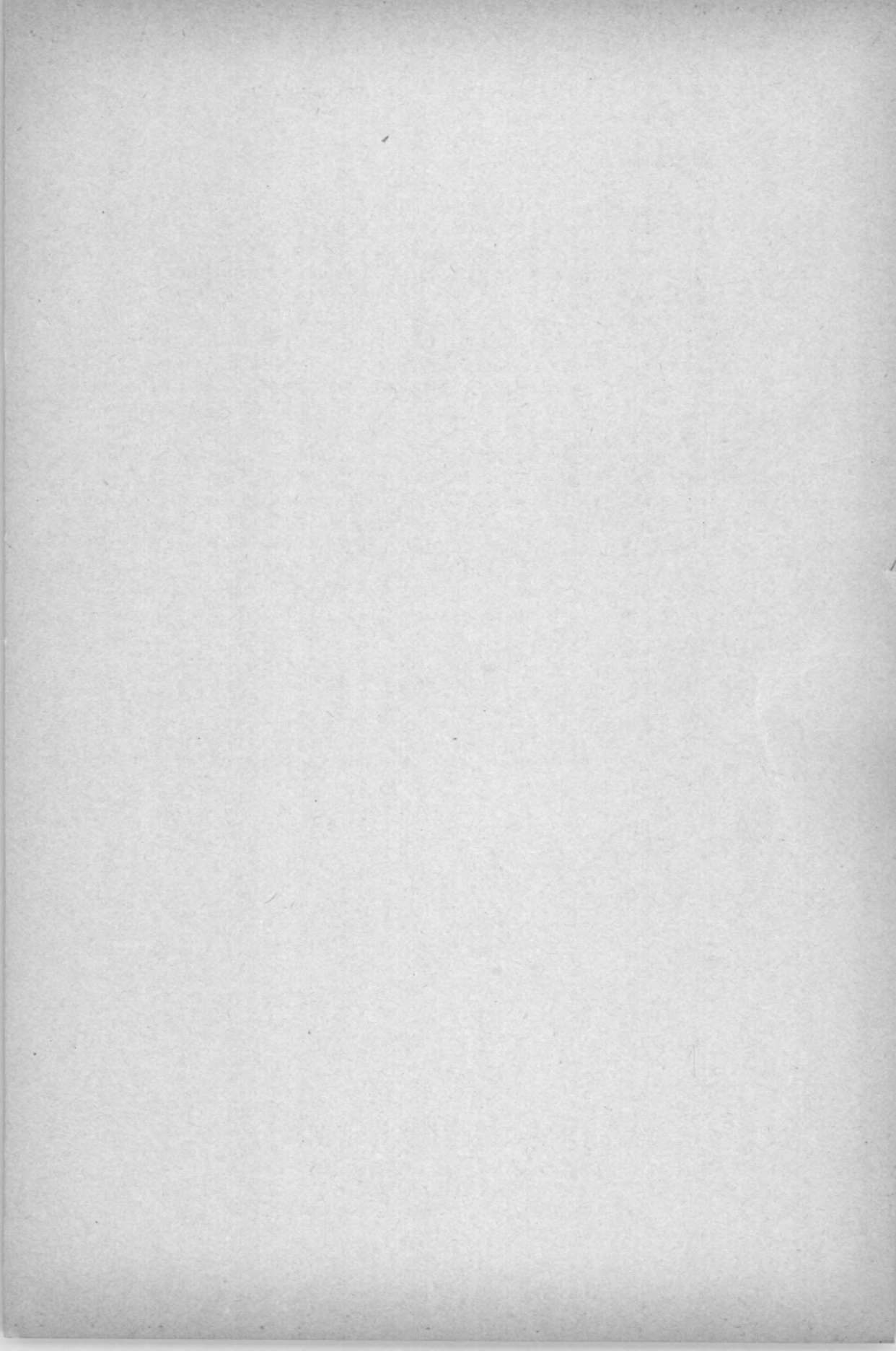
Pour obtenir l'identification des radionuclides formés, par la détermination de leurs périodes il suffit, donnée la valeur de celles-ci, d'effectuer deux mesures de l'activité avec un intervalle d'une heure.

La méthode peut être améliorée en utilisant un compteur de scintillation, ce qui nous fait croire qu'il peut devenir quantitatif.

Avec le flux de neutrons employé et la durée des irradiations effectuées on n'a pas vérifié aucune altération dans la structure soit de la gomme soit du néoprène.

RÉFÉRENCES

- [1] Fisher, H. L. — *J. Chem. Educ.*, 32, 417 (1955).
- [2] Catton, N. L. — *The Neoprenes*, Du Pont, Delaware (1953).
- [3] Owen, H. R. et Schaeffer, O. A. — *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 898 (1955).



Composto e impresso nas Oficinas Gráficas de
RAMOS, AFONSO & MOITA, LDA.
R. Voz do Operário - S. Vicente de Fora - Lisboa