

*Revista  
Portuguesa  
de  
Química*

Editada pela  
SOCIEDADE  
PORTUGUESA  
DE QUÍMICA  
E FÍSICA

VOL. II

JULHO 1960

N.º 2

# Revista Portuguesa de Química

Editada por

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. II

JULHO DE 1960

N.º 2

## Índice:

### Secção A:

OXIDAÇÃO DO MOLIBDÉNIO PENTAVALENTE, EM MEIO SULFÚRICO, PELA ACÇÃO DAS RADIAÇÕES IONIZANTES — <i>M. C. Anta, M. T. Silva e C. Marciano</i> ...	73
SEPARAÇÃO DE NÍOBIO DE ZIRCÓNIO POR CROMATOLOGRAFIA EM PAPEL — <i>J. M. Peixoto Cabral</i> ...	81
DOSEAMENTO ESPECTROFOMÉTRICO DO URÂNIO EM PRESENÇA DO FERRO — <i>Maria Fernanda Lima Lopes-Cardoso</i> ...	89

### Secção D:

ÁLGUNS ASPECTOS DO QUIMISMO BACTERIANO — <i>Maria Serpa dos Santos</i> ...	113
A ESTERILIZAÇÃO A FRIO DE PRODUTOS ALIMENTARES POR MEIO DAS RADIAÇÕES IONIZANTES — <i>António Valente da Fonseca Alves da Costa</i> ...	125
NORMAS PARA A COLABORAÇÃO NA REVISTA ...	141

## OXIDAÇÃO DO MOLIBDÊNIO PENTAVALENTE, EM MEIO SULFÚRICO, PELA ACÇÃO DAS RADIAÇÕES IONIZANTES

M. C. ANTA, M. T. SILVA e C. MARCIANO

*Instituto de Alta Cultura, C. E. E. N.*

Lisboa - Portugal

Recebido em Março de 1960

Tem sido estabelecida por vários autores [1, 2, 3] uma relação entre o comportamento radiolítico de vários sistemas em solução aquosa e os seus potenciais de oxi-redução. Foram assim determinados, para diversos tipos de radiação, domínios de potencial onde são possíveis, ou só oxidações, ou só reduções, ou oxidações e reduções.

O potencial 0,48 V [4] ou 0,53 V [5] do sistema  $\text{Mo}^{\text{V}}/\text{Mo}^{\text{VI}}$  situa-se nitidamente na zona em que pela acção das partículas  $\alpha$  se deve verificar a oxidação dos iões  $\text{Mo}^{\text{V}}$ , enquanto no caso das radiações  $\gamma$  ou X está na transição da zona em que se deve observar oxidação, para a zona em que tanto a oxidação como a redução são possíveis [3].

Estudámos os efeitos das radiações  $\alpha$ ,  $\gamma$  e X sobre soluções aquosas de  $\text{Mo}^{\text{V}}$  e em qualquer dos casos pusemos em evidência uma oxidação, total para doses suficientes.

### *Condições experimentais*

As soluções e reagentes usados foram preparados com produtos Merck «A. R. grade», e água especialmente purificada em cinco destilações sucessivas, as duas primeiras em presença de permanganato de potássio e a terceira com barita; a conductividade da água assim tratada era, à temperatura do laboratório, da ordem de  $2 \times 10^{-6}$   $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^{-1}$ .

Aproveitando o estudo de A. Binz [6] sobre a redução electrolítica, em meio clorídrico, de  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  a  $\text{Mo}^{\text{V}}$ , estabelecemos em meio sulfúrico um método de preparação de soluções de  $\text{Mo}^{\text{V}}$ .

Fizeram-se electrólises de 25 ml de solução de  $\text{Mo O}_4\text{Na}_2$   $5 \times 10^{-2}$  M em  $\text{SO}_4\text{H}_2$  7 N, previamente desarejadas por uma corrente de azoto purificado que se mantém durante o processo. Utilizou-se um cátodo de mercúrio (tridestilado após purificação química) com superfície

de 18 cm<sup>2</sup> e um ânodo de fio de platina. A redução electrolítica do molibdénio, a 2,15 V, é total ao fim de três horas.

As soluções de Mo<sup>V</sup> assim preparadas têm coloração castanho-alaranjada; as soluções 10<sup>-3</sup> M em Mo<sup>V</sup> são instáveis quando o meio não é suficientemente ácido; nas irradiações utilizou-se uma concentração 7 N em ácido sulfúrico, ficando ainda as soluções com um ritmo de instabilidade de 0,5 % por hora, aproximadamente.

A solução de Mo<sup>VI</sup> e a obtida após electrólise foram estudadas por polarografia em meio SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub> 0,2 M e SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 0,15 a 12 M, para concentrações de Mo de 2,5 × 10<sup>-3</sup> a 10<sup>-3</sup> M (fig. 1). Nos polarogramas

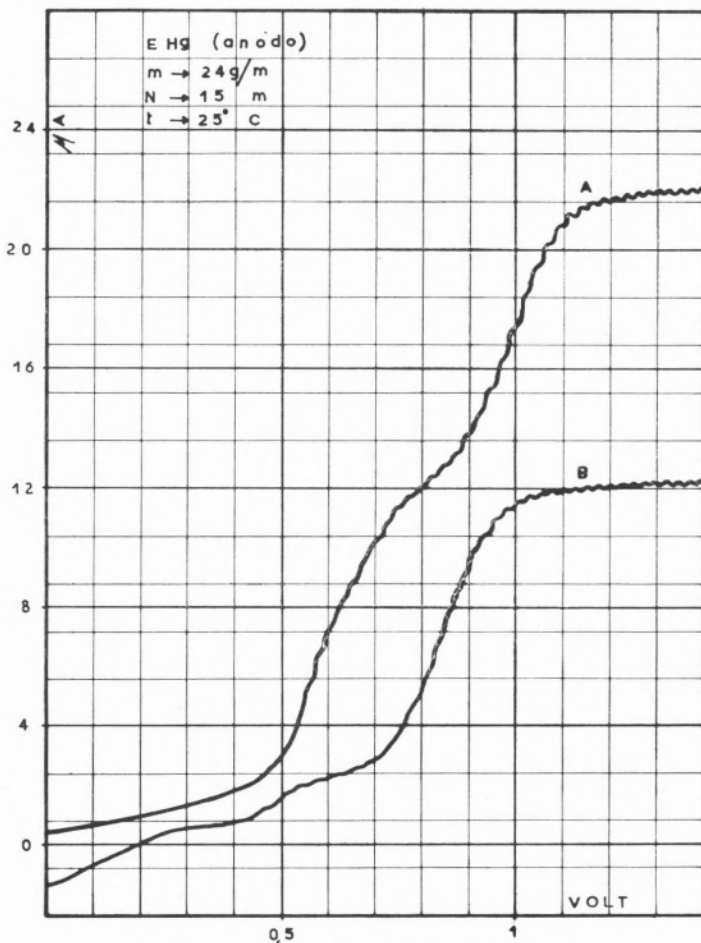


FIG. 1 - Polarogramas de Mo  $2,5 \times 10^{-3}$  M  
em SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub> 0,2 M e SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 0,35 M  
A ... .. Mo<sup>VI</sup>  
B ... .. Mo<sup>V</sup>

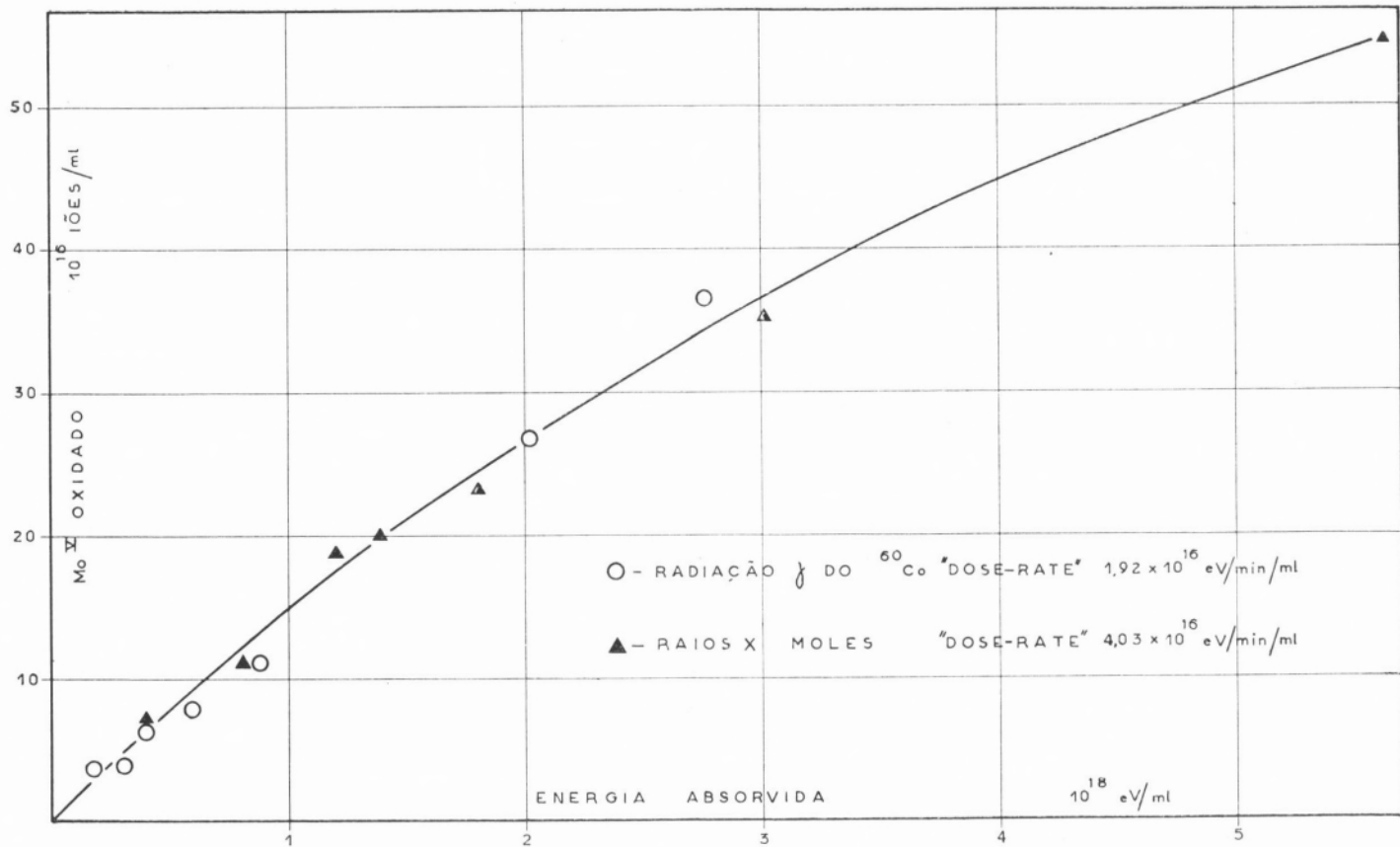


FIG. 2

do  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  encontram-se duas ondas, devendo a 1.<sup>a</sup> com potencial de onda média  $E_{1/2} = -0,20 \text{ V}$  (E. S. C.), atribuir-se à passagem de  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  a  $\text{Mo}^{\text{V}}$ , e a 2.<sup>a</sup> com  $E_{1/2} = -0,62 \text{ V}$  (E. S. C.) à redução do  $\text{Mo}^{\text{V}}$  [7]. Nos polarogramas das soluções obtidas por electrólise, só se encontra uma onda a  $E_{1/2} = -0,62 \text{ V}$ , que apresenta a mesma altura  $i_d$  que a segunda onda dos polarogramas de soluções de  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  com igual concentração em Mo.

A comparação dos resultados permite concluir por um lado a não existência de  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  na solução electrolisada (desaparecimento da 1.<sup>a</sup> onda a  $E_{1/2} = -0,20 \text{ V}$ ), e por outro lado a existência apenas de  $\text{Mo}^{\text{V}}$

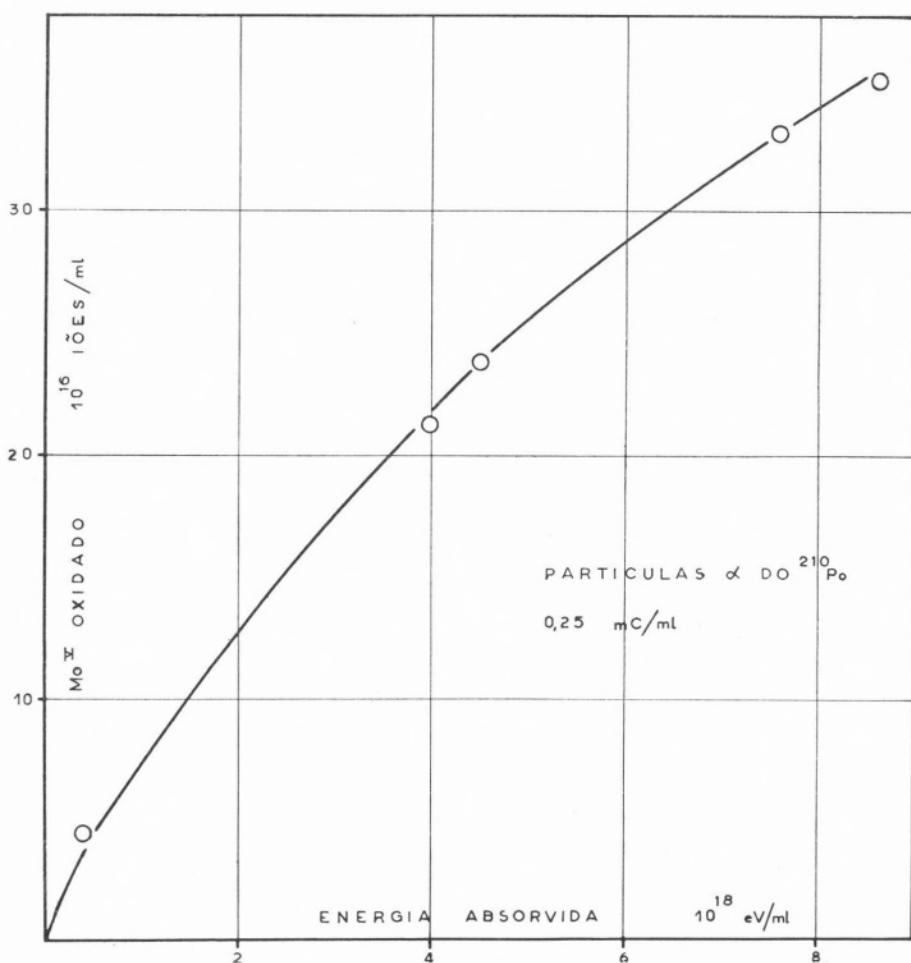


FIG. 3

(igualdade de  $i_d$  na onda a  $E_{1/2} = -0,62$  V nos dois casos, para a mesma concentração em Mo).

O  $\text{Mo}^{\text{V}}$  presente nas soluções pôde assim ser determinado por cerimetria [8] usando a fenantrolina ferrosa como indicador; as soluções de  $\text{Ce}^{\text{IV}}$  usadas foram aferidas num espectrofotômetro Beckman Du a  $320 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 5580$ ).

Utilizou-se como fonte de radiação  $\gamma$  uma unidade terapêutica, de 1000 curies, de rádio-cobalto (fotões de 1,33 e 1,17 Me V). As irradiações foram efectuadas em presença de ar, em células de pyrex colocadas em posições bem definidas perpendicularmente ao feixe. A energia absorvida pelas soluções foi determinada usando o dosímetro de Fricke [9] em presença de cloreto de sódio  $10^{-3}$  M, admitindo  $G_{\text{Fe}^{+++}} = 15,6$  [10]. Fizeram-se, utilizando os coeficientes de absorpção mássica dados por Davisson e Evans [11], as correcções necessárias para dar conta da absorpção mais forte da radiação pelas soluções bastante ácidas (13,6 % para  $\text{SO}_4\text{H}_2$  7N).

Para a irradiação com raios X utilizou-se um tubo Philips Metalix com anticátodo de tungsténio, funcionando a 20 kV com um débito de 30 mA. A dosimetria foi feita usando igualmente o dosímetro anterior com o valor  $G_{\text{Fe}^{+++}} = 14,2$  [12]. Para esta radiação a correcção atrás referida não é necessária por a absorpção da radiação ser total, devido à espessura da solução a irradiar (10 mm) ser superior ao percurso dos raios X no meio.

Nas irradiações com partículas  $\alpha$ , usámos  $^{210}\text{Po}$  proveniente de Amersham (G. B.) em solução nítrica sem arrastador, purificado e dissolvido nas soluções a irradiar segundo métodos anteriormente descritos [13]. As doses absorvidas foram também determinadas com o dosímetro de Fricke em presença de  $\text{ClNa}$   $10^{-3}$  M, tomando  $G_{\text{Fe}^{+++}} = 5,2$  [14].

### **Resultados experimentais**

#### *Radiações X e $\gamma$ :*

Os resultados indicados na fig. 2 mostram que as acções dos raios X e da radiação  $\gamma$  sobre soluções 7 N em ácido sulfúrico contendo inicialmente  $\text{Mo}^{\text{V}}$   $5 \times 10^{-4}$  a  $5 \times 10^{-3}$  M, são idênticas. A irradiação conduz à oxidação total dos iões  $\text{Mo}^{\text{V}}$  com um rendimento que diminui ligeiramente à medida que a energia absorvida aumenta, podendo a parte inicial da curva considerar-se praticamente rectilínea. O rendimento inicial da transformação é  $G = 17,8$  (número de iões  $\text{Mo}^{\text{V}}$  oxidados por cada 100 eV de energia absorvida).

A análise dos polarogramas obtidos a partir de soluções irradiadas permitiu concluir que dentro dos erros experimentais não há passagem de  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  a qualquer estado de valência superior.

#### *Radiação $\alpha$ :*

Devido à instabilidade das soluções e à relativamente fraca intensidade utilizada, a contribuição da acção das partículas  $\alpha$  para a transformação total do  $\text{Mo}^{\text{V}}$  contido inicialmente nas soluções foi apenas de 60 %. Os resultados reproduzidos na fig. 3 permitem no entanto concluir que as características da oxidação obtida com esta radiação são análogas às da produzida pelos raios X ou  $\gamma$  sendo porém o rendimento menor (rendimento inicial  $G=11,0$ ).

É interessante pôr em evidência a diferença de comportamento entre os sistemas  $\text{Mo}^{\text{V}}/\text{Mo}^{\text{VI}}$  e  $\text{V}^{\text{IV}}/\text{V}^{\text{V}}$  (potencial de oxiredução = 1,0 V [15]) que evolui sob radiação  $\alpha$  para um estado de equilíbrio entre os dois estados de valência [16], dado que se tem com frequência considerado que o comportamento dos diversos sistemas sob a acção desta radiação é análogo ao das reacções com a água oxigenada e que quer  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  quer  $\text{V}^{\text{V}}$  são oxidados em meio ácido por esta substância a graus de oxidação superior (formação de permolibdatos e de pervanadatos).

#### RESUMO

Estudou-se a acção dos raios X de 10 KeV, e das radiações  $\alpha$  do  $^{210}\text{Po}$  e  $\gamma$  do  $^{60}\text{Co}$  sobre soluções sulfúricas de  $\text{Mo}^{\text{V}}$ , e pôs-se em evidência em qualquer dos casos uma oxidação a  $\text{Mo}^{\text{VI}}$ , total para doses suficientes.

O rendimento de oxidação  $G$  é independente da concentração inicial de  $\text{Mo}^{\text{V}}$  no domínio estudado ( $5 \times 10^{-4}$  a  $5 \times 10^{-3}$  M), mas diminui ligeiramente à medida que a energia absorvida aumenta, para qualquer dos tipos de radiação utilizados.

Os rendimentos iniciais de oxidação, expressos em unidades  $G$  (n.º de iões  $\text{Mo}^{\text{V}}$  oxidados por cada 100 eV de energia absorvida), são  $G=17,8$  para as radiações X e  $\gamma$  e  $G=11,0$  para a radiação  $\alpha$ .

Estabelece-se uma comparação entre os comportamentos dos sistemas  $\text{Mo}^{\text{VI}}/\text{Mo}^{\text{V}}$  e  $\text{V}^{\text{V}}/\text{V}^{\text{IV}}$  sob radiação  $\alpha$ , relacionando-os com os respectivos potenciais de oxi-redução.



## SUMMARY

The effect of  $^{210}\text{Po}$   $\alpha$  rays,  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  rays, and soft X rays on  $\text{Mo}^{\text{V}}$  sulphuric acid solutions has been studied. A complete oxidation of  $\text{Mo}^{\text{V}}$  to  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  has been observed in all the cases.

The oxidation yield G, for the three types of radiation used, does not depend on the  $\text{Mo}^{\text{V}}$  initial concentration, over the range studied ( $5 \times 10^{-4}$  to  $5 \times 10^{-3}$  M), but its value decreases slightly with the increase of the energy absorbed.

Initial oxidation yields are  $G=17,8$  for X and  $\gamma$  rays and  $G=11,0$  for  $\alpha$  rays.

The behaviours of the  $\text{Mo}^{\text{V}}/\text{Mo}^{\text{VI}}$  and  $\text{V}^{\text{IV}}/\text{V}^{\text{V}}$  systems under  $\alpha$  radiation are related with their oxi-reduction potentials.

## R É S U M É

On a étudié l'action des rayons  $\alpha$  du polonium, des rayons  $\gamma$  de  $^{60}\text{Co}$  et des rayons X de 10 KeV, sur des solutions sulfuriques de  $\text{Mo}^{\text{V}}$  et on a observé dans tous les cas l'oxydation totale de  $\text{Mo}^{\text{V}}$  à  $\text{Mo}^{\text{VI}}$ .

Le rendement de l'oxydation G est pour tous les rayonnements utilisés indépendant de la concentration initiale de  $\text{Mo}^{\text{V}}$  dans le domaine étudié ( $5 \times 10^{-4}$  à  $5 \times 10^{-3}$  M) mais il diminue légèrement au fur et à mesure que l'énergie absorbée par les solutions augmente.

Les rendements initiaux de l'oxydation sont  $G=17,8$  pour les rayons  $\gamma$  ou X et  $G = 11,0$  pour les rayons  $\alpha$ .

On compare les comportements des systèmes  $\text{Mo}^{\text{V}}/\text{VI}$  et  $\text{V}^{\text{IV}}/\text{V}^{\text{V}}$  sous rayonnement  $\alpha$  en les rapprochant de leurs potentiels d'oxydo-réduction.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] E. COLLINSON and F. S. DANTON, *Ann. Rev. Phys. Chem.*, **2**, 108 (1951).
- [2] M. HAÏSSINSKY, M. LEFORT et H. LEBAIL, *J. Chim. Phys.*, **48**, 208 (1951).
- [3] M. HAÏSSINSKY, *La Chimie Nucléaire et ses Applications*, 315 (Masson, 1957).
- [4] H. K. EL SHAMY and A. M. EL AGGAN, *J. A. C. S.*, **75**, 1187 (1953).
- [5] W. M. LATIMER, *Oxidation Potentials*, 234 (Prentice-Hall, 1950).
- [6] A. BINZ, *Angew. Chem.*, **36**, 458 (1923).
- [7] M. G. JOHNSON and R. J. ROBINSON, *Anal. Chem.*, **24**, 366 (1952).
- [8] G. CHARLOT et D. BÉZIER, *Analyse Quantitative Minérale* (Masson, 1955).
- [9] H. FRICKE and S. MORSE, *Phil. Mag.*, **7**, 129 (1929).
- [10] B. H. SCHULER and A. O. ALLEN, *J. Chem. Phys.*, **24**, 56 (1956).

- [11] C. M. DAVISSON and R. D. EVANS, *Rev. Mod. Phys.*, **24**, 79 (1952).
- [12] M. COTTIN et M. LEFORT, *J. Chim. Phys.*, **53**, 267 (1956).
- [13] M. C. ANTA et M. LEFORT, *J. Chim. Phys.*, **51**, 29 (1954); M. C. ANTA, *Thèses* (Paris, 1955).
- [14] C. N. TRUMBORE, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 1772 (1958).
- [15] L. P. DUCRET, *Ann. de Chim.*, **6**, 705 (1951); J. E. CARPENTER, *J. Am. Chem. Soc.*, **56**, 1847 (1934).
- [16] M. J. PUCHEAULT, *Compt. Rend.*, **246**, 409 (1958); M. J. PUCHEAULT et C. FERRADINI, 2.<sup>a</sup> Conferência Internacional para a Utilização da Energia Atômica, P/1232 (Genebra, 1958).

## SEPARAÇÃO DE NIÓBIO DE ZIRCÓNIO POR CROMATOGRÁFIA EM PAPEL

J. M. PEIXOTO CABRAL

*Centros de Estudo da Energia Nuclear (\*)*

*Instituto de Alta Cultura*

Lisboa - Portugal

Recebido em Dezembro de 1959

Poucos trabalhos vimos publicados sobre a separação zircónio-nióbio por cromatografia em papel. Com excepção dum deles [1], onde se emprega como eluente ácido mandélico, todos fazem uso de solventes contendo ácido fluorídrico, quer com metiletilcetona [2, 3], quer com butanol e ácido clorídrico [4].

Pareceu-nos, por isso, que teria interesse analisar a possibilidade de separar estes elementos com os solventes ácido clorídrico-metiletilcetona e ácido sulfúrico-metiletilcetona, utilizados para efectuar a separação de nióbio, tântalo e titânio [5, 6].

Nesta nota apresentam-se os resultados obtidos no estudo do comportamento do zircónio com estes solventes e mostram-se algumas separações realizadas, não só de quantidades da ordem de alguns microgramas dos elementos mas também de vestígios de  $Zr^{95}$  e  $Nb^{95}$ .

### 1 — *Condições experimentais*

Empregaram-se os seguintes produtos: papel Whatman n.º 1, para cromatografia; óxido de nióbio Fansteel, «high purity»; nitrato de zirconilo Fisher S. Co., c.p.; e  $Zr^{95}$ - $Nb^{95}$  Oak Ridge, «processed», «carrier free», em ácido oxálico 0,4 N. Os restantes reagentes foram Merck p.a..

Tanto o zircónio como o nióbio foram solubilizados em ácido oxálico 0,5 M. O nitrato de zirconilo foi primeiramente dissolvido em água. Precipitou-se depois o zircónio com amónia, lavou-se o precipitado e dissolveu-se no ácido oxálico. Para o nióbio procedeu-se de

(\*) Centro de Estudos de Química (I. S. T.)

maneira idêntica à descrita num trabalho anterior [6]. As soluções preparadas continham cerca de 2 mg de cada elemento por ml.

A técnica de cromatografia utilizada e os processos de identificação do nióbio e dos radionuclídeos foram análogos aos descritos nesse trabalho. Na identificação do zircónio empregou-se uma solução alcoólica de alizarina. Para analisar o grau de pureza do  $Nb^{95}$  traçaram-se curvas de absorção das partículas  $\beta$  por ele emitidas.

## 2 — Resultados

### 2.1 — Ensaio com o solvente ácido clorídrico-metiletilcetona

Estudou-se o comportamento do zircónio com o solvente constituído por 75 % de metiletilcetona e 25 % de uma solução de ácido clorídrico, para diferentes valores da concentração desta solução, particularmente na zona de elevadas concentrações. Esta é a que mais poderia interessar à separação, pois abaixo de 9 N o nióbio distribui-se em cometa numa grande área do cromatograma. A fig. 1 mostra os resultados obtidos.

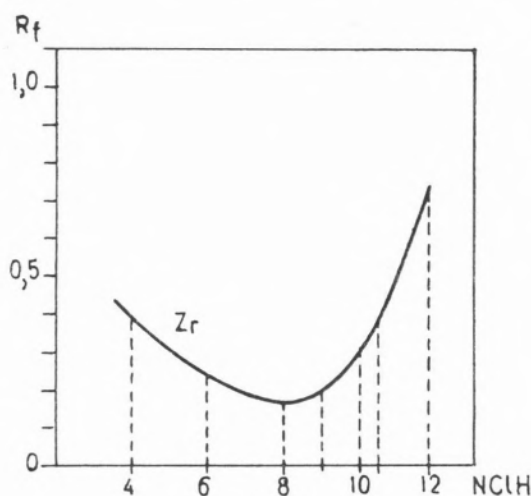


FIG. 1 — Variação do  $R_f$  do Zr com a normalidade da solução de HCl, para o solvente metiletilcetona (75 %) — solução aquosa de HCl (25 %)

Apesar do zircónio ter também tendência a formar cometas, verifica-se que é possível realizar a sua separação do nióbio, utilizando o solvente com ácido clorídrico 10 N. Com efeito, o  $R_f$  do nióbio é neste caso 0,76, enquanto que o  $R_f$  da parte superior da mancha do zircónio não vai além de 0,3.

Na fig. 2 apresentam-se os resultados da separação dos dois elementos. A curva da actividade das várias fracções do cromatograma corresponde à separação dos radionuclidos  $Zr^{95}$  e  $Nb^{95}$ , no estado «carrier free», com interesse do ponto de vista radioquímico. As manchas referem-se aos elementos estáveis em quantidades da ordem de  $5 \mu\text{g}$ .

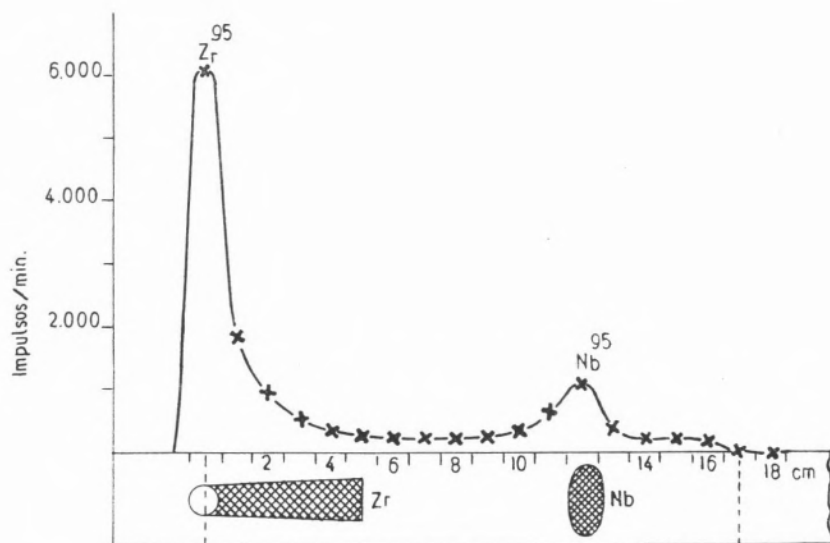
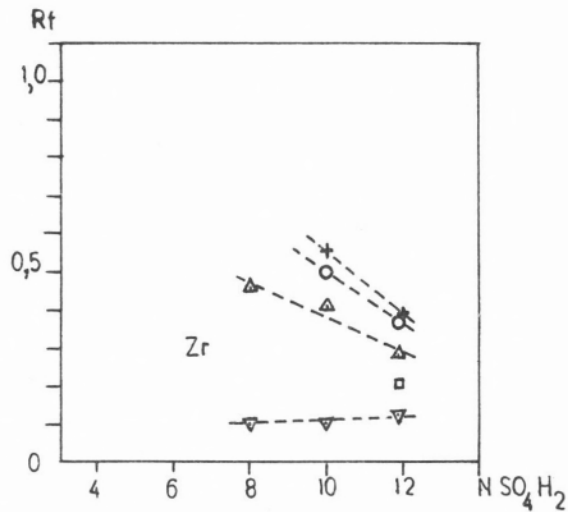


FIG. 2 — Separação Zr-Nb com o solvente metiletilcetona (75 %) —  $\text{ClH}$  10 N (25 %). Tempo de eluição =  $6^h 10^m$

## 2.2 — Ensaio com o solvente ácido sulfúrico-metiletilcetona

A fig. 3 mostra os resultados obtidos no estudo da variação do  $R_f$  do zircónio com a concentração do ácido do solvente, para diferentes valores da razão dos volumes de ácido e de metiletilcetona.

Comparando estes resultados com os obtidos para o nióbio [6], em condições análogas, conclui-se que a separação destes elementos se pode efectuar dentro duma larga zona da composição do solvente e da concentração do ácido. A melhor separação foi obtida com o solvente constituído por 80 % de metiletilcetona e 20 % de ácido sulfúrico 12 N e está representada na fig. 4. Nesta figura a curva da actividade refere-se, como anteriormente, aos radionuclidos  $Zr^{95}$  e  $Nb^{95}$  no estado «carrier free» e as manchas aos elementos em quantidades da



- xx 70% CH<sub>3</sub>COC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>
- oo 75% "
- ΔΔ 80% "
- 85% "
- ▽▽ 90% "

FIG. 3 - Variação do R<sub>f</sub> do Zr com a normalidade da solução de SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>, para o solvente metiletilcetona — solução aquosa de SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>, em diferentes proporções

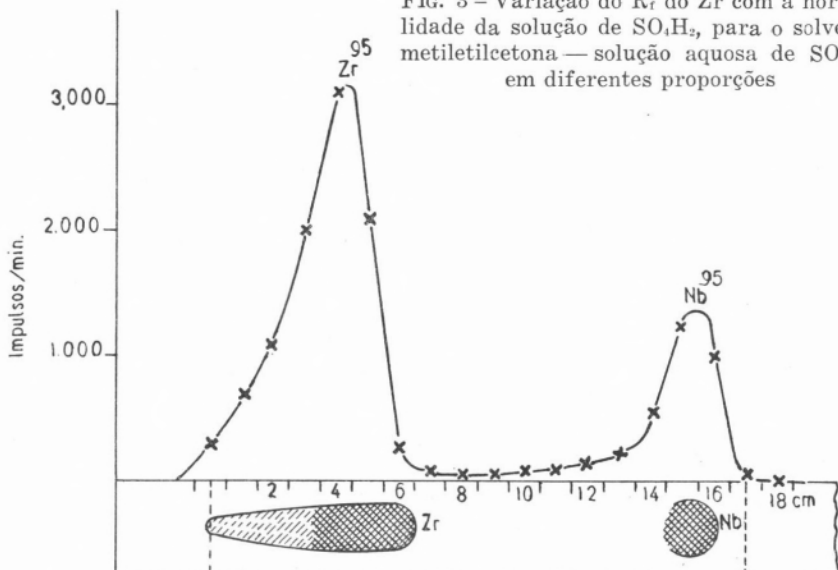


FIG. 4 - Separação Zr-Nb com o solvente metiletilcetona (80%) — SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 11,9 N (20%). Tempo de eluição = 10<sup>h</sup>

ordem de 5  $\mu\text{g}$ . Note-se que o  $R_f$  do zircónio, tratando-se de vestígios, é ligeiramente inferior ao obtido com micro quantidades.

Verificou-se ainda que a mistura de 10 % de ácido sulfúrico 12 N e 90 % de metiletilcetona, embora não permita efectuar a separação completa do nióbio do zircónio quando presentes em quantidades da ordem dos microgramas, serve perfeitamente para separar  $\text{Zr}^{95}$  e  $\text{Nb}^{95}$  no estado «carrier free». Neste caso é até mais aconselhável pois necessita-se apenas de cerca de 2 horas para a separação, quando no caso anterior são necessárias 10. A fig. 5 apresenta os resultados obtidos.

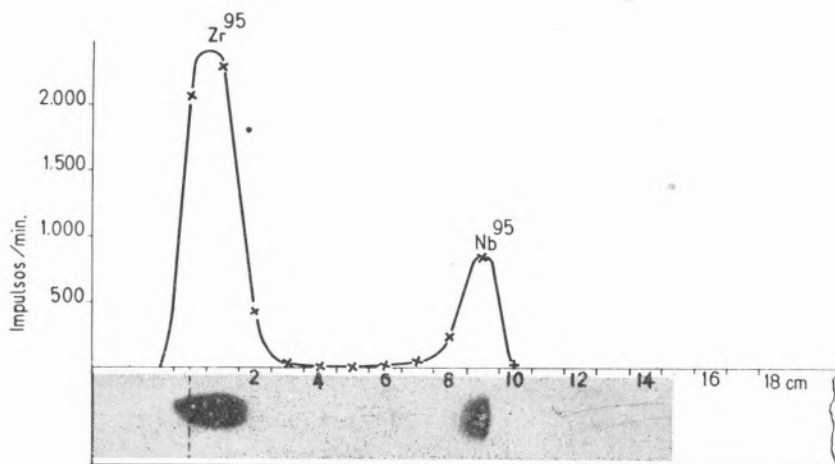


FIG. 5 — Separação  $\text{Zr}^{95}$ - $\text{Nb}^{95}$ , sem arrastador, com o solvente metiletilcetona (90 %) —  $\text{SO}_2\text{H}_4$  12,1 N (10 %). Tempo de eluição =  $2^h 10^m$

### 3 — Conclusão

A separação do nióbio do zircónio pode efectuar-se com metiletilcetona associada quer ao ácido clorídrico quer ao ácido sulfúrico. No primeiro caso o solvente deverá ter a seguinte composição: metiletilcetona (75 %) e ácido clorídrico 10 N (25 %). No segundo a sua composição pode ser muito variável, dando-se contudo preferência ao solvente constituído por 80 % de metiletilcetona e 20 % de ácido sulfúrico 12 N. Neste caso a separação é mais perfeita, principalmente quando se trata de vestígios dos elementos.

Para separar  $\text{Nb}^{95}$  de  $\text{Zr}^{95}$ , «carrier free», será preferível empregar o solvente formado por 90 % de metiletilcetona e 10 % de ácido sulfúrico 12 N, que permite realizar a separação num intervalo de tempo mais curto.

## RESUMO

Estudou-se a separação Zr-Nb pelo método da cromatografia em papel, utilizando os solventes metiletilcetona-ClH-água e metiletilcetona-SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>-água. Nos ensaios realizados com quantidades da ordem de 5 µg de cada um dos elementos, os melhores resultados foram obtidos com o solvente metiletilcetona (80 %) - SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 12 N (20 %). No caso de misturas de Zr<sup>95</sup>-Nb<sup>95</sup>, «carrier free», verificou-se que é preferível empregar o solvente metiletilcetona (90 %) - SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 12 N (10 %), o qual tem a vantagem de reduzir o tempo de separação.

## RESUMÉ

On a étudié la séparation Zr-Nb, par chromatographie sur papier, en utilisant les mélanges méthyléthylcétone-HCl-eau et méthyléthylcétone-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-eau. Pour des quantités de chaque élément de l'ordre de 5 µg, la meilleure séparation a été obtenue avec le mélange méthyléthylcétone (80 %) - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 12 N (20 %). Néanmoins, dans le cas où l'on emploie Zr<sup>95</sup>-Nb<sup>95</sup> sans entraîneur, le mélange méthyléthylcétone (90 %) - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 12 N (10 %) est avantageux, lorsque l'on désire obtenir une séparation plus rapide.

## SUMMARY

The paper chromatography of Zr and Nb in ethyl methyl ketone-HCl-water and ethyl methyl ketone-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-water mixtures has been studied. For quantities of about 5 µg of each element the best separation is obtained with ethyl methyl ketone-12 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (80:20). For carrier free Zr<sup>95</sup>-Nb<sup>95</sup> advantage is taken by using ethyl methyl ketone-12 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (90:10), which shortens the separation time.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] MASAYOSHI ISHIBASHI et al., *Bull. Inst. Chem. Research, Kyoto Univ., Suppl. Issue*, **60** (1954).
- [2] CROUTHAMEL, C. E. e FUDGE, A. J., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **5**, 240 (1958).
- [3] HARDY, C. J. e SCARGILL, D., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **9**, 322 (1959).
- [4] VERNONIS, J., *J. Chromatog.*, **1**, 52 (1958).
- [5] BRUNINX, E., EECKHOUT, J. e GILLIS, J., *Mikrochimica Acta (Tagung)*, 0/19.
- [6] PEIXOTO CABRAL, J. M., *Rev. Port. Quím.*, **II**, 51 (1959).



## ERRATA

Separação de nióbio, tântalo e titânio, por cromatografia em papel, (publicado no último número desta Revista, pág. 51).

Por lapso não foram incluídas na fig. 5 deste trabalho (pág. 60) as composições do solvente, relativas às diversas curvas da figura. Deverá, por isso, juntar-se-lhe o seguinte:

- x — x — 70 % de  $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$
- o — o — 75 % de  $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$
- $\Delta$  —  $\Delta$  — 80 % de  $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$
- $\nabla$  —  $\nabla$  — 90 % de  $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$



## DOSEAMENTO ESPECTROFOTOMÉTRICO DO URÂNIO EM PRESENÇA DO FERRO

por

MARIA FERNANDA LIMA LOPES-CARDOSO

Recebido em Julho de 1960

### I — INTRODUÇÃO

O dibenzoilmetano, ensaiado pela primeira vez como reagente cromogénico do urânio em 1953 [8, 11], tem sido largamente usado em doseamentos colorimétricos daquele elemento.

A sua aplicação, que se revelou prometedora, dadas a estabilidade do complexo formado e a grande sensibilidade da reacção, envolvia, porém, uma técnica delicada, e — inconveniente este de maior importância — implicava uma eliminação prévia de diversos iões interferentes.

Entre os métodos inicialmente estabelecidos, o de Yoe, Fritz e Black [11], que seguimos sistemáticamente no Laboratório (<sup>1</sup>), incluía uma demorada operação preliminar de extracção para éter. Ao estudá-lo vimos-nos também perante o problema dos ajustamentos de pH — aparente — do meio alcoólico-aquoso em que se desenvolvia a cor, evidentemente difíceis pela coincidência da zona considerada óptima para a complexação e a de hidrólise do ião uranilo, e ainda pela ausência de tamponização.

Após os trabalhos de Yoe o estudo do reagente foi retomado por outros investigadores que estabeleceram novas técnicas e introduziram modificações nas já existentes, procurando sempre maior simplicidade, uma especificidade mais acentuada e, naturalmente, a minimização do número e da importância das causas de erro.

Em 1954, Adams e Maeck [1] mostraram que a complexação poderia dar-se na zona ácida, ajustando-se o pH a 7 após a adição do reagente, o que veio eliminar o primeiro dos ajustamentos e prevenir a hipótese duma hidrólise parcial do uranilo, que, podendo ocorrer

(<sup>1</sup>) Gráfico 1.

antes da reacção com o dibenzoilmetano, viria falsear o resultado do doseamento. Modificaram igualmente o sistema de extracção e o comprimento de onda usado, o que acentuou o carácter específico do processo, embora com leve sacrifício da sua sensibilidade.

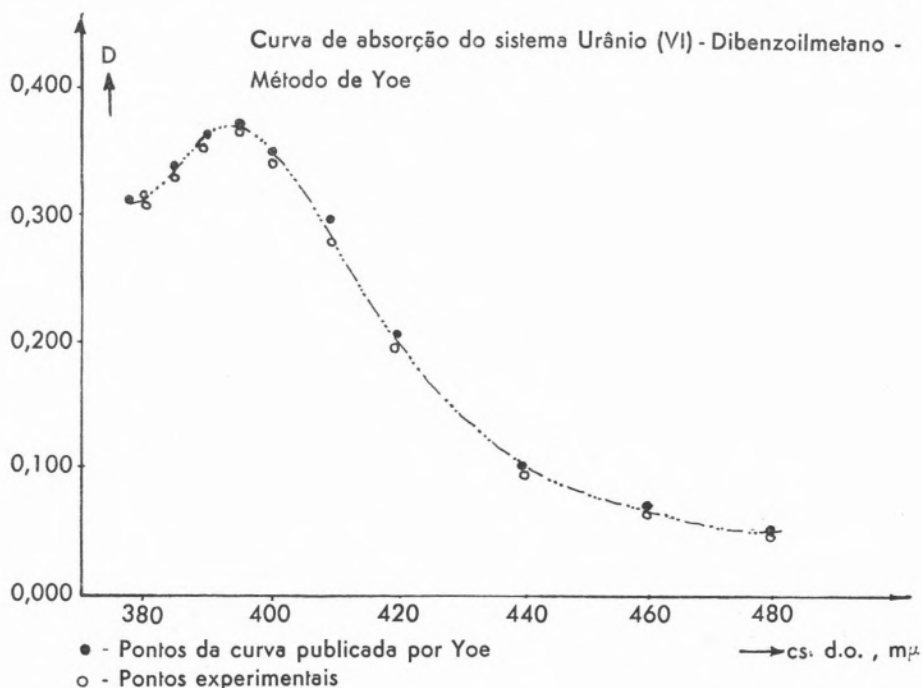


GRÁFICO 1

Blanquet [2] trabalhou pela primeira vez num meio tamponizado, prescindindo da extracção no isolamento do urânio, e vindo a substituí-la por uma precipitação pelo carbonato. Como o pH da solução antes da adição do reagente colorimétrico caísse na zona de hidrólise, usou o ácido etilenodiaminotetracético para impedir a precipitação de hidróxidos, e fez desenvolver a cor num meio acetónico-aquoso tamponizado em presença de piridina.

Nos dois últimos anos novas variantes foram propostas por Francois [3], por Horton e White [4], por Maeck, Booman, Elliot e Rein [6, 7], entre outros. Em quase todos os casos continuaram a usar-se meios tamponizados pela piridina, sempre aliados a processos de extracção preliminares — para tributilfosfato em iso-octano, óxido de tri-n-octilfosfina em ciclo-hexano, metilisobutilcetona, etc.

Passámos rapidamente em revista os diversos métodos até agora empregados na determinação do urânio pelo dibenzoilmetano, limitando-nos a enumerar os agentes actuantes nas sucessivas operações a que se submeteu a amostra.

Do que dissémos podemos, no entanto, concluir desde já que o estudo do sistema Urânio (VI)-Dibenzoilmetano de forma alguma se pode considerar esgotado. Nos sete anos que decorreram desde os primeiros trabalhos, de Yoe e seus colaboradores [11] por um lado, de Pribil e Jelínek [8] por outro, foi grande o número de aperfeiçoamentos introduzidos e de modificações propostas, o que nos leva a admitir que cada investigador não considerava plenamente satisfatórias as técnicas dos que o haviam precedido na análise do problema.

Tentaremos em seguida reunir as objecções que nos pareceu lícito levantar aos diversos métodos, correspondentes elas a outras tantas dificuldades que deseámos solucionar.

Pretendíamos nós um processo aplicável ao estudo das águas naturais, em especial das águas dos rios. Evidentemente, ele teria que satisfazer, em primeiro lugar, a duas condições essenciais:

- ser de grande sensibilidade, e
- poder aplicar-se a soluções contendo iões de tipos diversos, sem que estes viessem produzir interferências.

Além disso, deveria, naturalmente, ser de aplicação fácil.

Tentámos seguir algumas das técnicas já descritas, mas encontramos dificuldades de vária ordem, e, entre elas:

- o problema, já focado, dos ajustamentos de pH em soluções não tamponizadas,
- o arrastamento de ferro (III) na extracção (para acetato de etilo, por exemplo),
- o arrastamento de urânio (VI) na precipitação pelo carbonato.

Por outro lado, conquanto nenhum dos autores que usam a piridina refira qualquer efeito prejudicial deste composto no seio do sistema, Rodden [9] cita-o como agente complexante do ião uranilo. Não vimos nos trabalhos descritos comparação alguma entre a estabilidade do complexo de uranilo e piridina e o de uranilo e dibenzoilmetano; assim, nada nos garante que a cor corresponda sempre ao mesmo complexo — podendo mesmo estabelecer-se um equilíbrio entre mais do que um, capaz de variar de amostra para amostra consoante as condições da sua formação.

Parece-nos óbvio que em qualquer determinação colorimétrica ou espectrofotométrica haverá toda a vantagem em reduzir ao mínimo

o número de componentes do sistema químico — o que torna mais fácil o seu estudo — e, dentro deste ponto de vista, procurámos um método em que se pudesse prescindir da piridina. Criámos então por adição de ácido azótico diluído — uma vez que analisávamos os elementos na forma de azotatos — as condições de pH necessárias para impedir a precipitação de hidróxidos antes da adição do reagente cromogénico.

Verificámos nós que o complexo de ferro (III) e dibenzoilmetano, mesmo em presença do ião urânio, precipita, em meio hidro-alcoólico, após um repouso de quarenta e oito a setenta e duas horas, quantitativamente e sem arrastamento de urânio. Dada a estabilidade do complexo urânio-dibenzoilmetano, a leitura da densidade óptica do líquido filtrado depois da precipitação do ferro, permite-nos determinar o urânico presente.

A extracção ou os tratamentos químicos preliminares tornam-se dispensáveis, o que elimina as causas de erro que em si mesmas representam aquelas operações. Destroi-se a mais importante intereferência, a do ferro, cujo complexo com o dibenzoilmetano absorve na mesma zona de comprimentos de onda que o de urânio, e que no nosso caso é realmente significativa pela presença quase constante daquele elemento nas águas.

Há que pensar, sem dúvida, nos restantes iões interferentes; a sua acção, porém, é extremamente enfraquecida se se fixar um comprimento de onda de 410  $m\mu$  para as leituras de absorbância, zona em que a absorção do zircónio e do háfnio pode considerar-se desprezável<sup>(2)</sup>. Por seu lado, o cobre, formando um complexo verde azulado, não prejudica igualmente as leituras a 410  $m\mu$ .

O único ajustamento de pH requerido far-se-ia directamente no filtrado, e, para maior simplicidade, substituímo-lo pela construção de curvas de variação da absorbância em função do pH, apenas com um número limitado de pontos para cada amostra.

## II — MÉTODO EXPERIMENTAL

### 1 — Aparelhos e reagentes

As leituras de absorbância fizeram-se num espectrofótopmetro Beckman, modelo DU, munido de fotomultiplicador, em tinas de Corex de 1 cm; trabalhou-se na posição 2 de sensibilidade e introduziu-se a correcção devida às tinas.

---

(<sup>2</sup>) Não se estudou a intereferência do tório; a literatura consultada, porém, é unânime em afirmar que a 410  $m\mu$  fica praticamente anulada para concentrações de tório da mesma ordem de grandeza que as de urânio, e numa larga gama de valores da densidade óptica.

Os valores de pH determinaram-se com um pehâmetro Metrohm, modelo E-150-A, calibrado com solutos tampão 7 Metrohm e Tamm, e tampão 4 Beckman, verificado e corrigido por meio dum pehâmetro Beckman modelo G.

Para a preparação das soluções dos reagentes e das soluções de leitura usou-se água tridestilada em presença de barita e permanganato de potássio, recebida e conservada fora do contacto com o anidrido carbónico do ar, em vasos de polietileno para prevenir o aumento de pH que se verifica ao fim de um contacto prolongado com o vidro.

Empregou-se azotato de uranilo Analar, p.a., e nitrato férrico p.a. Merck, dissolvendo-se o primeiro em água tridestilada e o segundo em ácido azótico 0,01 N, diluindo-se depois com água o padrão inicial.

O reagente cromogénico, Fluka A. G. Buchs S. G., foi dissolvido em álcool absoluto I. P. L.

A solução de amónia empregada nos ajustamentos de pH preparou-se da forma seguinte:

- levou-se à ebulição durante 3 minutos amónia concentrada de densidade  $d = 0,925$ ; para balão marcado de 500 ml mediu-se  $1 \text{ cm}^3$  da amónia recém-fervida e completou-se o volume com água tridestilada; agitou-se e passou-se rapidamente para um frasco de polietileno munido de torneira e de insuflador de ar isento de anidrido carbónico. Obtiveram-se, nas várias preparações, soluções com um pH oscilando entre 9,5 e 10,5.

## 2 — Prática

Para um Erlenmeyer de rolha esmerilada medem-se 5,6 ml de álcool absoluto, 2,2 ml de solução aquosa da amostra, cujo pH deve conservar-se entre 2,5 e 4,5, e 0,2 ml de uma solução de dibenzoilmetano a 1 % em álcool absoluto. Agita-se e deixa-se repousar durante 72 H.

Passado esse intervalo de tempo, filtra-se, usando filtro médio previamente lavado com álcool e seco. Desprezam-se os 2 ml iniciais do filtrado e tomam-se 4 ml do restante para balão marcado de 10 ml, contendo já 2,8 ml de álcool e 1,2 ml de água. Perfaz-se o volume com água, agita-se e deixa-se repousar durante 1 H. Fazem-se então as leituras do pH e da densidade óptica.

Nas mesmas condições, preparam-se outras soluções a que se adicionam, nos balões marcados de 10 ml, volumes conhecidos de amónia, variando de 0,05 a 0,2 ml, perfazendo-se finalmente com água tridestilada.

Ao longo do processo acompanha-se a preparação das amostras com a de um branco para as leituras de densidade óptica, seguindo-se os

mesmos passos, mas partindo-se de uma solução azótica, de pH vizinho do da amostra.

Realizadas as leituras, fazem-se entrar os valores da absorbância num gráfico representativo da função  $D=f(c)$  — sendo  $c$  a concentração em urânio (VI) —, construído a partir de soluções de concentração conhecida e com valores comparáveis de pH.

### 3 — *Estudo das condições experimentais*

#### 3.1 — *Efeito da concentração alcoólica*

Segundo Yoe o aumento da concentração alcoólica do meio não afecta a formação da cor, contribuindo até para uma maior estabilidade do sistema. Decidimos porém usar uma concentração média, suficiente para a solubilização do complexo e que permitisse variar substancialmente a composição dos solutos para análise. Adoptámos a de 56 % em álcool, já anteriormente recomendada por aquele autor, e que verificámos satisfazer a ambas as condições enunciadas.

#### 3.2 — *Efeito do pH*

Começámos por seguir a par e passo o processo estabelecido por Yoe quando se iniciou o estudo da aplicação do dibenzoilmetano no doseamento do urânio e verificámos, simultâneamente, a grande sensibilidade da reacção e a sua estreita dependência das condições de acidez do meio, cujas variações, mesmo as mais leves, arrastam alterações consideráveis nos valores da densidade óptica.

Às dificuldades experimentadas ao tentar-se acertar o pH do meio nos valores óptimos para a formação do complexo vinham somar-se ainda outras, resultantes da precária homogeneização das soluções a que se adicionava, gota a gota, o ácido ou a base convenientes. As causas de erro eram em grande número — perdas de solução, por aderência ao eléctrodo e ao vaso de medida do pH e por evaporação durante o ajustamento em vaso aberto; homogeneização difícil correspondendo a valores locais de pH, erróneos, portanto, em relação à totalidade do soluto; condições diferentes de amostra para amostra consoante o tempo de manipulação, etc. — e o problema da sua eliminação imediatamente se pôs com grande acuidade.

Tentámos estabilizar por tamponização o pH das soluções, e, seguindo o método de Francois, fizémos desenvolver a cor em meio aquo-acetónico em presença de piridina.



Os resultados foram, sem dúvida, muito mais reprodutíveis. O complexo ferro (III)-dibenzoilmetano, porém, que verificáramos ser marcadamente insolúvel no meio hidroalcoólico, precipitando quantitativamente<sup>(3)</sup>, apresentava uma solubilidade perfeita em relação ao meio agora usado, o que implicava a necessidade da sua eliminação prévia e nos levou a abandonar o processo.

QUADRO I

Soluções	VALORES DE DENSIDADE ÓPTICA PARA VÁRIOS Cs. D. O.											
	m $\mu$ 375	m $\mu$ 380	m $\mu$ 385	m $\mu$ 390	m $\mu$ 395	m $\mu$ 400	m $\mu$ 405	m $\mu$ 410	m $\mu$ 420	m $\mu$ 440	m $\mu$ 460	m $\mu$ 480
Fe (III) c. branco	0,080-	0,110	0,105+	0,125	0,135	0,119	0,113	0,112	0,100	0,082	0,067	0,065
Fe (III) filtrado c. branco	0	0	0	0	0,007	0,009	0,009	0,008	0,008	0,007	0,007	0,005

Os valores positivos de D correspondem a diferenças entre o branco contra o qual se mediu e o que teria a conc. de dibenzoilmetano da solução e o pH desta.

Concentração inicial de ferro (III) — 5 p. p. m.

Experimentámos também um tampão de citrato; foi do mesmo modo posto de parte, uma vez que a presença daquele anião vinha produzir interferência, impedindo o desenvolvimento da cor.

Decidimos então seguir por caminho diferente e construir, para cada soluto contendo uma concentração conhecida de urânio, uma curva de titulação. Feito isso, fácil se tornaria determinar o volume exacto de ácido ou de base a adicionar em cada caso<sup>(4)</sup>.

Ao mesmo tempo, e com vista a eliminar o primeiro — e mais difícil — dos ajustamentos de pH, construímos um gráfico da variação da absorbância com o pH<sup>(5)</sup>, que nos deu uma curva concordante com a anteriormente obtida por Adams, de cuja análise se deduz, obviamente, a possibilidade de realizar a complexação na zona ácida, obtendo-se mais tarde a intensidade máxima da cor na zona neutra. Concretizando, podemos dizer que o completo desenvolvimento da cor

<sup>(3)</sup> Quadro 1.

<sup>(4)</sup> Gráfico 2.

<sup>(5)</sup> Gráfico 3.

depende apenas do pH final e não é afectado pelo valor do pH a que se faz a adição do reagente.

Afastada a primeira dificuldade, procurámos obviar à segunda. Inicialmente, como foi dito, construímos, para cada caso particular, uma curva de titulação com um pequeno número de pontos, correspon-

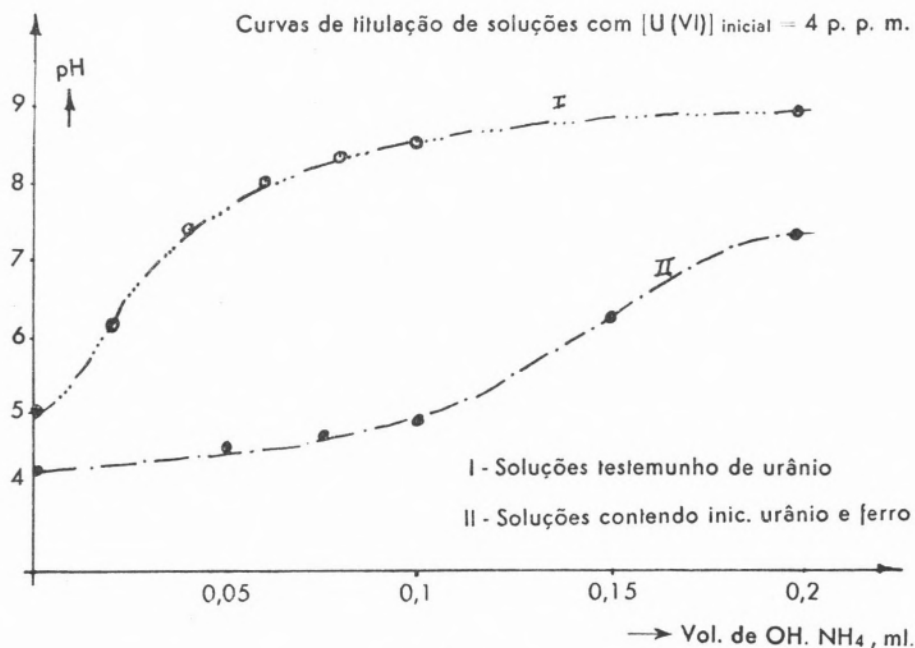


GRÁFICO 2

dentes a volumes bem definidos de base, variáveis de ponto para ponto em intervalos regulares, e cujos valores se calcularam a partir do pH medido em soluções análogas, mas a que se não adicionara qualquer reagente <sup>(6)</sup>.

A construção destas curvas, de crescimento muito rápido justamente na zona de pH que nos convinha, não pareceu ainda a solução mais satisfatória; substituímo-las pois por gráficos da variação de D com o pH, eliminando uma comparação de valores correspondentes a meios de acidez diferente, possível, neste caso, uma vez que os erros de medida da solução de base eram suficientes para produzir alterações consideráveis no pH.

<sup>(6)</sup> Gráfico 2.

As curvas representativas da função  $D=f(\text{pH})$  (7) permitiram calcular a região de pH para a qual a função apresenta um patamar de declive mínimo, onde os valores de D das várias soluções podem considerar-se comparáveis.

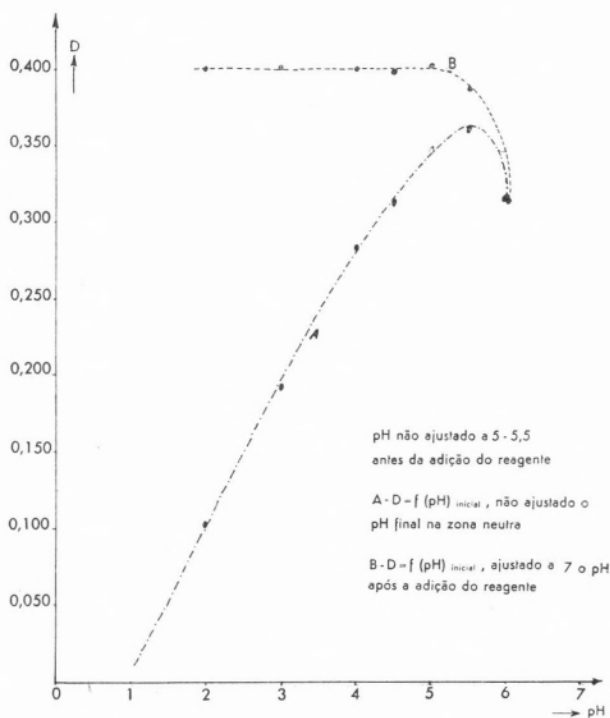


GRÁFICO 3 - Curva obtida por ADAMS, que confirmámos no Laboratório. Chama-se pH inicial ao pH da amostra antes da adição do reagente cromogénico

### 3.3 — Precipitação do ferro

Nos primeiros ensaios estudámos a acção do dibenzoilmetano sobre o urânio, e, separadamente, sobre o ferro, solubilizados os elementos na forma de nitratos.

Pretendíamos estabelecer as diferentes faixas de absorção, com o fim de fixarmos o comprimento de onda óptimo para as determinações de densidade óptica do complexo de urânio.

(7) Quadro 2; Gráfico 4.

QUADRO II

$D = f(pH)$ , para  $[U(VI)] = 4 \text{ p. p. m.}$

pH	D
4,20	0,145
4,50	0,190
4,80	0,205
5,00	0,205+
5,10	0,212
6,00	0,242
5,25	0,250
6,50	0,255-
6,55	0,255
7,45	0,262
7,60	0,264
8,00	0,265
8,05	0,265
8,30	0,265
8,40	0,265
8,60	0,264

O espectro do complexo de urânio facilmente se traçou, com valores de D dentro de uma margem de erro perfeitamente admissível. Ao estudarmos, porém, as soluções de ferro e de ferro+urânio, a grande instabilidade dos valores da densidade óptica — que só nos foi possível medir instantaneamente após a preparação dos solutos-amostra <sup>(8)</sup> — levou-nos a crer que se dava um processo químico de velocidade razoável, e decidimos deixar repousar o sistema até que se houvesse estabelecido o equilíbrio.

Medidas as absorvâncias das soluções ferro (III)-dibenzoilmetano, após um repouso de 72 H e decantação do líquido, contra um branco do reagente, verificámos que a precipitação se dera quantitativamente; i.e., em relação ao branco, e numa zona de fraca absorção deste, observámos valores nulos para a densidade óptica da amostra, do que se conclui a total precipitação do ferro, confirmada por repetidos ensaios com concentrações variáveis <sup>(9)</sup>.

<sup>(8)</sup> Gráfico 5.

<sup>(9)</sup> Quadro 1.

No que respeita às soluções de ferro + urânio, deparámos com grandes anomalias nas medidas de absorbância dos líquidos decantados, ao compará-las com as de testemunhos de urânio em concentrações idênticas às das amostras misturas.

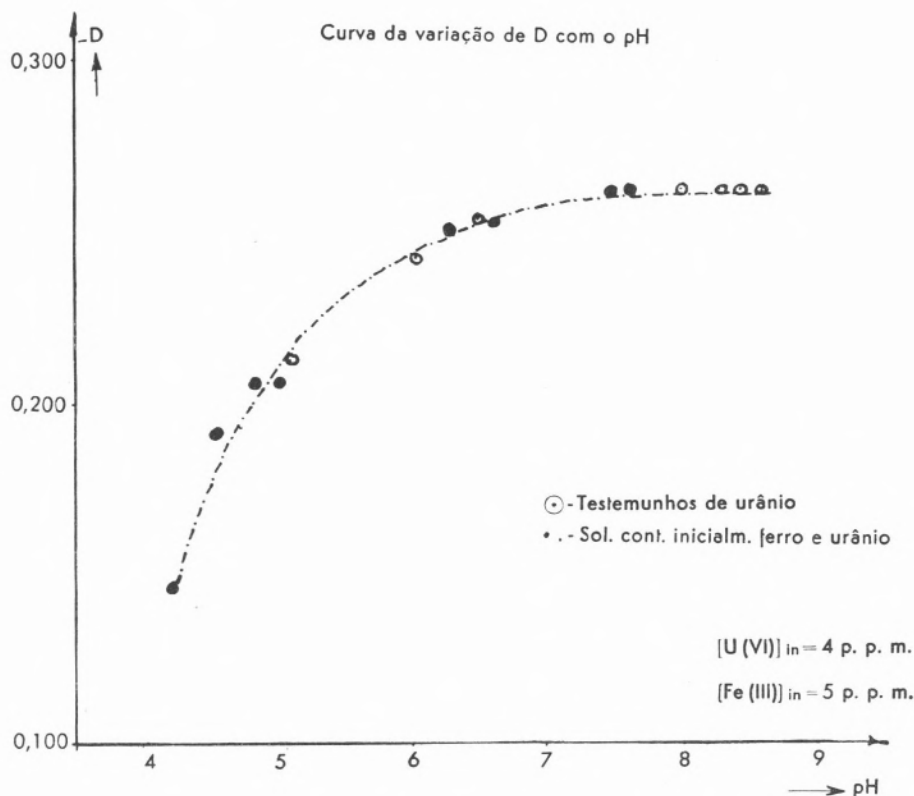
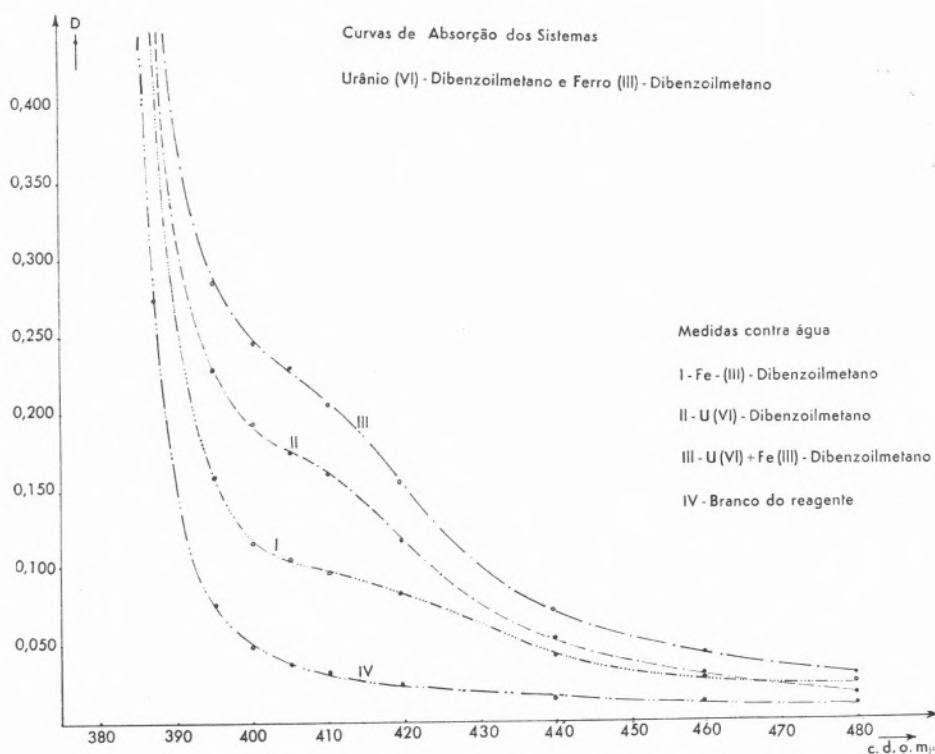


GRÁFICO 4

Impunha-se verificar se o arrastamento de urânio na precipitação do complexo de ferro, que a diminuição de absorbância, em princípio, inculcava, se dava realmente, e, nesse caso, qual seria a sua natureza — se um arrastamento puramente mecânico, se uma sincristalização, então em percentagem fixa e bem defenida.

As características do precipitado — que vimos ao microscópio ser constituído por cristais alongados de intensa cor de laranja — pareciam pôr de parte a hipótese do arrastamento mecânico, mais de admitir com um coloide ou com um precipitado flocozento; por outro lado, o decréscimo dos valores de D, variando consideravelmente em soluções



com as mesmas concentrações iniciais de urânio e de ferro, fazia com que a hipótese da sincristalização parecesse carecer de viabilidade.

Iniciámos então um estudo sistemático dos líquidos remanescentes da precipitação do ferro, tendo principalmente em conta as diferenças de absorbância em relação aos testemunhos de urânio e em função das alterações de pH.

Como o padrão inicial de azotato férrico se achava solubilizado em ácido azótico 0,01 N, a adição da solução de ferro à de ião uranilo fazia diminuir bastante o pH do meio. Ora, como dissémos, uma variação do pH traz, concomitantemente, um acréscimo de  $D$ , que verificámos ser do mesmo sinal. Ao estabelecermos as curvas representativas da função  $D=f(\text{pH})$  para os líquidos remanescentes, observámos que as suas absorbâncias, a valores de pH da mesma ordem de grandeza, podiam considerar-se comparáveis às dos testemunhos, com diferenças que, em todos os casos, vieram a cair dentro do limite dos erros experimentais <sup>(10)</sup>.

<sup>(10)</sup> Quadro 3.

QUADRO III

Soluções	URÂNIO		URÂNIO + FERRO	
	D	pH	D	pH
1 0,2 p. p. m.	$0,024 \pm 0,001$	$6,30 \leq \text{pH} \leq 6,85$	$0,025 \pm 0,000$	$6,40 \leq \text{pH} \leq 6,70$
2 0,5 p. p. m.	$0,036 \pm 0,002$	$7,25 \leq \text{pH} \leq 8,20$	$0,036 \pm 0,001$	$7,00 \leq \text{pH} \leq 8,70$
3 2 p. p. m.	$0,122 \pm 0,002$	$8,00 \leq \text{pH} \leq 8,80$	$0,120 \pm 0,000$	6,50
4 4 p. p. m.	$0,260 \pm 0,004$	$7,30 \leq \text{pH} \leq 7,90$	$0,259 \pm 0,007$	$6,50 \leq \text{pH} \leq 7,60$
5 6 p. p. m.	$0,381 \pm 0,000$	$7,10 \leq \text{pH} \leq 8,10$	$0,381 \pm 0,001$	$7,35 \leq \text{pH} \leq 8,00$

Podemos portanto afirmar que a precipitação do complexo de ferro (III) e dibenzoilmetano, em meio hidro-alcoólico, se dá sem arrastamento de urânio, e que é possível dosar este elemento no líquido sobrenadante, medindo directamente a sua absorbância a um comprimento de onda de 410 m $\mu$  <sup>(11)</sup>.

Além disso, é ainda lícito acrescentar que o fenómeno se passa de maneira análoga sobre uma larga gama de concentrações de urânio e ferro—[Fe (III)]/[U (VI)] variando de 25:1 a 5:6, em p. p. m.—desde que a quantidade presente de reagente colorimétrico possa considerar-se em excesso sobre a concentração total dos iões <sup>(12)</sup>.

<sup>(11)</sup> Quadro 3.

<sup>(12)</sup> Quadro 4.

QUADRO IV

Soluções	CONCENTRAÇÕES INICIAIS DOS CATIONES				RAZÕES ENTRE [Fe(III)] e [U(VI)]		Excesso da massa de (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> UO <sub>2</sub> , 9 OH <sub>2</sub> sobre a de (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> UO <sub>2</sub> , 6 OH <sub>2</sub>	Excesso da massa de (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> UO <sub>2</sub> , 6 OH <sub>2</sub> sobre a de (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Fe, 9 OH <sub>2</sub>	Excesso do número de íons Fe (III) sobre o dos de U (VI)
	URÂNIO		FERRO		Em p. p. m.	Em íões — — g/litro			
	Em p. p. m.	Em íões — — g/litro	Em p. p. m.	Em íões — — g/litro					
1	0,2	$3,98 \times 10^{-7}$	↓	↓	25:1	30,90:1	92,50 %	—	93,72 %
2	0,5	$9,74 \times 10^{-7}$	↓	↓	10:1	12,70:1	81,98 %	—	93,16 %
3	2,0	$3,98 \times 10^{-6}$	5,0	$1,23 \times 10^{-5}$	5:2	3,10:1	42,84 %	—	51,20 %
4	4,0	$7,76 \times 10^{-6}$	↓	↓	5:4	1,60:1	11,10 %	—	23,06 %
5	6,0	$1,19 \times 10^{-5}$	↓	↓	5:6	1,03:1	—	9,08 %	1,46 %



3.4 — *Verificação da Lei de Beer-Lambert*

As soluções do complexo de uranilo e dibenzoilmetano comportam-se, dentro da zona de concentrações em que trabalhámos, estritamente de acordo com a lei de Beer-Lambert<sup>(13)</sup>.

As medidas de absorbância não se fizeram contra um branco dos reagentes mas sim contra água, visto que, sendo as soluções de mais baixa concentração muito pouco coradas, se considerou vantajoso aumentar tanto quanto possível a diferença entre a absorbância do branco e a da amostra, o que nos fez abandonar o branco do reagente, não completamente incolor para o comprimento de onda usado.

Construímos uma curva de absorção do reagente, que mostramos em comparação com as dos complexos no gráfico 7, e determinámos a sua absorbância a 410 m $\mu$ . No mesmo gráfico podem observar-se as curvas de absorção do complexo de urânio, considerando como ordenadas as diferenças entre os valores de D do complexo e do branco, e a curva teórica correspondente.

Do gráfico 6<sub>A</sub>, onde também figuram como ordenadas aquelas diferenças, do mesmo modo se conclui a observância da Lei de Beer-Lambert.

3.5 — *Sensibilidade*

A sensibilidade espectrofotométrica duma reacção é dada, segundo Sandell [10], pelo acréscimo de elemento a medir que é capaz de produzir uma variação de 0,001 no valor da densidade óptica da solução. Este acréscimo vem dado, geralmente, em miligramas ou em gamas por cm<sup>2</sup>.

Se uma variação  $\Delta c$  de concentração, expressa, p. e., em mg/1, arrasta uma variação  $\Delta D$  da densidade óptica, temos que, designando por  $S_1$  o acréscimo para o qual  $\Delta D_1 = 0,001$ , vem

$$S_1 = \frac{\Delta c}{\Delta D} \times 10^{-3} \text{ mg/1.}$$

Ora, a quantidade  $S_1$  de substância existe em 1000 cm<sup>3</sup>, e, se usarmos tinas de 1 cm<sup>2</sup> de secção e altura  $h$ , teremos, para cada tina,

$$S_1' = \frac{\Delta c}{\Delta D} \times \frac{h}{1000} \gamma.$$

<sup>(13)</sup> A concentração em urânio (VI) manteve-se sempre inferior a  $2,5 \times 10^{-5}$  ócs-g/litro. Quadro 3; Gráficos 6 e 6 A.

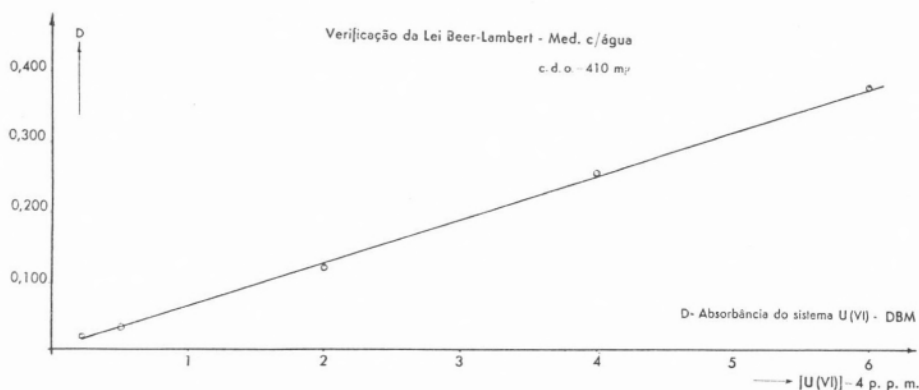


GRÁFICO 6

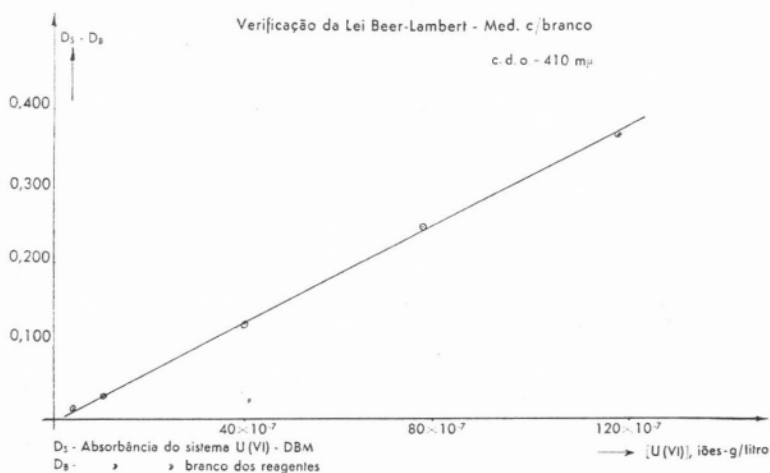


GRÁFICO 6A

Como se trata de soluções, podemos admitir que, em todo o volume, há uma distribuição homogênea do dissolvido, e, assim, em cada secção atravessada pelo feixe luminoso, teremos, sendo  $\bar{s}$  a sensibilidade média num intervalo,

$$\bar{s} = \frac{\Delta c}{\Delta D} \times \frac{h}{1000} \times \frac{1}{h} = \frac{\Delta c}{\Delta D} \times 10^{-3} \gamma / \text{cm}^2 .$$

No nosso caso podemos dizer que a sensibilidade da reacção é de 0,016  $\gamma / \text{cm}^2$ , e que diminui para as mais baixas concentrações, chegando a 0,025  $\gamma / \text{cm}^2$ .

Se analisarmos comparativamente os gráficos 7, 8 e 9, fácil será notar que o método ensaiado oferece, a 410 m $\mu$ , diferenças de densidade óptica entre o complexo e o branco dos reagentes consideravelmente superiores às que se obtiveram tanto no método inicialmente estabelecido por Yoe como quando se utilizaram soluções acetônicas em presença de piridina, o que assegura uma maior sensibilidade. Considerando ainda que as curvas do gráfico 7 se referem a soluções com uma concentração em urânio inferior à das que forneceram os gráficos 8 e 9, fica fora de dúvida a diferença de sensibilidade que apontamos (14).

QUADRO V

	DIFERENÇAS DE ABSORBÂNCIA ENTRE O SISTEMA U (VI) - dbm E O BRANCO	
	Leituras contra água	Leituras contra branco
Método de Yoe ... ..	$d_B = 0,190$	$d'_B = 0,170$
Sol. c/ piridina ... ..	$d_A = 0,220$	$d'_A = 0,270$
Método em estudo ... ..	$d = 0,620$	$d' = 0,605$
Acréscimos das diferenças ...	$d - d_A = 0,400$	$d' - d'_A = 0,335$
	$d - d_B = 0,430$	$d' - d'_B = 0,435$
Razões entre as diferenças ...	$d/d_A = 2,81$	$d'/d'_A = 2,21$
	$d/d_B = 2,26$	$d'/d'_B = 3,56$

### 3.6 — *Exactidão*

Na aplicação do método que propomos há que considerar três classes de erros:

- a) os erros cometidos na preparação dos solutos padrões,
- b) os erros de medida nas soluções para leitura, e
- c) os próprios erros da leitura.

(14) Quadro 5.

Começámos por determinar os últimos e verificámos que, para qualquer comprimento de onda, uma média de três leituras nos fornece valores cujo erro se conserva dentro da margem aceitável do erro de leitura próprio do aparelho.

Em segundo lugar, e porque, havendo que medir para cada solução diversos reagentes, a determinação analítica do valor dos erros seria extremamente difícil, dada a variedade dos factores de dependência, procedemos à preparação de séries de solução em condições rigorosamente análogas e, realizando a leitura das respectivas absorvâncias, calculámos os erros de que vinham afectadas. Pudemos assim estabelecer o número de ensaios a realizar para que o valor do erro se conservasse dentro da margem admissível.

Finalmente, verificámos, procedendo como anteriormente, mas partindo de soluções obtidas de padrões diferentes, que o erro de preparação destes não vinha afectar as medidas, mantendo-se dentro dos limites dos erros experimentais que mencionámos.

O erro de leitura no espectrofotómetro apresenta o valor máximo de 2 % em medidas de absorvância para os valores mais baixos, diminuindo rapidamente quando a densidade óptica aumenta. Estabelecemos como limite superior dos erros experimentais 2,5 % em valores de D até 0,100, diminuindo para 2 % de 0,100 a 0,200 e ainda para 1 % nos valores maiores, o que traz, em concentração, erros inferiores a 1,25 %.

A preparação de três soluções de ensaio contendo inicialmente ferro e de duas para os testemunhos correspondentes de urânio verificou-se ser, em geral, suficiente: nos testemunhos obteve-se um erro máximo de 3,3 % e nas soluções contendo ferro não ultrapassou 2,5 %.

Além disso, as diferenças observadas entre os valores de D das soluções contendo inicialmente ferro e dos testemunhos caíram sempre dentro dos limites dos erros experimentais.

Ao ensaiarmos o método estabelecido por Yoe, encontrámos, a 410 m $\mu$ , desvios consideravelmente maiores e erros relativos fora da margem que considerámos aceitável. Observando cuidadosamente os resultados verificámos que esses grandes desvios correspondiam a duas séries de valores obtidas em ocasiões diversas; em cada grupo os erros mantinham-se entre limites mais estreitos, que ultrapassavam, todavia, os estabelecidos. Para os mesmos valores de concentração, o erro a que conduz este método, ainda que consideremos apenas os valores de cada grupo é 10 a 15 vezes superior ao que se obteve pelo processo em estudo. Podem explicar-se estas diferenças nas absorvâncias de soluções não preparadas ao mesmo tempo por variações de pH, já que a precária homogeneização torna difícil uma determinação exacta.

Nas soluções acetónicas tamponizadas pela piridina, conquanto se não observem tão grandes anomalias, verificam-se erros da ordem dos 3,3 % em medidas de absorbância feitas contra um branco dos reagentes, para uma zona onde o erro admissível não ia além de 2,5 %. Para concentrações da mesma ordem de grandeza obtivemos um erro máximo de 1,48 %.

Podemos, pois, dizer que é possível dosear soluções com concentrações de 0,5 p. p. m. com uma aproximação média de 99 %, que vai até 99,45 % para 6 p. p. m. <sup>(15)</sup>.

#### 4 — *Aplicação ao estudo das águas*

Depois de terminado o estudo do método e verificadas as condições da sua aplicação, decidimos ensaiá-lo com o resíduo da evaporação de uma amostra de água do Tejo, solubilizado em ácido azótico e diluído com água.

Tratava-se de uma amostra, colhida apenas com o fim de se experimentarem alguns métodos de tratamento. Verificámos que, eliminada a matéria orgânica e os sais insolúveis no álcool, tal como nas soluções puras anteriormente preparadas, a precipitação do ferro se dá quando se atingem as condições de pH descritas.

O urânio não foi encontrado, o que era de esperar dado que se partiu de 17 l de água, e as análises realizadas em águas de diversos reservatórios naturais — rios e lagos — dão concentrações médias de 2 a 100 mg/m<sup>3</sup> [5]; satisfez-nos porém verificar que o processo da eliminação do ferro precipitando-o pelo próprio reagente colorimétrico se reproduz em soluções de tipo análogo ao das que nos vão servir como amostras, permitindo limitar o número de componentes do sistema químico.

### III — *CONCLUSÕES*

É curioso notar um pormenor que ressalta da análise dos gráficos 7, 8 e 9: tanto no método de Yoe como no que utilizámos o andamento das curvas de absorção é muito semelhante, ficando a das leituras contra o branco paralela à das que se realizam contra água a partir de certa altura, correspondendo nitidamente a uma diferença entre a densidade óptica do sistema, e a absorbância, praticamente constante, do branco dos reagentes. Nas soluções em que interveio a piridina, porém, a curva de absorção contra o branco — do qual, em-

<sup>(15)</sup> Quadro 6.

QUADRO VI

Conc. Calcul.	SOLUÇÕES — U (VI) + Fe (III)					TESTEMUNHOS — U (VI)				
	D	$\epsilon_D$	C	$d_c$	$\epsilon_c$	D	$\epsilon_D$	C	$d_c$	$\epsilon_c$
0,2 p. p. m.	0,016		0,210			0,016		0,210		
	0,016	2,50%	0,210	0,011	—	0,017	3,03%	0,212	0,011	—
	0,017		0,212							
0,5 p. p. m.	0,032		0,500			0,032		0,500		
	0,033	1,33%	0,509	0,009	0,60%	0,034	3,30%	0,510	0,005	1,00%
	0,032		0,500							
2 p. p. m.	0,126		1,925			0,134		2,025		
	0,132	2,00%	2,000	0,025	1,25%	0,130	1,51%	1,975	0,016	0,80%
	0,132		2,000			0,132		2,000		
4 p. p. m.	0,263		4,050			0,259		4,000		
	0,255	1,26%	4,040	0,043	1,07%	0,264	1,19%	4,055	0,032	0,79%
	0,262		4,040			0,255		3,940		
6 p. p. m.	0,380		5,960			0,380		5,950		
	0,380	0,28%	5,960	0,020	0,33%	0,383	0,21%	6,000	0,033	0,55%
	0,382		5,980			0,382		5,980		

$\epsilon_D$  — Erro relativo nas leituras de D.

$d_c$  — Desvios das conc. encontradas.

$\epsilon_c$  — Erro relativo das conc. encontradas.

Conc. Calc. — Concentrações calculadas a partir dos padrões.

bora apresentando absorvência superior se obteve um espectro análogo aos anteriores — aparta-se totalmente da hipótese de uma curva de diferenças, uma vez que corre numa zona bastante larga sobre a das leituras contra água, intersectando-a em dois pontos. Devemos, portanto, encontrar-nos em presença de um composto diferente — não se

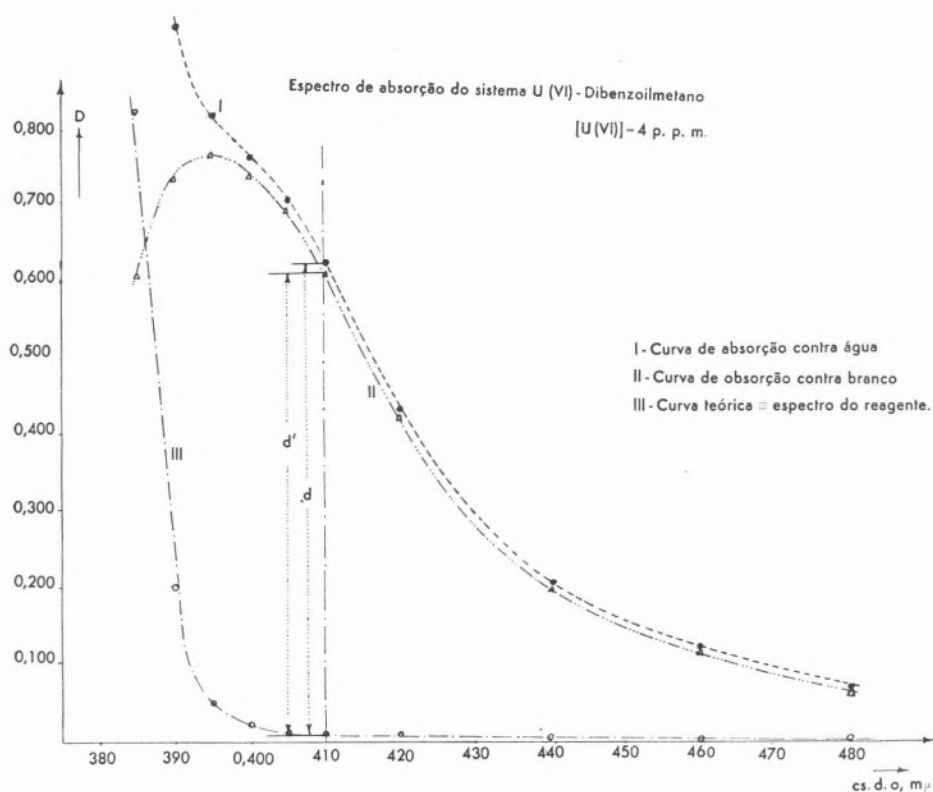


GRÁFICO 7

podendo atribuir apenas à absorção da piridina a alteração observada —, o que, de certo modo, vem ao encontro das hipóteses que inicialmente pusémos e justifica a nossa relutância em introduzir no sistema novos componentes, nomeadamente aqueles que sabemos terem uma acção complexante sobre o ião uranilo.

Além disso, a sensibilidade não é de modo algum afectada — antes permanecendo superior à de algumas variantes até aqui aplicadas — e a exactidão parece-nos satisfatória.

Restam em aberto algumas questões cuja importância não podemos menosprezar — o estudo sistemático de outras interferências, <sup>(16)</sup>

<sup>(16)</sup> Ensaámos a aplicação do método a sais de níquel, cobalto, crómio e cobre, conservando a conc. dos catiões idêntica à conc. máxima de uranilo. Encontrámos, a 410 m $\mu$ , densidades ópticas suficientemente baixas para poderem considerar-se dentro dos erros experimentais. Nas nossas condições não observámos mesmo a formação do complexo violeta de crómio(III) mencionado por Blanquet; o tório e o vanádio não foram estudados; os restantes catiões mais comuns verificámos não produzirem qualquer interferência.





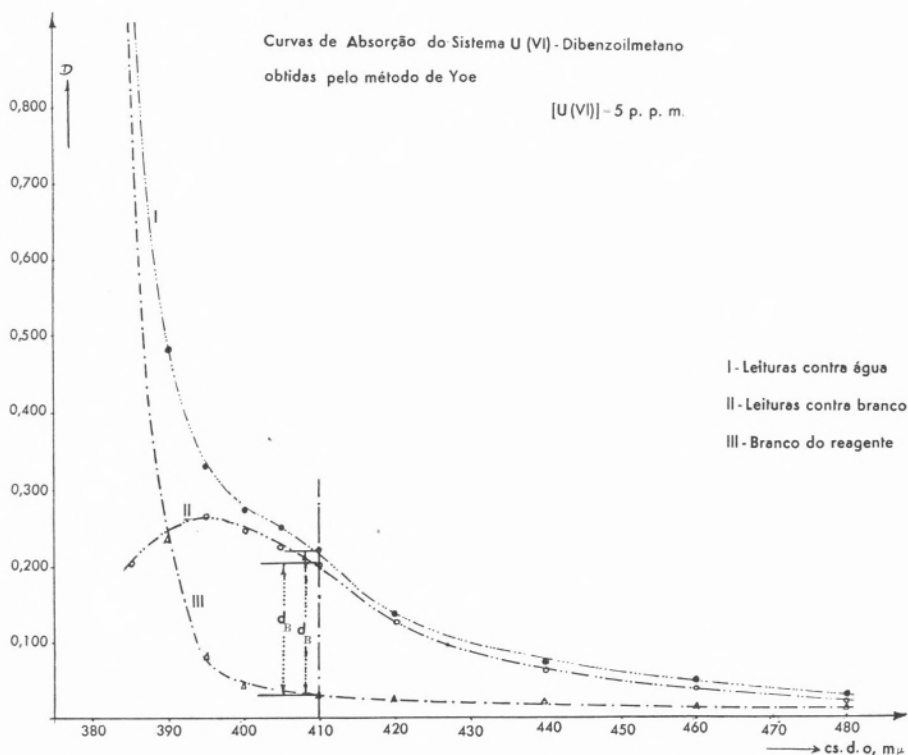


GRÁFICO 9

## AGRADECIMENTO

Este trabalho foi realizado no Centro de Estudos de Radioquímica de Lisboa (C. E. E. N.).

Cumpre-nos agradecer a esclarecida orientação e o incitamento da Ex.<sup>ma</sup> Senhora Professora Doutora D. Branca Edmée Marques, e, ao mesmo tempo, o haver-nos proposto este tema de estudo.

Ao colega Gualter Soares agradecemos a colaboração que prestou ao nosso trabalho.

## RESUMO

Aplicou-se o método de doseamento do urânio pelo dibenzoilmetano, em presença do ferro, e procurou-se estabelecer as condições de pH que tornam possível a determinação, sem se recorrer à eliminação prévia daquela importante interferência.

Aproveitou-se a estabilidade do complexo urânio (VI)-dibenzoilmetano, conjugando esse facto com a precipitação do ferro, que se apurou ser quantitativa e dar-se dentro de um intervalo de tempo não superior a 72 H.

#### SOMMAIRE

Nous avons fait une étude systématique de la réaction du dibenzoylméthane avec l'ion urany en présence de l'ion ferrique. Le complexe du réactif avec le fer(III) précipite d'une manière quantitative, tandis que le complexe de l'uranium est soluble et notablement stable. Ces observations nous ont permis d'établir une méthode spectrophotométrique de dosage de traces de l'uranium en présence du fer. Dans l'article nous décrivons cette méthode et nous nous réservons de l'appliquer à quelques eaux naturelles, plus spécialement à l'eau du «Tejo».

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] ADAMS, J. A. S. e MAECK, W. J., *Anal. Chem.*, **26**, 1635 (1954).
- [2] BLANQUET, P., *Anal. Chim. Acta*, **16**, 44 (1957).
- [3] FRANCOIS, C. A., *Anal. Chem.*, **30**, 51 (1958).
- [4] HORTON, C. A. e WHITE, J. C., *Anal. Chem.*, **30**, 1779 (1958).
- [5] LASKORIN, B. N., METALNIKOV, S. S. e TERENTIEV A. S., *Second U.N. Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy A/Conf.*, **15**, pág. 2063 (USSR, 1958).
- [6] MAECK, W. J., BOOMAN, G. L., ELLIOT, M. C. e REIN, J. E., *Anal. Chem.*, **30**, 1902 (1958).
- [7] IBID., *Anal. Chem.*, **31**, 1131 (1959).
- [8] PRIBIL, R. e JELÍNEK, M., *Chem. Listy*, **47**, 1326 (1953).
- [9] RODDEN, *Analytical Chemistry of the Manhattan Project*.
- [10] SANDELL, E. B., *Colorimetric Determination of Traces of Metals*.
- [11] YOE, J. H., WILL, F. e BLACK, R. A., *Anal. Chem.*, **25**, 1200 (1953).

## ALGUNS ASPECTOS DO QUIMISMO BACTERIANO (\*)

MARIA SERPA DOS SANTOS

*Laboratório de Criptogamia da Universidade de Coimbra*

Coimbra - Portugal

A vida das bactérias constitui, indubitavelmente, assunto do mais alto interesse para o bioquímico. Graças à sua extraordinária actividade como agentes de degradação e síntese, — a qual transmuta um minúsculo corpo unicelular em prodigioso laboratório químico —, constituem tais seres um material de estudo verdadeiramente excepcional.

Porque as bactérias são, em geral, fáceis de manejar, pouco dispendiosa a sua manutenção e podem adaptar-se a trabalhos em larga escala, representando, em muitos casos, o único meio satisfatório de análise, a sua aplicação prática é todos os dias crescente, na síntese industrial de variadíssimos produtos, na aferição de produtos tão altamente cotados como as vitaminas, os amino-ácidos, etc., etc.

Da actividade bioquímica das bactérias depende fundamentalmente a vida nos seres superiores, e é com justa razão que elas são consideradas como os mais eficazes agentes de conservação da vida sobre a Terra.

Por outro lado, certo número de espécies bacterianas — muito restrito, aliás, quando comparado com a imensidade das restantes — exercem sobre o homem e animais uma acção nociva que as identifica como temíveis inimigos, os quais há todo o interesse em conhecer o melhor possível.

Há ainda um facto que, não menos do que qualquer outro, dá origem a que as bactérias assumam, perante o bioquímico, uma importância capital: a estreita analogia das manifestações vitais nos seres

---

(\*) Conferência proferida no Núcleo de Coimbra da Sociedade Portuguesa de Química e Física em 28 de Junho de 1957.

uni- e pluri-celulares, nos microorganismos e nas espécies altamente diferenciadas. Há precisamente 10 anos, escreviamos, no prefácio de uma dissertação, as seguintes palavras que nos permitimos transcrever, pois traduzem ainda o nosso pensamento actual:

«Todas as aquisições tendentes a esclarecer os fenómenos de que é sede o organismo unicelular irão constituir preciosos dados para um conhecimento mais perfeito da vida nos seres superiores...», porque «...quer com existência autónoma, quer como elemento constituinte de um todo mais ou menos complexo, a célula viva apresenta-nos, com evidência crescente, uma notável uniformidade no seu funcionamento. Dotada de extrema adaptabilidade, o seu condicionalismo aos factores externos traz, de certo modo, como consequência, a diferenciação mais ou menos pronunciada, a pluralidade. Os processos vitais básicos permanecem, todavia, os mesmos, nos elementos postos em jogo, na sequência, nos resultados».

Sendo assim, compreendem-se bem as vantagens que resultam dos ensaios feitos sobre bactérias, em relação aos animais de laboratório:

- a) Em primeiro lugar, o ritmo acelerado da sua multiplicação — cerca de 20 minutos em condições favoráveis — permite efectuar ensaios metabólicos em pouco tempo, com possível e fácil repetição da experiência;
- b) Graças às suas reduzidas dimensões, podem manejar-se a concentrações muito elevadas;
- c) É possível a repetição do mesmo ensaio em espécies próximas ou afastadas, com determinação do grau de generalização do fenómeno em estudo;
- d) As actividades bioquímicas das bactérias exercem-se num campo extraordinariamente vasto, e atribui-se o grande desenvolvimento actual da Enzimologia ao facto de se utilizar, como material de estudo, os microorganismos, que elaboram milhares de fermentos pertencentes aos mais diversos sistemas;
- e) Finalmente, com as bactérias é possível obter uma geração pura de milhões e milhões de indivíduos, a partir de uma única célula, o que, em Genética, é de um largo alcance.

As bactérias têm sido consideradas como um tipo primitivo de célula. No entanto, sob o ponto de vista fisiológico, estes organismos revelam uma complexidade que excede, em muitos casos a dos seres organizados. Haja em vista o facto de que a grande maioria do compostos orgânicos podem ser oxidados por representantes do grupo das bactérias, ao passo que nenhum outro grupo de organismos revela tal flexibilidade.

Por outro lado, uma mesma espécie bacteriana é susceptível de utilizar os mais variados substractos como fontes de carbono e azoto, o que lhes confere um poder de adaptação ao meio verdadeiramente notável.

Como é possível a um ser microscópico, unicelular, realizar as complexas reacções químicas que pressupõe uma tal amplitude de aptidões?

Graças, naturalmente, ao seu riquíssimo equipamento enzimático, do qual depende toda a actividade vital.

Como se sabe, um sistema enzimático é constituído pela dispesão coloidal de uma proteína em meio líquido. Devido aos grupos polares da estrutura proteica (ligação peptídica  $-CO-NH-$ , carboxilo  $COOH$ , grupo amina  $NH_2$ ) e aos que usualmente estão presentes no substracto, dá-se a fixação deste último sobre o enzima, a qual é seguida de uma «activação» ou deslocamento e reajustamento electrónico, que permite a sequência do processo fermentativo.

De um modo geral, parece poderem considerar-se, nas bactérias, dois tipos fundamentais de processos enzimáticos: a hidrólise, tal como no desdobramento do amido, etc., e um processo de oxido-redução mais complexo, também com intervenção da água.

Já se isolaram das bactérias certo número de biocatalizadores, tais como desidrogenases do tipo piridino-proteínas, flavoproteínas, particularmente a riboflavina, enzimas do tipo ferro-porfirina-proteína, como a citocromo-oxidase, a catalase, peroxidases, hidrogenase, etc. A maior parte dos fermentos elaborados é, porém, de natureza desconhecida e identifica-se apenas pelos seus efeitos.

Como é sabido, a actividade fisiológica de todo o ser vivo engloba duas fases essenciais: uma oxidativa, exotérmica, que fornece à célula a energia de que esta carece; e outra endotérmica de redução e síntese da substância protoplasmática. conjunto das reacções exotérmicas constitui o fenómeno fisiológico da respiração, no seu mais lato sentido, e nele figuram, como elementos principais, as reacções de oxido-redução.

O mecanismo da respiração nas bactérias tem sido largamente estudado, devendo salientar-se os trabalhos de Wieland, Warburg, Meyerhof, Cori, Parnas e tantos outros.

Foram Wieland e Thunberg que, pela primeira vez, evidenciaram a importância da transferência do hidrogénio nas oxidações biológicas: os átomos de hidrogénio dos substractos seriam activados pelas desidrogenases, e, depois, espontaneamente transferidos para um acceptor conveniente.

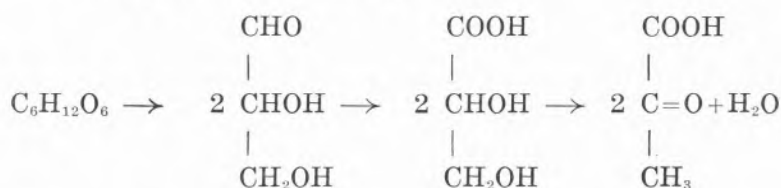
Por outro lado, Warburg demonstrou a possibilidade da activação do oxigénio, graças ao fermento respiratório ou citocromo-oxidase, de forma a aceitar espontaneamente o hidrogénio do substracto.

Assim se constituiu a teoria geralmente aceite segundo a qual as desidrogenases activam o hidrogénio, ao passo que o oxigénio molecular é activado pelo fermento de Warburg, funcionando, depois, como um aceptor de hidrogénio. Este fermento respiratório cataliza a oxidação dos citocromos pelo oxigénio molecular. É claro que o transporte dos electrões se não faz directamente do substracto para o citocromo oxidado. Entre esses dois extremos há toda uma cadeia de oxido-reduções, em que intervêm, muito especialmente as flavoproteínas.

Em anaerobiose, como se sabe, não é utilizado o oxigénio molecular mas sim outros aceptores de electrões. Deste modo, não intervêm no processo os catalizadores de núcleo ferro-porfirina, embora as flavoproteínas possam, ainda aqui, funcionar como transportadores intermédios.

Na grande maioria dos casos, os substractos utilizados pelas bactérias são compostos hidrocarbonados, que, constituem, assim, a fonte principal de energia. A degradação dos glucidos pelas bactérias tem sido objecto de aturada investigação e é conhecida em muitos dos seus aspectos. Desse conhecimento ressalta o facto notável, de que, embora sejam inúmeros os produtos finais obtidos, consante a espécie bacteriana, há uma evidente uniformidade nas primeiras fases da decomposição: Com efeito, a formação do ácido pirúvico é comum a todas as transformações anaeróbias dos glucidos, e pode resumidamente considerar-se como comportando 3 fases:

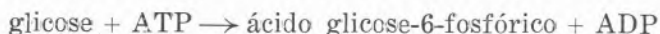
- 1 — Cisão da hexose para triose (gliceraldeido);
- 2 — Oxidação da função aldeido;
- 3 — Finalmente uma oxido-redução interna, que transforma o ácido glicerico em activo pirúvico:



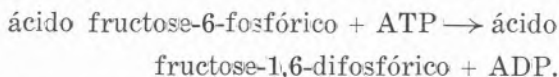
Na realidade o fenómeno é muito mais complicado, e, mau grado a quantidade enorme de trabalhos realizados, não inteiramente conhecido. De um modo geral, as observações estão de acordo com o clássico esquema de Embden-Meyerhof-Parnas, em que há a destacar, sobretudo, a fosforilação da glicose, à custa do ácido adenosino-trifosfórico — ATP, que passa a difosfórico — ADP. Esta reacção é excepcionalmente importante, devido à quantidade de energia libertada por cisão da ligação fosfórica de ATP.

O processo desenvolve-se, assim, em 5 fases essenciais:

1 — Combinação da hexose com ATP à custa de uma fosforilase:



2 — Passagem do ácido glicose-6-fosfórico a fructose-6-fosfórico à custa de uma isomerase, e fosforilação deste pelo ATP:

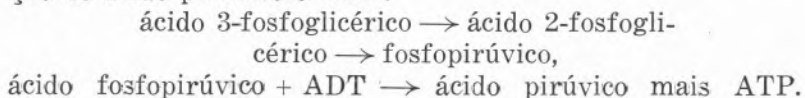


Esta reacção irreversível é catalizada pela fosfo-hexokinase.

3 — Clivagem do ácido fructose-1,6-difosfórico, com formação final de fosfogliceraldeído.

4 — Oxidação do 3-fosfogliceraldeído para ácido 3-fosfoglicérico.

5 — Uma enolase transforma o ácido fosfoglicérico em ácido fosfopirúvico, o qual é desfosforilado por ADT, com formação de ácido pirúvico e ATP:



Note-se, por cada molécula de glicose, a formação de duas moléculas de ATP, mediante ligações fosfóricas altamente energéticas, que constituem um reservatório de energia utilizável pela bactéria em outras actividades. Efectivamente, quando uma molécula de glicose se converte em ácido pirúvico, há um aproveitamento de cerca de 33 % da energia libertada, que fica armazenada nas ligações fosfóricas de ATP.

O esquema de Embden-Meyerhof-Parnas representa uma das possíveis vias da glicólise anaeróbia, e outros processos podem desenvolver-se numa cultura bacteriana, segundo mecanismos completamente diferentes.

Conforme a espécie bacteriana, é diverso o mecanismo de utilização do ácido pirúvico, dando origem aos vários tipos de fermentação, alguns dos quais de tão alto interesse industrial.

É a fermentação láctica a de tipo mais simples, em que o ácido pirúvico funciona como acceptor de electrões, cedidos pela coximase.

Na fermentação alcoólica, o ácido pirúvico é descarboxilado para acetaldeído, que funciona como acceptor de electrões e é convertido em álcool etílico.

O género *Propionibacterium* obtém o ácido láctico pela mesma via dos Lactobacilos, mas leva mais longe o seu poder redutor, transformando aquele em ácido propiónico.

A fermentação butílica é realizada por certas espécies do género *Clostridium*, que transformam o ácido pirúvico em ácido acético, duas moléculas do qual se condensam para ácido acetoacético, reduzido, depois, sucessivamente, para ácido butírico e álcool butílico.

A degradação anaeróbia dos glucidos tem um grande interesse prático pois constitui um dos principais fundamentos em que se baseia a sistemática bacteriana. O poder fermentativo varia de espécie para espécie e exerce-se quer sobre as oses (glicose, arabinose, xilose, levulose, galactose) quer sobre di-holosidos (lactose, maltose, sacarose) ou poli-holosidos (dextrina, inulina, amido).

Há também algumas espécies bacterianas que atacam a celulose (géneros *Cellulomonas*, *Celvibrio*, etc.), e são os principais agentes da digestão nos herbívoros. A celulose é previamente cindida para celobiose, e esta, depois, para glicose. Dado que se trata de um dos produtos mais baratos e espelhados na natureza, este tipo de fermentação tem sido largamente aproveitado pela indústria. O mesmo grupo de bactérias desempenha também um papel primacial na decomposição dos resíduos vegetais e retorno à atmosfera do  $\text{CO}_2$  mobilizado na fotossíntese.

Numerosas espécies bacterianas atacam os ácidos aminados, com produção, nomeadamente, de gás sulfídrico, indol, aminas, etc., facto que se aproveita na sua caracterização. Todavia, são reduzidas as espécies bacterianas que hidrolisam as grandes moléculas proteicas, o que fazem por acção de proteases, que aparecem análogas à tripsina. Estas proteases são, geralmente, extracelulares, provocando no exterior da célula a hidrólise parcial da proteína.

A acção proteolítica sobre a gelatina, caseína, albumina do ovo, soro-albumina, etc., constitui um carácter diferencial muito importante na identificação das bactérias.

A cisão dos amino-ácidos pode fazer-se por diversas vias:

- a) hidrólise com produção de ácidos gordos e amoníaco;
- b) descarboxilação, originando a amina correspondente. É o caso das ptomainas, formadas a partir da lisina, arginina, etc., nomeadamente pelas enterobactérias, responsáveis por muitas intoxicações alimentares.
- c) desaminação com redução, dando origem a ácidos gordos saturados e amoníaco;
- d) oxido-redução mútua de pares de amino-ácidos, fonte apreciável de energia para os anaeróbios.

Quanto à degradação dos lipídios, embora estes constituam um alimento medíocre para as bactérias, conhecem-se lipases bacterianas e algumas espécies atacam os ácidos gordos superiores.



É ainda muito pouco o que se sabe sobre a forma como os micro-organismos fazem a síntese do seu protoplasma. A transformação dos alimentos nos constituintes celulares, altamente específicos, é resultado de reacções muito complexas, que a investigação vai, a pouco e pouco, revelando.

Admite-se que a síntese dos glucidos pelas bactérias se faz de modo análogo à do glicogénio pelo músculo: oxidação do ácido láctico com produção de hexose, e polimerização desta para glicogénio.

Também por fosforólise enzimática do ester glucose-fosfórico certos germes sintetizam a sacarose. Ainda se admite a síntese glucídica por condensação de aldeídos, e parece que, em certos casos, o potássio representaria um papel importante mas inteiramente desconhecido.

Sabe-se que certas bactérias fixam o  $\text{CO}_2$  sobre uma cadeia carbonada, com conseqüente aumento do número de átomos de carbono. Efectivamente, Wood e Werkman descobriram que as bactérias propiónicas assimilavam o gás carbónico, fixando-o principalmente sob a forma de carboxilo, nos ácidos dicarboxílicos, facto confirmado posteriormente para outros germes, com o emprego de carbono rádio-activo. É necessário um suplemento externo de energia para que a reacção possa dar-se no sentido da síntese glucídica, o qual é fornecido pelas ligações fosfóricas de ATP, com produção dos ésteres fosfóricos da glicose.

A partir dos hidratos de carbono, certas bactérias, como o colibacilo, fazem também a síntese dos amino-ácidos, com fixação de amoníaco. É bem conhecido o mecanismo da formação do ácido glutâmico por redução e aminação do ácido  $\alpha$ -cetoglutárico, intervindo como dador de hidrogénio o trifosfopiridinonucleótido, coenzima das piridino-proteínas.

Por transaminação entre os ácidos oxalacético e glutâmico, obtêm-se os ácidos aspártico e cetoglutárico.

Há numerosas informações fragmentárias sobre outras possíveis reacções, cuja integração num sistema geral de síntese dos amino-ácidos ainda se não fez.

Quanto à síntese das cadeias peptídicas e proteínas, permanece quase completamente desconhecida. O facto de o ácido glutâmico revelar tendência a condensar-se em peptidos e a combinar-se com o p-amino-benzoico, para dar o ácido pterilglutâmico (vitamina conhecida pelo nome de ácido fólico) pode estar relacionado com essa síntese. Deste modo, o clássico antagonismo ácido p-aminobenzoico — sulfamida explicar-se-ia por uma inibição das reacções de síntese das proteínas.

A par do grupo imenso das bactérias heterotróficas, que oxidam exclusivamente os substractos orgânicos, temos a considerar outro

grupo cuja importância prática e teórica não é menor: as bactérias autotróficas que fazem a oxidação dos compostos minerais do azoto, ferro e enxofre, e assimilam o carbono dos carbonatos e o azoto dos sais de amónio.

Como representantes principais deste grupo citemos as bactérias nitrificantes, que transformam o amoníaco em nitritos — Nitrosomonas e Nitrosococcus, e estes em nitratos — Nitrobacter. Como se sabe, estas bactérias constituem um factor primacial da fertilidade dos solos, fechando o ciclo do azoto na natureza e fornecendo-o às plantas em forma assimilável. O estudo termodinâmico destas oxidações mostra que cerca de 95 % da energia libertada se perde sob a forma de calor, o que justifica a afirmação de Burrows: como máquinas, as bactérias nitrificantes não são muito eficientes...

Citamos, ainda as sulfobactérias, que oxidam o enxofre e seus compostos, e se encontram largamente distribuídas na natureza, representando igualmente um importantíssimo papel, pelo que respeita ao ciclo do enxofre, que tornam assimilável para as plantas superiores. Destacaremos, de entre estas, as púrpuro-bactérias, que, devido ao seu pigmento, desenvolvem uma actividade fotossintética análoga à das plantas verdes, e em que intervem, como dador de hidrogénio, o gás sulfídrico e outros compostos.

Ainda uma referência às ferro-bactérias, que oxidam os sais ferrosos e são responsáveis pela formação de vastos depósitos de minério de ferro; e às que oxidam o hidrogénio — Hydrogenomonas, e óxido de carbono — Bacillus oligocarbophylus, de Beijerinck.

Há um grupo de bactérias que se comporta como heterotrófico em relação aos compostos carbonados, e como autotrófico quanto à utilização do azoto, que fixa directamente da atmosfera. Alguns autores chamam-lhes bacterias prototróficas, e nelas se inclui o género Rhizobium, cujas espécies, como é sabido, vivem em simbiose, localizadas nas raízes das leguminosas. Segundo os trabalhos de Virtanen e colaboradores, admite-se que o azoto é fixado sob a forma de hidroxilamina, a qual se condensa com o ácido oxalacético fornecido pela planta; a oxima formada é reduzida para ácido aspártico, que seria o ponto de partida para a síntese de outros amino-ácidos.

Para terminar esta exposição em que apenas afluímos algumas das múltiplas actividades bioquímicas das bactérias, vamos fazer uma referência a alguns dos produtos essenciais do metabolismo bacteriano.

Como é geralmente sabido, muitas espécies bacterianas elaboram pigmentos, e pode dizer-se que todas as cores do espectro estão representadas no grupo dos pigmentos bacterianos. Pouco se sabe, contudo acerca da sua formação e papel fisiológico, excepção feita para a indu-

bitável interferência da bacterioclorina na actividade fotossintética das bactérias púrpura e verdes. A maioria dos pigmentos bacterianos parece ser fisiologicamente inerte, e assim se explica que a função cromogénica não seja uma função necessária para as bactérias, as quais vivem perfeitamente, mesmo quando as condições do meio inibem a produção do pigmento.

É diversa a natureza química dos pigmentos, sendo bem conhecida a estrutura de alguns, nomeadamente a piocianina, que constitui o primeiro exemplo de um derivado natural da fenazina.

Como é fácil de compreender, muitos dos produtos do metabolismo bacteriano são, naturalmente, tóxicos para os animais de experiência, e, mesmo, para a própria bactéria. Trata-se de produtos de excreção, sem qualquer especificidade, elaborados indistintamente por variadíssimas espécies.

Mas, a par destes, há algumas bactérias — em número relativamente pequeno —, que elaboram as chamadas exotoxinas, extracelulares presentes nos caldos de cultura, as quais se não podem considerar como produtos de excreção, nomeadamente porque o ritmo da sua produção não acompanha o da multiplicação microbiana.

Consideram-se as toxinas como sendo de natureza proteica, análogas aos fermentos, e já foi possível isolar algumas sob a forma cristalina. Quase todas são destruídas pelas proteases. As toxinas diftérica, tetânica e botulínica são, de muito longe, os venenos mais violentos que se conhecem, e basta a dose de 0,045 microgramas desta última para matar o rato, ao passo que a toxina diftérica mata o cobaio na dose de 0,15 microgramas.

A verdade é que não há razão aparente para uma tal toxicidade, pois as exotoxinas não diferem muito das outras proteínas animais ou vegetais. Supoz-se que a toxicidade residia num grupo prostético ligado à molécula proteica, mas pensa-se hoje que resulta de um arranjo particular dos amino-ácidos.

Há também certas toxinas que são intracelulares e só passam para os meios de cultura por lise da célula. Distinguem-se, de um modo geral, das exotoxinas porque são pouco activas, resistem à acção dos fermentos proteolíticos, são termostáveis e a sua toxicidade não é afectada pela adição de aldeído fórmico. Algumas são de natureza proteica e, outras, glucido-lipídica.

O tempo de que razoavelmente dispomos não nos permite aflorar, sequer, outros problemas fundamentais, como o da proteína-antigénio — pilar essencial de toda a imunochimica,, os glucido-lipidos com actividade antigénica específica, as nucleoproteínas bacterianas, etc.

Finalizaremos, pois, com a citação de um último grupo de produtos elaborados por microorganismos: os antibióticos.

De há muito se reconheceu que é frequente o antagonismo bacteriano, em consequência do qual determinada espécie bacteriana não prolifera em presença de outra. Posteriormente, verificou-se que, em muitos casos, o efeito antagónico é devido à actividade de uma substância elaborada pelo germe sobrevivente, que é tóxica para o outro: um antibiótico, em suma, na designação de Waksman.

Desde a clássica descoberta de Fleming, em 1929, e, sobretudo, dos trabalhos da equipa de Oxford, a partir de 1941, o interesse por tais substâncias tem crescido de modo avassalador, e conta-se já por muitas centenas o número de antibióticos citados nas revistas de todo o mundo.

Dos antibióticos elaborados pelas bactérias podem indicar-se, entre os mais importantes, as gramícidinas, tirocidinas, polimixinas, picocianina, subtilina, bacitracina, nisinas, fungistatina, liquenforminas, e tantos outros.

As bactérias do solo são as que têm fornecido maior número de antibióticos: o grupo do *Bacillus subtilis*, o bacilo picciânico, com os seus 6 «pio-compostos», *Streptococcus lactis*, que elabora a nisina, *Bacillus polymyxus*, constituem alguns exemplos.

É muito difícil o isolamento dos antibióticos no estado puro, mau grado as técnicas modernas de extração e purificação, sendo poucos aqueles cuja estrutura se conhece e ainda menos os que se preparam por síntese química.

Quanto à composição química, podem considerar-se, em geral, dois grupos de antibióticos: os de natureza polipeptídica ou proteica, e os de composição mais simples, quase sempre cíclica, em regra menos tóxicos e mais susceptíveis de aplicação terapêutica do que os primeiros. É interessante notar que a complexidade da molécula é tanto maior quanto mais rudimentar o germe que a elabora: a penicilina, de peso molecular 320, é produzida por fungos que ocupam na escala biológica lugar muito superior ao de *Bacillus subtilis*, que elabora um polipeptico de elevado peso molecular.

Admite-se geralmente que o mecanismo de acção dos antibióticos é de natureza competitiva, como, por exemplo, o das sulfamidas, inibindo um ou mais sistemas enzimáticos do germe afectado. As inúmeras experiências realizadas sobre o assunto permitem considerar os seguintes tipos de acção:

- 1 — Inibição da multiplicação celular, possivelmente por competição com o grupo sulfidrilo — caso dos antibióticos de estrutura lactónica ou  $\alpha$ ,  $\beta$ -cetónica insaturada, que são inactivados pela cisteína;
- 2 — Substituição de um metabolito essencial ou factor de crescimento;

- 3 — Modificação da tensão superficial;
- 4 — Acção favorável sobre os mecanismos de autólyse.

Assinale-se, contudo, que o mecanismo da acção antibiótica é extremamente complexo e muito pouco o que dele se conhece positivamente. Um princípio geralmente verificado é o de que o poder antibiótico é muito maior sobre as bactérias em proliferação activa — na fase logarítmica, do que sobre a célula em repouso, o que parece revelar decisiva influência sobre os mecanismos da divisão celular.

Sabe-se que muitos germes são resistentes a um determinado antibiótico, e que essa resistência pode ser natural ou adquirida, principalmente por desenvolvimento do germe em meios de concentração sub-eficaz de antibiótico. Duas teorias se admitem na explicação do fenómeno: a da selecção natural de uma população heterogénea, da qual sobrevivem apenas as estirpes que melhor reagem às condições do meio, e outra, mais geralmente aceite, que considera a aquisição de resistência como o resultado de uma modificação ou mutação de certas células individuais, em consequência da qual dispensam determinados metabolitos essenciais ou alteram os seus processos metabólicos.

E resumimos a estas brevíssimas palavras as considerações sobre os antibióticos, pois o nosso intuito foi apenas salientiar um novo aspecto das actividades microbianas, do qual o homem soube recolher inestimável proveito. É de desejar, somente, que, não se deixando iludir por essa autêntica lâmina de dois gumes, saiba usá-la com prudência e com inteligência.



## A ESTERILIZAÇÃO A FRIO DE PRODUTOS ALIMENTARES POR MEIO DAS RADIAÇÕES IONIZANTES

ANTÓNIO VALENTE DA FONSECA ALVES DA COSTA

*Chefe dos Serviços Industriais do Instituto Português  
de Conservas de Peixe*

Lisboa - Portugal

Escolhi para tema desta «conversa» com V. Ex.<sup>as</sup>, um assunto que tem sido o sonho daqueles a quem está entregue o estudo dos problemas da conservação dos alimentos e que, a realizar-se com êxito, provocaria uma revolução radical na indústria da alimentação.

O método básico de esterilização dos alimentos tem sido sempre o mesmo, desde que há 150 anos Nicholas Appert pela primeira vez esterilizou alimentos, utilizando o calor.

Em face das alterações que o calor provoca em certos alimentos, especialmente nos de baixa acidez, tem havido uma contínua procura de um método, que, atingido o objectivo de esterilizar o produto, provocasse somente uma pequena elevação na sua temperatura.

De entre os diversos meios que têm sido descobertos e postos à nossa disposição, para atingir este fim, pelos modernos físicos, as radiações ionizantes, tanto electromagnéticas como corpusculares, são as que mais prometedoras se nos apresentam.

Adiante veremos quais e porque as escolhemos.

Para dar uma ideia da extensão da actividade e do interesse que a «esterilização a frio» está a despertar nos meios científicos americanos, bastará dizer que em 1948 somente 3 laboratórios trabalhavam neste tipo de investigação, enquanto que hoje, não há praticamente universidade técnica alguma, onde não estejam a ser conduzidos estudos directamente relacionados com o assunto, a maior parte deles subsidiados, quer pela Comissão de Energia Atómica, quer pela Manutenção Militar, (U. S. Army Quartermaster Corps) que seriam sem dúvida os maiores beneficiários se o processo se tornasse viável. Este

---

(\*) Conferência realizada no Núcleo de Coimbra da Sociedade Portuguesa de Química e Física em 30 de Outubro de 1957.

último departamento só à sua parte está a gastar anualmente com tal programa de investigação cerca de 2 milhões de dólares.

Muito rapidamente vou-me referir a alguns fundamentos que considero úteis para uma melhor compreensão do que vou expor, começando por lembrar a estrutura da matéria com os seus electrões, protões, neutrões, os positões, deuterões, etc., a representação do átomo, pelo esquema de Bohr e pela simples abreviatura de  ${}_Z^A N$ , em que N representa o peso atómico (protões+neutrões) e Z o número atómico (electrões planetários).

Como V. Ex.<sup>as</sup> sabem são de 2 tipos as radiações ionizantes.

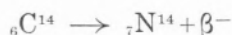
- 1 — De natureza electromagnética — tais como os raios X e raios  $\gamma$ ;
- 2 — de natureza corpuscular — tais como as partículas  $\alpha$ ,  $\beta$ , raios catódicos, neutrões, etc., constituídos por partículas pesadas, que se podem mover a qualquer velocidade dependente da sua energia cinética e que podem ter carga positiva, negativa ou nenhuma.

Consideremos agora a interacção destes 2 tipos de radiação com a matéria, começando primeiro pelos efeitos das radiações corpusculares.

Assim, na generalidade, a partícula:

- 1 — Pode perder a sua energia por colisão com um núcleo ou um electrão;
- 2 — Pode provocar a ionização dos átomos da substância irradiada;
- 3 — Pode provocar a rotura das ligações intermoleculares;
- 4 — Pode ser capturada pelo núcleo resultando um átomo radioactivo.

Por exemplo:



Vida média=5 580 anos.



Em face do exposto nem todas as formas de radiação corpusculares podem ser usadas para preservar alimentos.

Assim:

As partículas  $\alpha$  não podem ser usadas porque perdem a sua energia rapidamente por ionização e choque não sendo portanto muito penetrantes — uma folha de papel é suficiente para as deter.

Os prótons, deutrons e outras partículas de carga positiva pela mesma razão não podem ser usadas e porque podem provocar a formação de novos átomos radioactivos.

Os neutrões, em fluxo suficiente para preservar os alimentos, não poderão ser utilizados porque haverá grande probabilidade da produção de radioactividade induzida e a transmutação de elementos, tanto nos produtos alimentares como no recipiente. Assim teríamos a acrescentar ao inevitável problema da ruptura das ligações químicas, a possibilidade da formação de compostos indesejáveis.

Por exemplo o  ${}_{15}\text{P}^{31}$ , que existe naturalmente nos alimentos, captando um neutrão transforma-se no isotopo radioactivo  ${}_{15}\text{P}^{32}$  de vida média de 14,3 dias que por seu turno se degrada no  ${}_{16}\text{S}^{32}$  com a emissão de uma partícula  $\beta$  com a energia de 1.7 M e. v.

Restam-nos as partículas  $\beta$  naturalmente produzidas na degradação radioactiva e os raios catódicos, da mesma natureza, mas produzidos artificialmente em máquinas especiais — os aceleradores — que imprimem aos electrões uma energia adicional e os projectam em feixe numa dada direcção.

Têm a vantagem, sobre as radiações ionizantes já referidas, de que a formação de átomos radioactivos é muito pouco provável especialmente aos níveis de energia necessários à esterilização dos alimentos.

Passemos agora a considerar os efeitos das radiações electromagnéticas que para este problema tem interesse — os raios  $\gamma$  e os raios X, que, sendo radiações com as mesmas características físicas, diferem apenas em que as primeiras são produzidas durante a degradação radioactiva e as segundas são produzidas em máquinas muito custosas e de fraco rendimento.

Estas radiações perdem a sua energia por ionização ou excitação, provocam também a quebra das ligações químicas e dificilmente produzirão um átomo radioactivo.

Quando estas radiações atravessam a matéria, a sua energia é absorvida dos fotões por qualquer dos mecanismos fotoeléctrico, dispersão de Compton ou produção de pares de electrões, acelerados com iguais quantidades de energia. Estes electrões secundários excitam e ionizam outros átomos, o que talvez possa explicar o maior poder penetrante destas radiações.

De todas estas considerações resulta que os únicos tipos de radiações que tem as características essenciais de eficiência, segurança e praticabilidade, são as duas radiações ionizantes — os raios catódicos, produzidos artificialmente e os raios  $\gamma$  produzidos na degradação de matérias radioactivas.

É nesta premissa que se baseará todo o resto desta discussão, visto que os efeitos sobre a matéria são análogos.

Vejamos agora os efeitos destas radiações ionizantes nos vários componentes dos alimentos:

### 1.º — *Acção sobre as bactérias*

Que estas radiações destroem as bactérias é facto já conhecido desde 1905.

Assim o podermos considerá-las como meio esterilizador.

Explica-se esse efeito mortal de 2 maneiras:

- a) Por choque directo;
- b) Por efeito indirecto do meio, pela acção dos radicais livres neles formados.

No 1.º caso a radiação chocando directamente com a célula bacteriana provoca nela a formação de radicais livres, oxidantes ou redutores, que matam a bactéria seja por uma alteração química da sua superfície seja por destruição do equilíbrio bioquímico do interior.

No 2.º caso, como muito bem foi demonstrado por Proctor e seus colegas do M. I. T. são as alterações provocadas no meio pelas radiações que provocam a morte das bactérias.

Outros estudos recentes provaram que a acção das radiações no maior ou menor grau de destruição das bactérias depende das espécies, do estado e constituição do meio em que se encontrem, dos elementos presentes, etc.

Não repugna aceitar porém que os 2 processos intervenham, umas vezes mais, outras menos, no processo final de destruição das bactérias.

Por exaustivos estudos sobre a acção das radiações sobre as bactérias nos mais diversos meios de cultura e alimentos, é que se chegou à conclusão de qual a dosagem necessária para conseguir a esterilização dos alimentos.

### 2.º — *Acção sobre os vários complexos químicos presentes nos alimentos*

O principal constituinte de grande número de alimentos é a água. Vejamos como se comporta em presença das radiações ionizantes.

Embora os detalhes das reacções que se passam, possam considerar-se meramente especulativas, não há dúvida que se liberta uma grande variedade de radicais livres, uns de natureza fortemente oxidante, outros fortemente redutora, cuja formação e acção sobre as substâncias orgânicas e inorgânicas presentes é acelerada pela presença do oxigénio atmosférico e dissolvido.

Assim dentre os radicais livres possivelmente formados destacam-se, pelo seu forte poder oxidante, os hidroxilos (OH), os hidroperoxilos ( $\text{HO}_2$ ), o peróxido de hidrogénio, etc.

Estes e outros radicais, libertados pela acção das radiações, em contacto com os diversos constituintes de moléculas mais ou menos complexas, reagirão quimicamente com elas, provocando alterações mais ou menos profundas no arranjo e ligações dessas moléculas. Evidentemente que, se esses constituintes forem os responsáveis pela textura, sabor, cor, cheiro, valor nutritivo, etc., do produto, as características que adquirirá, torná-lo-ão inaceitável pelos habituais consumidores.

Esta acção indirecta das radiações através da formação de radicais livres, sendo de fundamental importância, não diminui o efeito alterador que essas radiações por ionização poderão provocar directamente nas complexas moléculas constituintes dos alimentos.

Estas acções indirectas poderão ser muito influenciadas pelos efeitos da difusão, da temperatura e da protecção que as moléculas mais sensíveis às radiações e seus efeitos exercem sobre as mais resistentes.

A importância da diluição fica bem documentada se atendermos à liberdade que dá aos radicais livres, aumentando-lhes as possibilidades de fácil reacção com as moléculas e outros radicais presentes.

Para obviar aos inconvenientes da difusão e fácil mobilidade dos radicais livres foi proposta e ensaiada com êxito a técnica de submeter à acção das radiações o produto congelado.

O efeito da protecção é especialmente flagrante nos produtos alimentares, por serem formados por moléculas e compostos de vária complexidade, diversa sensibilidade às radiações e diferente afinidade para com os radicais livres.

Para aumentar a protecção contra as indesejáveis reacções provocadas nos produtos alimentares, directa ou indirectamente pelas radiações, tem sido ensaiada a adição em maior ou menor quantidade, de compostos de reconhecida segurança, que sabemos possuírem maior facilidade da captura e de ligação com os radicais livres, do que os componentes naturais responsáveis pela qualidade do produto.

O uso destas técnicas tem a desvantagem de, se por um lado possibilitam a redução das transformações químicas indesejáveis, provocam por outro lado um aumento de resistência dos microorganismos presentes, ao efeito mortal das radiações. Não me parece pois que o

seu uso traga grandes vantagens, quando o nosso objectivo seja a esterilização do produto.

A grande dificuldade está em que as alterações químicas provocadas pelas radiações são impossíveis de revelar e caracterizar analiticamente, visto serem quantitativamente pequeníssimas, mas qualitativamente de grande importância, não só no que respeita aos factores que concorrem para a aceitação organoléptica do produto, mas também pela possibilidade do produto formado poder ter um carácter tóxico ou carcinogénico indetectável.

Recentemente, através de uma técnica conhecida por *Ressonância paramagnética do electrão* (E. P. R.) é já possível revelar os radicais «in situ», determinar a sua natureza em alimentos irradiados e estudar os factores do meio que afectam a sua produção e estabilidade, no respectivo espectrometro.

Sucintamente, o método baseia-se no facto de os radicais livres conterem pelo menos um «electrão ímpar» (unpaired) por radical e de esses electrões terem propriedades magnéticas únicas que permitem a sua revelação por meio de técnicas de ressonância paramagnética.

O método E. R. P. é baseado na absorção da energia electromagnética, quando a substância, contendo os referidos electrões, é simultaneamente exposta a um campo de radiofrequência e a um forte campo magnético polarizante, orientados perpendicularmente.

A teoria do processo é detalhadamente exposta por Shoolery e Weaver no n.º 6 da *Annual Review of Physical Chemistry* de 1955.

Muito se espera da aplicação deste método para a completa compreensão das complexas reacções que os radicais livres provocam nos produtos alimentares sujeitos às radiações ionizantes em doses esterilizadoras e dos meios a usar para as evitar.

Vejamos agora:

### 3.º — *Acção sobre as vitaminas*

A vitaminas de moléculas mais ou menos complexas são muito sensíveis às radiações, especialmente quando em soluções puras. A vitamina B<sub>12</sub> e a vitamina C parecem ser as mais sensíveis, ao passo que a niacina parece ser a mais resistente.

Quando nos alimentos, por acção dos efeitos de protecção dos outros constituintes presentes, a destruição não é tão profunda.

Os efeitos destrutivos das radiações sobre as vitaminas presentes nos produtos alimentares parece ser devida principalmente à acção oxidante dos radicais livres.

Muitos dos trabalhos de investigação em curso, sobre os efeitos das radiações nas vitaminas, procuram identificar a natureza e a toxicidade desses produtos de oxidação.

#### 4.º — *Acção sobre os amino-ácidos*

Quando naturalmente presentes nos alimentos, parece não sofrerem grandes alterações por efeito das radiações, especialmente nas dosagens especificadas para a esterilização.

#### 5.º — *Acção sobre as enzimas*

Este é um dos graves problemas deste sistema e que não será muito fácil resolver com as radiações ionizantes.

A inactivação das enzimas é absolutamente fundamental para uma boa conservação dum produto alimentar.

Para aqueles que como eu têm como matéria-prima, os peixes, o problema tem ainda maior acuidade, dado que as acções enzimáticas são neles muito mais fortes e extensas do que nos outros animais. A razão está em que o peixe, para digerir os seus alimentos a baixa temperatura, está dotado naturalmente de poderosos sistemas enzimáticos.

Infelizmente estes catalisadores biológicos não são muito sensíveis às radiações.

Na esterilização pelo calor, a quantidade de calor necessária para a esterilização é suficiente para inactivar as enzimas.

Na esterilização por radiações uma dose 10 vezes maior que a necessária para a esterilização nem as destrói nem as inactiva completamente.

Para resolver tão grave problema admite-se a possibilidade da utilização do calor produzido por radiações de rádio-frequência, radar, etc.

Deste modo se poderá obter um aquecimento uniforme e instantâneo através de toda a massa do produto alimentar com a consequente inactivação dos sistemas enzimáticos presentes, sem sobreaquecimento da superfície exterior.

#### 6.º — *Acção sobre as toxinas*

A destruição das toxinas porventura presentes num produto complexo, como os alimentos, é praticamente impossível, tão grande seria a dosagem requerida.

### *Dosagens necessárias para a esterilização dos alimentos*

Tal como na esterilização pelo calor, também aqui se empregam, para a determinação da dosagem, as bactérias consideradas mais insensíveis às radiações.

Verificou-se que, à semelhança do que se observa na esterilização pelo calor, também aqui o mais resistente microorganismo é o «Clostridium Botulinus».

Verificou-se ainda que a dosagem requerida para a esterilização, variará com a flora microbiana e as particulares características de cada microorganismo e de cada produto alimentar onde se encontrem.

Para comparação das doses de radiação e os seus efeitos em diversos sistemas biológicos apresentamos o seguinte quadro:

Sistema biológico	Dose de radiação (R E P)
Limite de segurança para o homem ... ..	0,3 (por semana)
Mortal para o homem ... ..	800
Mortal para os insectos ... ..	25 000
Mortal para as bactérias vegetativas ... ..	50 000 — 500 000
Mortal para esporos de bactérias (Esterilização de Alimentos) ... ..	1 000 000 — 4 000 000
Virus, toxinas, ou inactivação de enzimas ... ..	Mais de 5 000 000

que claramente mostra as altas dosagens requeridas para a esterilização de alimentos e as condições de protecção que é preciso ter ao dispor para salvaguardar o pessoal dos perigos de exposição.

Parece haver uma grande correlação entre a complexidade biológica e a sensibilidade aos efeitos das radiações radioactivas.

No entanto os valores indicados no quadro para as bactérias podem considerar-se as doses máxima e mínima necessárias para conseguir o fim em vista, com um coeficiente de segurança suficiente para assegurar a sua destruição total, especialmente das productoras de esporos.

#### *Unidades:*

Definições das unidades mais comuns utilizadas neste campo de aplicação das radiações ionizantes:

Rep — «Roentgen equivalent physical». É a quantidade de radiação absorvida por um grama de substância irradiada ou, mais propriamente, a quantidade de irradiação que causará a deposição de 93 ergs por grama de material irradiado.

ev — É a energia que um electrão adquire ao mover-se através de uma diferença de potencial de 1 volt.

Geralmente usa-se o Mega-electrão volt =  $10^6$  ev. = M. e. v.

Roentgen — É a quantidade de energia radiante que, quando passa através de 1 c.c. de ar nas condições normais de pressão e temperatura, produz uma unidade electrotática de carga.

### *Aplicações práticas*

No campo das aplicações práticas por quais das radiações nos deveremos decidir?

Pelos raios catódicos produzidos artificialmente ou pelos raios  $\gamma$  produzidos por degradação dos produtos radioactivos ou mesmo em reactores?

Comparemos algumas das suas características.

#### 1.º — *Penetração*

No diagrama I vemos a diferença enorme do poder de penetração dos raios  $\gamma$  em relação aos catódicos, sendo o meio irradiado a água.

Diagrama Comparativo da Penetração  
das  
Radiações Gama (—) e Catódicas (---)

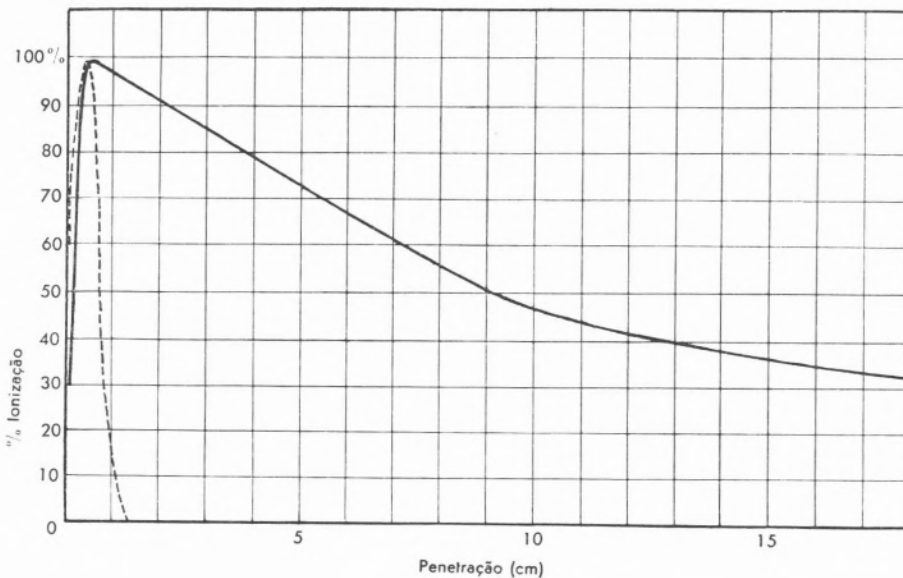


DIAGRAMA I

Tomando 3 Mev. como padrão, teremos uma penetração máxima de aproximadamente 1,5 cm para os raios catódicos ao passo que, usando raios  $\gamma$ , com o mesma energia de 3 M. e. v., depois de atravessarem uma camada de 20 cm de água ainda conservam a intensidade inicial do feixe.

Assim, vemos a diferença tremenda entre os poderes penetrantes das 2 espécies de radiações.

Verificou-se que várias substâncias corantes possuem a propriedade de mudarem de cor pela acção e conforme a intensidade das radiações ionizantes.

Isto constitui sem dúvida um meio rápido e eficaz de se avaliar visualmente a penetração, os níveis de intensidade, a área afectada por essas radiações, a influência dos materiais usados para embalagem, etc.

Um de tais corantes é o resazurim que na sua redução pelas

## DIAGRAMAS

Visualizando a penetração dos raios catódicos de 2 e 3 M. e. v. por simples e dupla passagem, na gelose, corada com resazurim, contida em latas de alumínio com a espessura efectiva de 20 milímetros

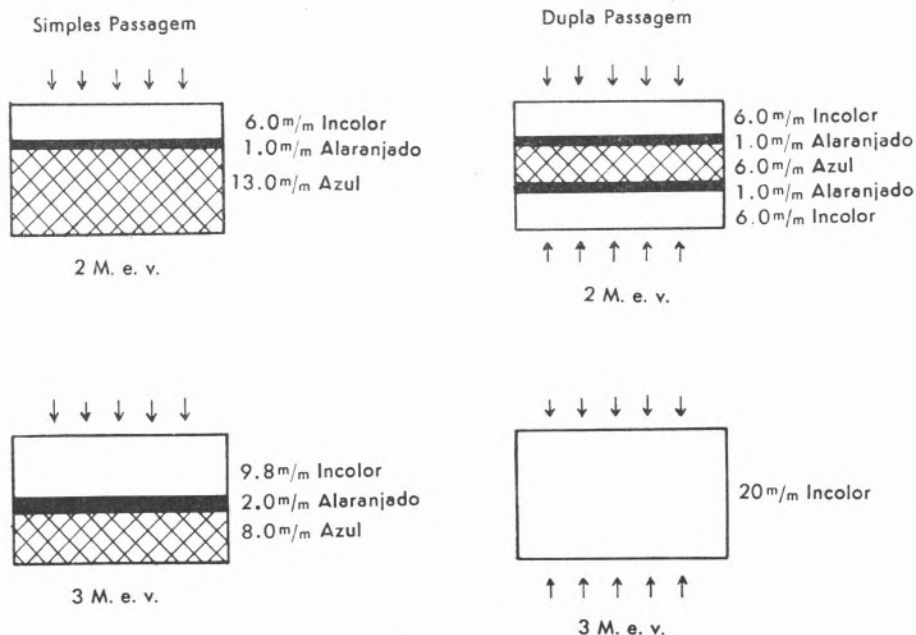


DIAGRAMA II



radiações ionizantes passa de azul a alaranjado e finalmente a incolor em correlação com a ionização por elas provocada.

O diagrama II ilustra os resultados que se podem obter quando são irradiadas por raios catódicos de 2 e 3 M. e. v., latas de sardinha em alumínio cheias com gelose tendo nela dissolvido o referido corante.

As partes tracejadas representam a parte do produto que não foi afectada pelos raios catódicos. As zonas representadas a preto, indicativas de doses insuficientes para provocar a ionização aos níveis mínimos daqueles que se verificam na zona de aplicação dessas radiações, mostram que nelas apenas se observará uma esterilização parcial.

As zonas a branco, representativas de completa descoloração do corante, indicam que a ionização provocada pelas radiações foi suficientemente forte e atingiu um nível, pelo menos igual ao da zona de aplicação, capaz de assegurar a completa esterilização do produto.

Em face da fraca penetração dos raios catódicos, utiliza-se na prática a técnica da «dupla passagem», que permite obter um pouco mais de dupla penetração — cerca de 2,5 vezes — como é bem demonstrado pelo diagrama III, que representa as curvas de ionização que se obtém quando latas usuais de sardinha, cheias com gelose corada pelo resazurim, são expostas dos 2 lados, fundo e topo, a raios catódicos de 3 M. e. v., daí resultando a completa descoloração do conteúdo.

O facto à primeira vista paradoxal, de se obter por dupla passagem, mais que dupla penetração provém da adição dos efeitos ionizantes das doses representadas pelas secções AB e CD das 2 curvas de ionização. Deste facto resulta ser a percentagem de ionização no centro da lata equivalente ao das superfícies do topo e fundo, pelo que se verifica assim a completa esterilização do conteúdo, se a energia da radiação empregada for a adequada.

O uso de corantes, do género do descrito, constituirá uma técnica, simples e barata, de muita utilidade no campo das aplicações práticas das radiações ionizantes.

## 2.º — *Eficiência da utilização*

Com os electrões é muito alta e mesmo com dupla passagem podemos obter uma eficiência muito perto dos 100 %. A eficiência de utilização dos raios  $\gamma$  é muito baixa talvez da ordem dos 5 %.

## 3.º — *Distribuição da energia*

É de primeira importância, porque se essa distribuição não for uniforme, poderemos ter certas áreas do produto que recebem o tratamento devido ao passo que outras ficam à quem da dose que deveriam receber.

## DIAGRAMA DA IONIZAÇÃO

Provocada por dupla passagem de raios catódicos de 3 M. e. v. sobre gelose, corada com resazurim, contida em latas 1/4 usual 22 mm.

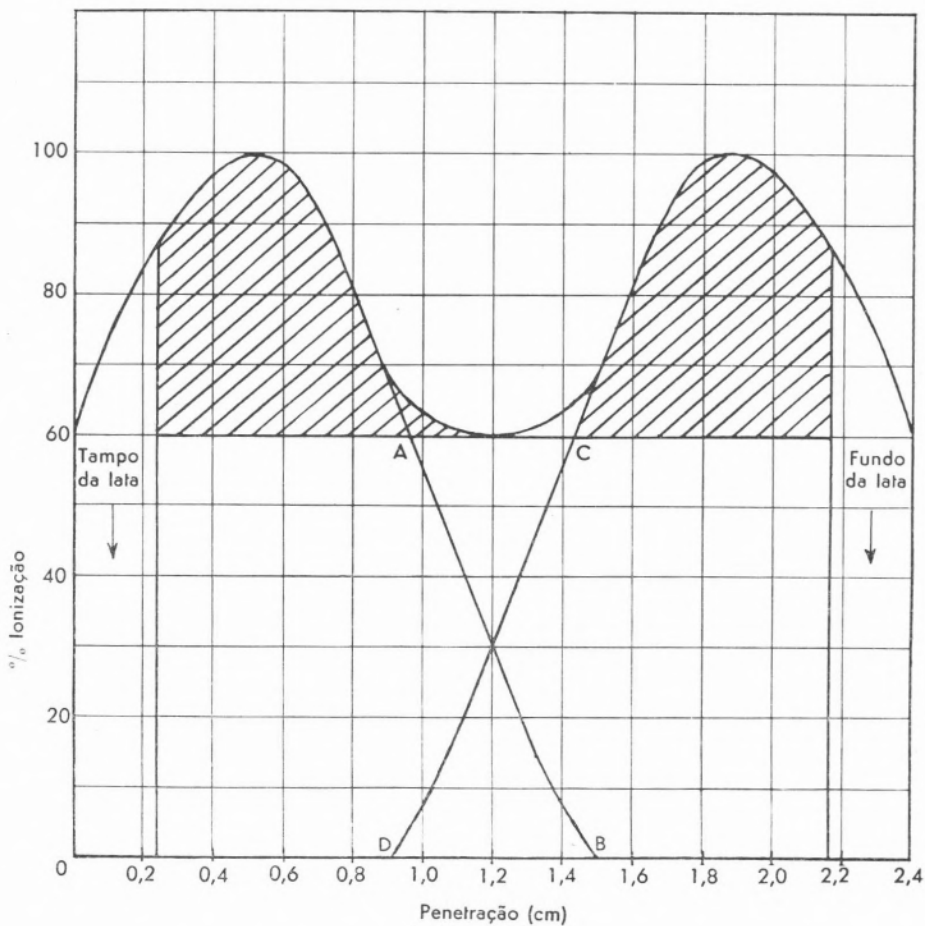


DIAGRAMA III

Os raios  $\gamma$  penetrando e dispersando-se em todas as direcções verão a sua energia absorvida mais uniformemente por todo o volume do produto.

Devido a vários sistemas mecânicos, também é possível conseguir uma distribuição uniforme da energia do feixe de raios catódicos.

#### 4.º — *Tempo e grau de dosagem*

Nesta característica os electrões teriam a preferência.

As mais intensas fontes de raios  $\gamma$  usadas até hoje, são sub-produtos radioactivos provenientes do reactor da National Reactor Testing Station no Idaho nos Estados Unidos e com eles obtiveram-se graus de dosagem tão altos como 10 Mega rep/hora.

No entanto qualquer acelerador de electrões opera a 35 Mega rep/minuto.

Deste modo se vê que o tempo necessário para atingir a dosagem requerida para esterilização de qualquer produto é para os raios  $\gamma$  incomparavelmente maior.

#### 5.º — *Facilidade de trabalho*

No que diz respeito à operação da esterilização dos alimentos, parece-nos que os raios catódicos levam a melhor.

No entanto as máquinas produtoras desses raios, por serem sistemas mecânicos, acarretam com a sua conservação e manutenção fortes dores de cabeça.

Por outro lado a emissão de raios catódicos pode ser iniciada ou cessada a nosso bel-prazer o que não acontece com as fontes produtoras de raios  $\gamma$  cuja actividade se degrada exponencialmente com o tempo, pelo que periodicamente têm de ser substituídas. O  $\text{Co}^{60}$  perde aproximadamente 50 % da sua eficiência num período de 5 anos.

Por isto os requisitos de segurança são incomparavelmente mais importantes e custosos no caso das fontes de raios  $\gamma$  do que os das máquinas produtoras de raios catódicos.

#### *Em conclusão:*

Cada tipo de radiação tem as suas vantagens e as suas limitações. A utilização de uma ou doutra dependerá do caso particular para que for destinada.

#### *Custo*

Teòricamente as fontes mais baratas de radiações deveriam ser as produtoras de raios  $\gamma$  por degradação radioactiva dos subprodutos dos reactores atómicos.

Mas nenhum cálculo comparativo pode ainda ser feito, enquanto não se souber mais sobre as possibilidades de abastecimento, preço do fornecimento, transporte, etc.

### *Capacidade de produção*

É um factor muito importante no aspecto prático e económico.

Os raios catódicos permitem uma maior produção na unidade de tempo para o que basta ter em atenção o que dissémos atrás sobre grau de dosagem.

---

Uma referência breve aos aceleradores produtores de raios catódicos.

Presentemente existem 4 tipos diferentes:

1 — O acelerador electrostático de Van de Graaff;

2 — O capacitório;

3 — O transformador ressonante da G. E.;

Todos utilizam altas-voltagens como meio de aceleração.

Os problemas de isolamento e segurança são assim muito importantes.

Produzem electrões com energias que vão de 1 a 5 ou 6 M.e.v.

4 — Os aceleradores lineares.

Utilizam altas frequências da região do radar, como meio acelerador dos electrões até níveis de energia teòricamente ilimitados. Existe no Hospital do Cancro da Universidade de Chicago um destes aceleradores de 50 M. v. v. que está a ser utilizado para comprovar se sim ou não será possível uma electrodesintegração do núcleo provocada por electrões a níveis de energia superiores a 10 M. e. v.

### ***Resultados obtidos até hoje com os alimentos mais comus***

O gosto, cheiro textura e aspecto dos diferentes alimentos variam, quando são irradiados com diferentes doses.

O leite já a 100 000 rep é intragável.

Com as doses pasteurizantes de 200 000 rep, as bananas, as san-tolas, laranjas, morangos, manteiga, queijo são grandemente afectadas, enquanto que o paio, salame, porco, presunto, cenouras, espinafres, ervilhã e a cavala permanecem aceitáveis.

Com as doses de esterilização alguns alimentos permanecem de certo modo aceitáveis, enquanto que outros, como a carne de vaca, carneiro, os peixes como a cavala e a pescada, as ostras e as salchichas, sofrem tais transformações, que se podem considerar impróprias para consumo.

Entre os alimentos que, embora sofrendo grande número de alteração, ainda se podem considerar de certo modo aceitáveis contam-se os espargos, o presunto, a carne de vitela, fígado, brócolos, galinha, ameijoas, bacalhau, solha, camarão, pargo, lombo de porco, chouriço, frutas, etc.

Para quem tenha um paladar mesmo não muito apurado as alterações são de molde a considerar a maior parte dos referidos alimentos inaceitáveis do ponto de vista organoléptico.

Por exemplo — os ovos — a gema apresenta-se encarquilhada com uma cor acastanhada e a clara perde grande parte da sua viscosidade espalhando-se no prato pela forma mais irregular. No entanto o sabor não é muito alterado, especialmente depois de cozidos ou estrelados.

É interessante notar que por vezes, depois de um certo período de armazenamento, algumas das características organolépticas peculiares desses alimentos voltam à forma primitiva.

#### *Ensaio de toxicidade*

Dos ensaios realizados é possível concluir:

- 1 — Não se produz nos alimentos qualquer radioactividade induzida com as doses necessárias para esterilização;
- 2 — Até à data não há qualquer evidência da toxicidade dos alimentos irradiados, não só pelos ensaios com animais, mas principalmente com o grupo de 12 soldados que no Laboratório de Nutrição do Exército Americano se sujeitaram à experiência de se alimentarem com refeições constituídas por várias percentagens de alimentos irradiados.

Em face do exposto, e enquanto não quizermos preparar as nossas refeições com produtos preparados em autênticos laboratórios e não quizermos abdicar dos saborosos manjares a que estamos habituados, poderemos concluir, como o Dr. Ball, que «o calor continuará indefinidamente a ser o mais prático e económico agente a ser usado na esterilização dos alimentos a despeito dos progressos que a esterilização a frio possa fazer».



## **NORMAS PARA A COLABORAÇÃO NA «REVISTA PORTUGUESA DE QUÍMICA»**

### *1 - Natureza dos artigos*

A «Revista Portuguesa de Química» publica artigos originais que, conforme a sua extensão e natureza, se podem considerar de várias classes:

*A* - Artigos com carácter de investigação científica;

*B* - Artigos de interesse geral, como biográficos, históricos, pedagógicos, etc.;

*C* - Comunicações apresentadas em reuniões dos Núcleos da Sociedade;

*D* - Conferências;

*E* - Comunicações ao Director da Revista;

*F* - Notas de laboratório.

### *2 - Título e autoria dos artigos*

Os artigos das classes, *A*, *B*, *C* e *D* deverão ter um título o mais conciso possível, que exprima com precisão o contexto. Se for necessário, e para não tornar o título demasiadamente extenso, usa-se um subtítulo.

O título será seguido pelo nome do autor, ou autores, abreviado o mais possível com o uso de iniciais. Títulos académicos devem ser omitidos. Por baixo do nome do autor indicar-se-á o local em que o trabalho foi executado.

Artigos das classes *E* e *F* serão, por natureza, simplificados. O nome do autor, ou autores, e o local do trabalho indicar-se-ão no fim do artigo.

Se o artigo constitui uma comunicação em qualquer reunião científica, deve indicar-se na primeira página, em nota de fim, de página, a designação, data e local da reunião.

### *3 - Idioma utilizado*

Os artigos devem ser escritos em português. Excepcionalmente, poderão ser aceites artigos em espanhol, francês, inglês ou alemão.

#### 4 - *Sumários e resumos*

Todos os artigos das classes A e, eventualmente, C serão precedidos dum sumário, *escrito na mesma língua que o artigo*, em que se indique o motivo por que se fez a investigação, os resultados obtidos e o seu significado.

Os artigos serão seguidos por resumos em duas outras línguas, de preferência francês e inglês, mais breves que o sumário que precede o artigo. Se o artigo não foi escrito em português, um destes resumos será obrigatoriamente escrito em português.

#### 5 - *Texto*

De todos os artigos seja qual for a sua classe, será enviado o original, dactilografado a dois espaços em papel de máquina de 27,7×21,5 cm, e uma cópia a papel químico. Deve-se utilizar uma só face de cada folha do papel de máquina e deixar-se, no lado esquerdo, uma margem de pelo menos 2,5 cm.

No texto dum artigo da classe A começar-se-á por parágrafos que descrevem o fim da investigação realizada e o processo adoptado para o atingir, segiuando-se a parte experimental e a sua discussão. Deve-se ser o mais conciso possível. Se o processo experimental já foi publicado, basta indicá-lo como referência bibliográfica; se se tratar de processos já conhecidos e simplesmente adaptados, basta uma descrição muito breve.

Nos artigos desta classe A, não são aconselháveis notas do fim de página; as indicações que seriam contidas nessas notas deverão ser incluídas no lugar próprio do texto.

Nos artigos da classe B, já são admissíveis notas do fim de página. Indicam-se essas notas com numeração corrida por um número usado como expoente. Inclui-se no original, logo a seguir à indicação da nota, o texto desta, separando-o do restante texto por dois traços horizontais.

Todo e qualquer agradecimento ou reconhecimento de trabalho executado por outrém será incluído em secção especial no fim do texto.

#### 6 - *Referências bibliográficas*

Os antecedentes bibliográficos devem reduzir-se aos que tenham ligação directa com o trabalho, sendo-se o mais conciso possível nos comentários a eles feitos.

As citações bibliográficas obedecerão às seguintes normas: não se intercalam no texto; irão para o fim do artigo (classes A, C, E e F), ou como nota do fim de página (classes B e D), com numeração seguida.



O número correspondente à citação intercala-se no texto dentro de parêntesis. Na lista de bibliografia, os números dentro de parêntesis serão alinhados à esquerda com o resto do texto; se a indicação ocupar mais do que uma linha, as linhas seguintes serão recuadas.

O modo de indicar essas referências é o seguinte:

a) Referência a publicação periódica.

- 1.º - Nome do autor ou autores, simplificados com o uso de iniciais;
- 2.º - Nome do periódico, com a abreviação indicada em «List of Periodicals Abstracted by Chemical Abstracts»;
- 3.º - Número do volume;
- 4.º - Número das páginas;
- 5.º - Ano da publicação.

Exemplo:

[13] SUKAVA, A. J. e WINKLER, C. A., *Can. Journ. Chem.*, **33**, 961 (1955).

Se o autor é desconhecido, não se usa «anônimo», suprime-se a parte relativa ao nome do autor.

Exemplo:

[7] *Chem. Eng. News*, **31**, 319 (1953).

b) Referência a livros.

- 1.º - Nome do autor ou autores, simplificado com o uso de iniciais;
- 2.º - Título do livro, entre aspas;
- 3.º - Número do volume;
- 4.º - Número da edição, se houver mais do que uma;
- 5.º - Nome e localidade do editor;
- 6.º - Data de publicação;
- 7.º - Número das páginas com a referência que interessa.

Exemplo:

[3] SZYMANOWITZ, R., «Colloidal Graphits». em «Colloidal Chemistry», vol. VI, por J. Alexander, Reinhold Publishing Corp., New York, 1945, pág. 436-56.

c) Referência a patentes.

- 1.º - Nome do autor ou autores, simplificados com o uso de iniciais;

- 2.º - Empresa proprietária da patente;
- 3.º - Número e nacionalidade da patente;
- 4.º - Data de concessão da patente.

Exemplo:

[12] THURSTON, J. T. (para American Cyanamid Co.), Patente norte-americana n.º 2525247 (10 de Out., 1950).

### 7 - *Discussão*

No fim dos artigos da classe C será incluída a discussão que possa ter havido acerca da comunicação na reunião em que foi apresentada.

### 8 - *Expressões matemáticas - Fórmulas - Nomenclaturas*

Deve ter-se o máximo cuidado na escrita das expressões matemáticas. Devem indicar-se com clareza os expoentes, letras maiúsculas e minúsculas, índices inferiores e superiores. Evite-se a repetição de expressões complicadas, representando-as com símbolos simples. As letras gregas e símbolos pouco usuais indicar-se-ão por extenso na margem do texto. É conveniente utilizar expoentes fraccionários em vez de sinais de radicais e o traço / para fracções, quando o seu uso possa economizar espaço vertical.

As equações, quer matemáticas, quer químicas, serão numeradas consecutivamente, para fácil referência.

Fórmulas de compostos que não possam ser facilmente representadas em caracteres de imprensa devem ser enviadas em desenho.

Na nomenclatura química usar-se-á, tanto quanto possível, a nomenclatura U. I. Q. P. A. Na ausência de regras de nomenclatura ou para simplificação do nome do composto, poder-se-á usar um nome de uso corrente, desde que esse nome seja definido na primeira vez que for usado.

Sempre que possível, é conveniente usar unidades do sistema Giorgi racionalizado ou as unidades habituais no caso particular a que o artigo se refira. Devem ser dadas dimensões para todos os termos menos usuais. Se se usar uma nomenclatura ou simbolismo especializado, é conveniente incluir no fim do texto, antes da bibliografia, uma secção de «Nomenclatura», com a definição e as dimensões de todos os termos utilizados.

### 9 - Tabelas - Gráficos - Figuras

Não se devem empregar, salvo casos excepcionais, tabelas e gráficos para exprimir o mesmo. Escolha-se a forma mais expressiva para o fim em vista.

As tabelas devem ter um título apropriado e ser numeradas consecutivamente, usando a numeração romana. No texto incluir-se-á só a indicação da tabela e o número respectivo. Como as tabelas são compostas à parte, devem ser dactilografadas a dois espaços, com margem largas e em folhas separadas.

Reduza-se ao mínimo o número de gráficos, incluindo num só tanto quanto o permita a clareza, as curvas que possam ser referidas ao mesmo sistema de coordenadas.

Os gráficos e desenhos devem ser executados a tinta da China em papel branco ou vegetal, com dimensões duplas ou triplas das que deverão aparecer no texto, atendendo às dimensões das páginas da Revista.

Nos gráficos, a cercadura e as curvas devem ser feitas a traço suficientemente grosso para sobressaírem bem na figura impressa reduzida. Outras linhas para coordenação, se forem necessárias, devem ser feitas a traço fino e suficientemente espaçadas. Indicam-se sempre os pontos experimentais e, se houver mais do que uma curva no mesmo gráfico, os pontos serão marcados de modo a distingui-las fácil e rapidamente.

Figuras e gráficos serão numerados consecutivamente em numeração árabe. No texto, indica-se só o número da figura ou gráfico. As legendas que lhes correspondem são dactilografadas a dois espaços em folha separada.

Letras e números nas figuras ou gráficos terão, pelo menos, 3-4,5 mm de altura, para atender à redução de  $1/2$  a  $1/3$  na gravura.

Fotografias a reproduzir devem ter grande nitidez e contraste e ser enviadas em papel brilhante com o formato de bilhete-postal, pelo menos. Quanto a título, numeração e legendas das fotografias, sigam-se as mesmas indicações para as figuras e gráficos.

### 10 - Provas

Aos autores só serão enviadas provas a granel, que devem ser devolvidas, devidamente corrigidas e juntamente com o original do trabalho, no prazo máximo de 8 dias a contar da data da expedição. Passado esse prazo, o trabalho será publicado sem correcções feitas pelo autor, ou autores. Na correcção de provas, não se admitem modificações do texto original.

11 - *Caracteres de imprensa*

Pede-se aos autores que indiquem o tipo de caracteres de imprensa que devem empregar-se, com linhas manuscritas, do modo seguinte:

Sublinhar com uma linha	————	<i>palavras em itálico</i>
Sublinhar com duas linhas	=====	<b>PALAVRAS EM VERSALETES</b>
Sublinhar com três linhas	=====	<b>PALAVRAS EM CAIXA ALTA</b>
Sublinhar com uma linha ondulada	~~~~~	<b>palavras em negro</b>
Sublinhar com uma linha descontínua	- - -	<b>p a l a v r a s e s p a ç a d a s</b>

Na falta desta indicação, usar-se-á o critério do editor ou do impressor.

12 - *Separatas*

De cada trabalho serão enviadas gratuitamente a cada autor 25 separatas. Separatas além destas 25 poderão ser adquiridas a preço de custo.

13 - *Exame dos originais*

A Comissão Redactorial, que examina todos os artigos submetidos para publicação, devolverá aos autores os originais que não se ajustem a estas normas e indicará as modificações que julgar convenientes.

14 - *Envio de originais*

Todos os originais devem ser enviados ao Director da Revista.

# Índice de Assuntos

## Secção A

Possíveis intermediários numa reacção de cor do ergosterol e do 7-de-hidro-colesterol <i>Alfredo P. Gouveia, Maria Helena R. Fonseca e A. J. A. de Gouveia ...</i>	3
Acetals macrocyclics. 1,3,6 trioxocane et 1.3 dioxepane <i>Pierre A. Laurent et Pierre Tarte ... .. .</i>	17
The action of ionizing radiations (X rays and alpha particles) on aqueous solutions of indigocarmine <i>M. C. Anta, M. L. Roda Santos and M. A. Paias ... .. .</i>	29
Separação de nióbio, tântalo e titânio por cromatografia em papel <i>J. M. Peixoto Cabral ... .. .</i>	51
Oxidação do molibdénio pentavalente, em meio sulfúrico, pela acção das radiações ionizantes <i>M. C. Anta, M. T. Silva e C. Marciano ... .. .</i>	73
Separação de nióbio de zircónio por cromatografia em papel <i>J. M. Peixoto Cabral ... .. .</i>	81
Doseamento espectrofotométrico do urânio em presença do ferro <i>Maria Fernanda Lima Lopes-Cardoso ... .. .</i>	89

## Secção B

Acerca do ensino da Química nas Faculdades de Ciências <i>Kurt Jacobsohn ... .. .</i>	67
--	----

## Secção D

Alguns aspectos do quimismo bacteriano <i>Maria Serpa dos Santos ... .. .</i>	113
A esterilização a frio de produtos alimentares por meio das radiações ionizantes <i>António Valente da Fonseca Alves da Costa ... .. .</i>	125
Normas para a colaboração na Revista ... .. .	141



## Índices dos Autores

ANTA, M. C. — 29,73

CABRAL, J. M. P. — 51, 81

COSTA, A. V. F. A. — 125

FONSECA, M. H. R. — 3

GOUVEIA, A. J. A. — 3

GOUVEIA, A. P. — 3

JACOBSON, K. — 67

LAURENT, P. A. — 17

LOPES-CARDOSO, M. F. L. — 89

MARCIANO, C. — 73

PAIAS, M. A. — 29

SANTOS, M. L. R. — 29

SANTOS, M. S. — 113

SILVA, M. T. — 73

TARTE, P. — 17





Composto e impresso  
nas Oficinas Gráficas de  
*RAMOS, AFONSO & MOITA, LDA.*  
Rua de "A Voz do Operário", 8 a 16  
(S. Vicente de Fora)  
LISBOA



