

*Revista
Portuguesa
de
Química*

Editada pela
SOCIEDADE
PORTUGUESA
DE QUÍMICA
E FÍSICA

VOL. III

DEZEMBRO 1961

N.º 3

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. III

DEZEMBRO DE 1961

N.º 3

Índice:

Secção A:

- UMA NOVA REACÇÃO DE CICLIZAÇÃO MEDIANTE A ACÇÃO DE DOIS ÁTOMOS DE METAL ALCALINO SOBRE O-DIBENZOILBENZENO — *Bernardo Jerosch Herold* 101
- CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO QUÍMICO DE PEIXE SECO DE ANGOLA — *Alfredo P. Gouveia e A. J. A. de Gouveia* 133

Secção B:

- ÂCERCA DO LIVRO «GUIA DE ANÁLISE QUÍMICA DAS ÁGUAS» DE A. HERCULANO DE CARVALHO — *R. A. Guedes de Carvalho* 155

Secção D:

- NORMAS PARA A COLABORAÇÃO NA REVISTA 157

UMA NOVA REACÇÃO DE CICLIZAÇÃO MEDIANTE A ACÇÃO DE DOIS ÁTOMOS DE METAL ALCALINO SOBRE O-DIBENZOILBENZENO (*)

BERNARDO JEROSCH HEROLD (**)

*Instituto de Química Orgânica
Universidade de Heidelberg*

1 – Introdução

1.1 – Cetilos

Em 1891 BECKMANN e PAUL [1] observaram que as soluções de certas cetonas aromáticas, por exemplo da *benzofenona*, em éter anidro reagem com o *sódio* dando origem a soluções intensamente coradas (azul no caso da benzofenona). Estas soluções são descoradas pela reacção com o oxigénio, o anidrido carbónico e a água. Devido à extrema rapidez destas reacções as soluções devem ser manejadas sob uma atmosfera inerte.

SCHLENK e os seus colaboradores retomaram em 1911 o estudo destas soluções, empregando uma técnica experimental mais apurada [2, 3, 4]. Estenderam o estudo a toda uma série de cetonas aromáticas e a vários metais alcalinos. Em muitos casos isolaram os produtos da adição dos metais alcalinos com as cetonas aromáticas e verificaram que a cada grupo carbonilo se tinha adicionado um átomo de metal alcalino.

Pelo facto de estes produtos de adição mostrarem nas suas reacções certas analogias com o trifenilmetilo, concluíram que se tratava de *radicais livres* (I-b) aos quais deram o nome de cetilos (1).

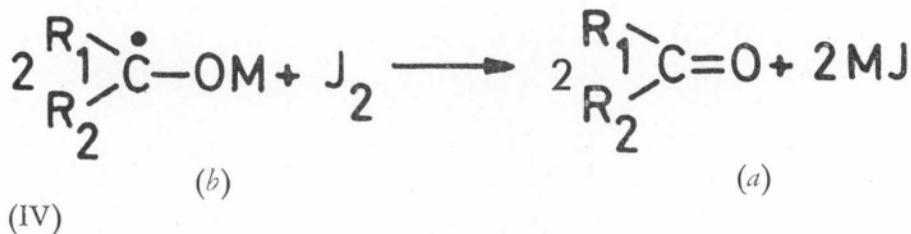
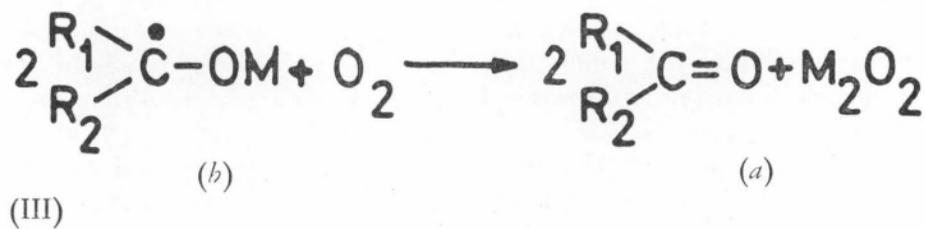
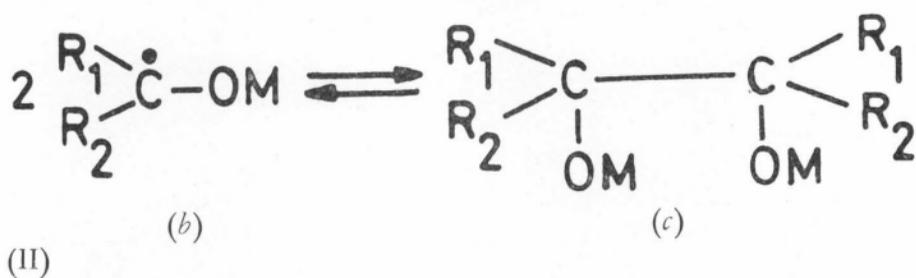
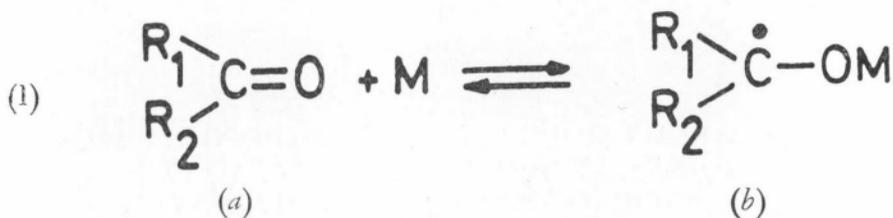
ACREE [5] tinha suposto, pelo contrário, que os compostos eram *pinacولات* (II-c).

As reacções dos produtos de adição dos metais alcalinos com as cetonas aromáticas são com efeito tais, que certos casos sugerem a estrutura cetílica (monomérica), outros a estrutura pinacólica (dimérica). As reacções de oxidação, por exemplo, sugeriram a SCHLENK a estrutura cetílica (III e IV).

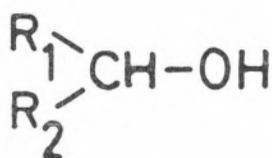
(*) Veja-se comunicação prévia em *Rev. Fac. Ciências Lisboa*, 2.^a série B 7, 155 (1960).

(**) Direcção actual: Instituto Superior Técnico, Lisboa.

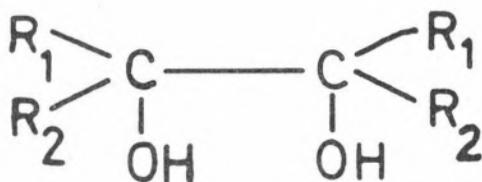
(1) Tradução do alemão «Ketyle».



A hidrólise tal como foi efectuada por SCHLENK, isto é, pela adição de água em pequenas porções à solução organometálica, conduz a uma dismutação em cetona (*a*) e álcool secundário (*V-d*), comportamento que ele não considerava em contradição com a estrutura monomérica.



(*d*)



(*e*)

(V)

BACHMANN [6] variou as condições da hidrólise de modo a evitar a alcalinidade das soluções em hidrólise. Em vez de juntar água à solução organometálica, o que tem como consequência imediata o meio tornar-se fortemente alcalino, juntou lentamente a solução organo-metálica a um excesso de ácido acético diluído. Operando com uma agitação eficiente e numa atmosfera de azoto, conseguiu obter rendimentos elevados em pinacois (*V-e*)⁽²⁾. BACHMANN interpretou este comportamento do seguinte modo: *os produtos de adição dos metais alcalinos às cetonas aromáticas são constituídos por misturas de cetilos (radicais livres) e pinacولات (II) em equilíbrio.*

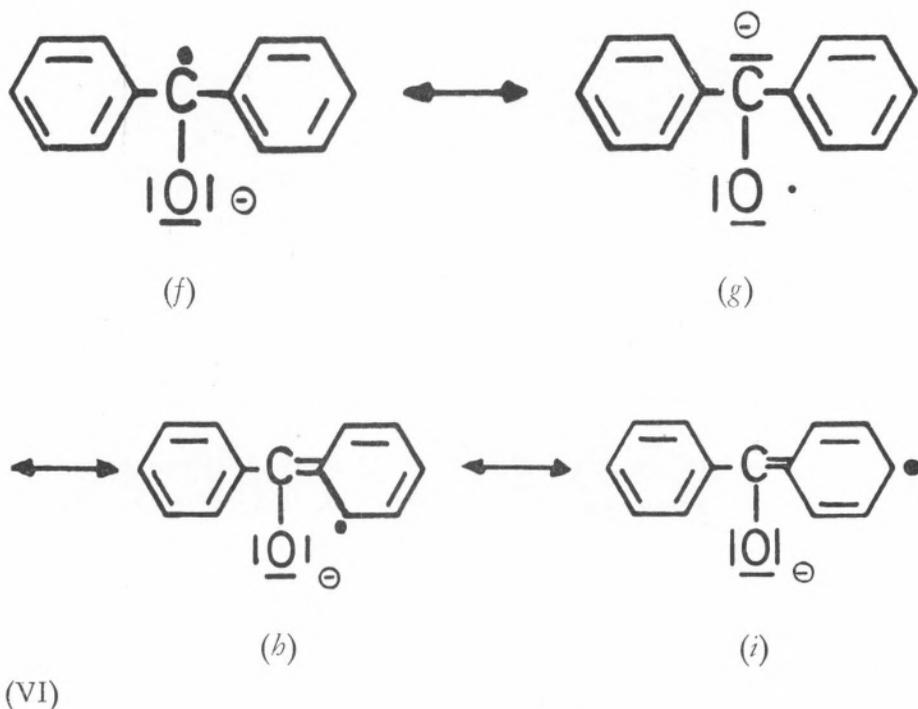
Tentou-se estudar as constantes de equilíbrio por meio da determinação ebulioscópica do peso molecular, mas verificou-se que este método conduz neste caso a valores pouco reprodutíveis [7].

Em 1934 DOESCHER e WHELAND [8] e, separadamente SUGDEN [9], verificaram com o auxílio da balança magnética de Gouy que as soluções dos produtos de adição do sódio com as cetonas aromáticas são *paramagnéticas*, bem como os mesmos produtos no estado sólido [10]. MÜLLER [11 a

(²) Pinacois também já tinham sido encontrados por BECKMANN e PAUL (ref. 1) e ACREE (ref. 5).

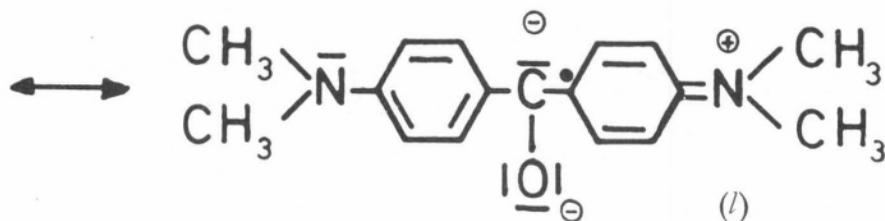
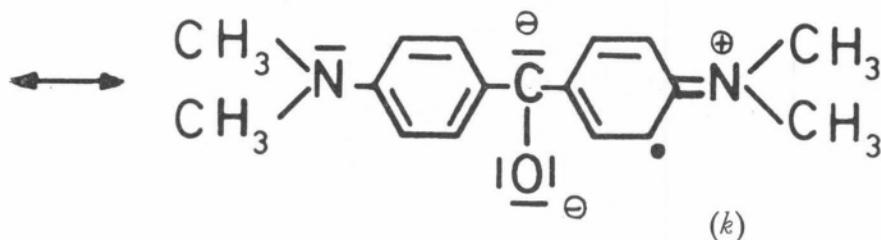
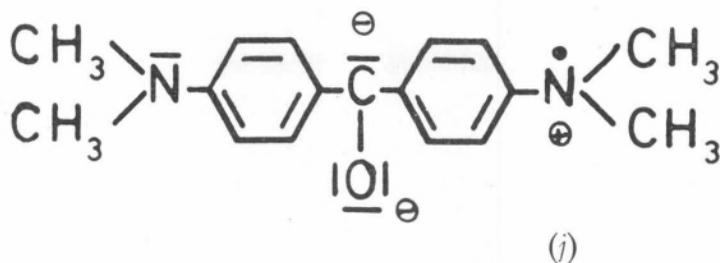
14] e colaboradores estenderam este método ao estudo dum grande número de produtos de adição de metais alcalinos a cetonas aromáticas, calculando, a partir dos valores das susceptibilidades magnéticas, os teores em radical livre (cetilo).

Para o *composto monopotássico da benzofenona* encontraram por exemplo 77 % *sob a forma de radical* (cetilo). A estabilidade do cetilo é explicada pela possibilidade de se escrever um número considerável de estruturas mesoméricas que se supõe não diferirem grandemente entre si na sua energia (VI-f, g, h, i) [14].



O *composto monopotássico da fenil-p-difenilil-cetona* apresenta mais estruturas mesoméricas e não admira portanto ter-se encontrado um *conteúdo em radical livre* de 80 %. Finalmente, o *composto monopotássico da N, N, N', N'-tetrametil-4, 4'-diamino-benzofenona* encontra-se a 96 % *sob a forma de cetilo*. Este facto é explicado pela elevada energia de ressonância

deste radical e que é devida ao elevado efeito mesomérico dos grupos dime-tilamínicos que provocam uma maior deslocalização do electrão livre. (Estruturas VII-j, k, l) [14].



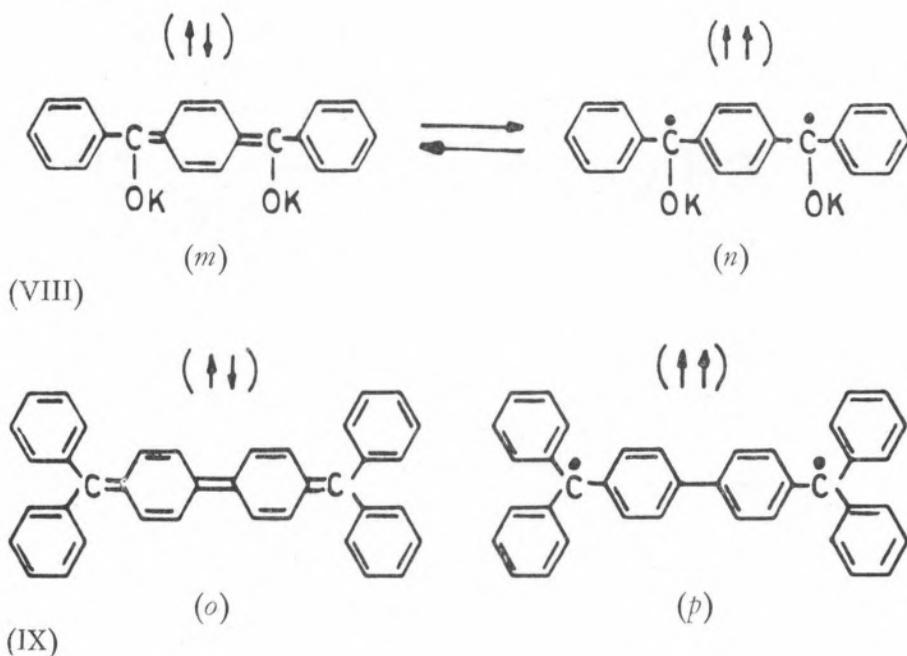
(VII)

1.2 - Dicetilos

Dos dicetilos que até à data foram estudados interessa mencionar aqui, sobretudo, os *compostos dipotássicos* do *p*- e do *m*-dibenzoilbenzeno.

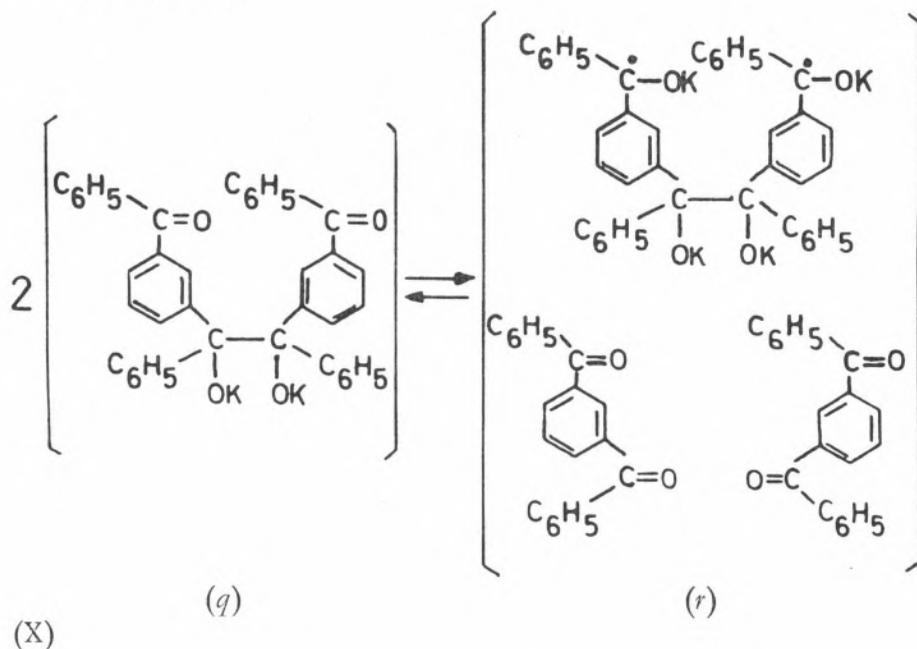
O primeiro foi preparado por SCHLENK [3] por adição duma solução benzénica de *p*-dibenzoilbenzeno a uma solução etérea de *fenil-p*-difenílil-cetona-potássio.

O precipitado que se forma contém um átomo de potássio por cada grupo carbonilo. MÜLLER [13] mediu a susceptibilidade magnética deste composto com a balança de Gouy e chegou à conclusão que o composto é predominantemente diamagnético e considera-o como um caso análogo ao 4, 4'-bis-(difenilmetil)-difenilo (*hidrocarboneto de Tschitschibabin*) [15] que é igualmente diamagnético [16]. Por essa razão atribuiu a estes compostos uma estrutura quinónica (todos os spins electrónicos saturados, VIII-*m* e IX-*o*). Pesquisas modernas [17] pelo método da ressonância magnética electrónica mostram, porém, que em solução 0,005 molar, 4-5 % do hidrocarboneto de Tschitschibabin se encontra sob a forma de *triplete* (dois electrões com spins paralelos, IX-*p*). O paramagnetismo devido a esta percentagem tão pequena não pode ser detectado pela balança de Gouy, visto ser da ordem de grandeza do erro inerente ao método. Por esta razão pode-se concluir que é possível que o p-dibenzoilbenzeno-dipotássio também contenha uma pequena percentagem de *triplete* (VIII-*n*).

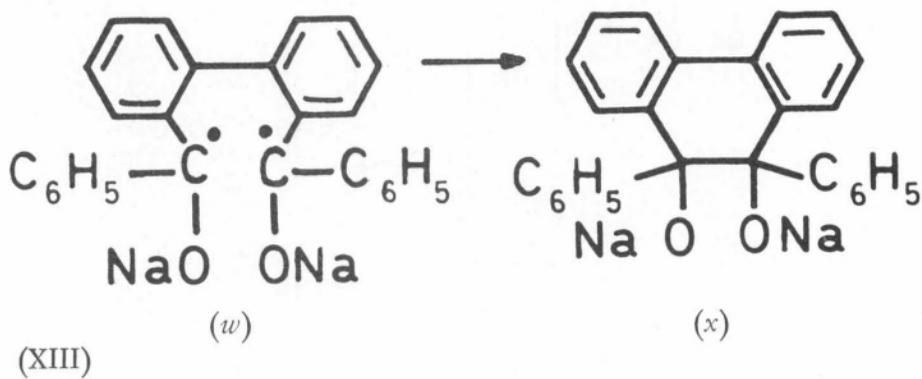
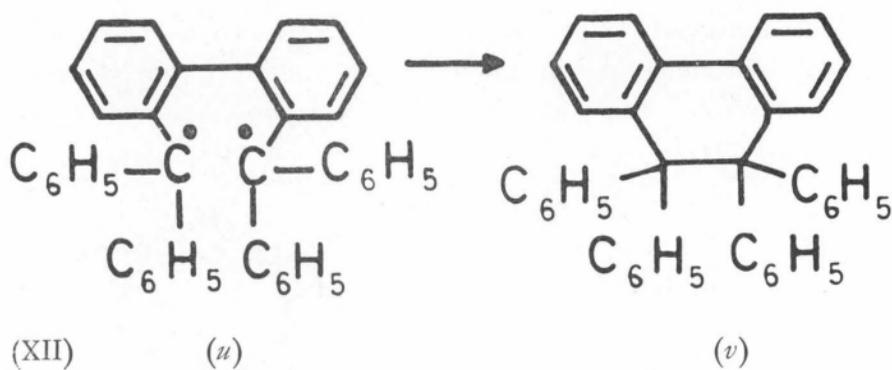
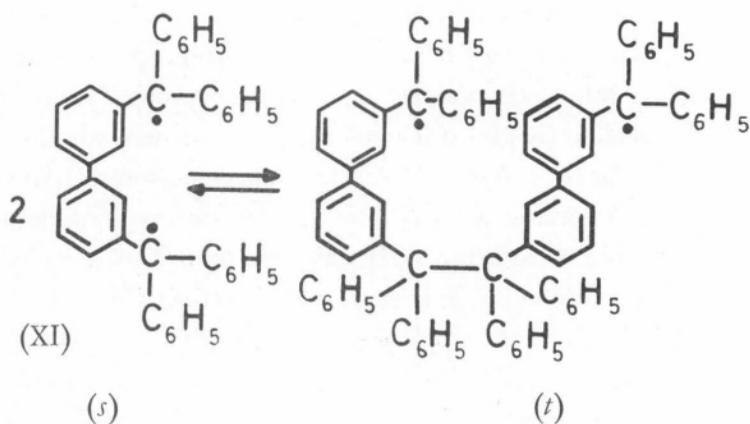


Até à data ainda não se conseguiu obter o *composto dipotássico do m-dibenzoilbenzeno*. Conforme se faz reagir o *m-dibenzoilbenzeno* com uma

quantidade equimolar de fenil-bifenilcetona-potássio ou com um excesso, obtém-se um composto monopotássico diamagnético ou paramagnético ⁽³⁾, respectivamente. MÜLLER supõe que o primeiro se encontra totalmente sob a forma de pinacolato (X-*q*) e o segundo sob a forma dum equilíbrio entre pinacolato (diamagnético, X-*q*) e um complexo quinidrónico (paramagnético, X-*r*). Pela deslocação do equilíbrio para a direita com a elevação da temperatura, explica o aumento do paramagnetismo com a temperatura. O complexo é constituído por duas moléculas de cetona e uma do diradical figurado, no qual não há interação entre os electrões livres. Um diradical comparável com este é o 3, 3'-bis-(difenilmetil)-difenilo (hidrocarboneto de SCHLENK) [18] que também é paramagnético [16]. Nestes diradicaís não é possível obter uma saturação intramolecular dos dois electrões livres tal como no hidrocarboneto de Tschitschibabin ou no composto dipotássico do p-dibenzoilbenzeno. O paramagnetismo observado no hidrocarboneto de Schlenk não atinge, porém, o valor correspondente a dois electrões livres por molécula. Este facto é explicado pela *associação intermolecular* [16] (XI-*s, t*).



(¹) Ref. 13. Veja-se também ref. 3.



Quanto ao *composto dipotássico* do *o*-dibenzoilbenzeno (XIV-a) não tinha havido, até à data, tentativas de o isolar, de modo que se achou oportuno estudá-lo. Mais acima compararam-se os compostos dipotássicos do *p*- e do *m*-dibenzoilbenzeno com o 4,4'- e o 3,3'-bis-(difenilmetil)-difenilo (hidrocarbonetos de Tschitschibabin, IX, e Schlenk, XI) respectivamente. Estendendo esta analogia ao *o*-dibenzoilbenzeno devíamos compará-lo com o 2,2'-bis-(difenilmetil)-difenilo (XII-u). G. WITTIG [19] tentou isolar este hidrocarboneto e verificou que, em vez dele, se obtinha o produto da sua ciclicização, o 9,9,10,10-tetrafenil-9,10-dihidrofenantreno (XII-v.).

Ver-se-á mais adiante que é mais útil comparar os compostos dimetálicos do *o*-dibenzoilbenzeno com o 1,2-bis-(difenilmetil)-benzeno (XVII-b) e que o 2,2'-bis-(difenilmetil)-difenilo (XII-u) deve ser antes comparado com o *composto disódico* do 2,2'-dibenzoil-difenilo (XIII-w) que também se cicliza imediatamente para dar, após hidrólise, 9,10-difenil-9,10-dihidrofenantrenodiol-9,10 (XIII-x) [6].

2 - Resultados (*)

Agitou-se *o*-dibenzoilbenzeno (XIV-a) e sódio na relação molar de 1:2 com éter anidro numa atmosfera inerte. Verificou-se o aparecimento duma cor castanho-avermelhada cada vez mais intensa. Após 26 dias de agitação uma grande parte do sódio tinha sido consumida. A mistura foi então decomposta pela adição dum excesso de metanol seguida de água. Da mistura assim obtida conseguiu recuperar-se 17 % do *o*-dibenzoilbenzeno, obtendo-se 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 (XX-v) com um rendimento de 12 %. A prova de se ter obtido este composto foi feita por comparação do produto obtido com uma amostra autêntica de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 [20].

Com o objectivo de encontrar as condições óptimas desta reacção estudou-se a influência duma série de solventes sobre o seu decurso. Efectuou-se a reacção da maneira acima descrita, *variando os solventes*. Os reagentes foram misturados nas quatro experiências efectuadas ao mesmo tempo e as misturas postas a agitar simultâneamente. Foram mantidas em agitação até, após alguns dias, numa delas (com tetrahydrofurano) todo o sódio ter sido consumido. Nas outras experiências retirou-se o sódio que ainda não tinha reagido e decompuseram-se as mis-

(*) A descrição detalhada das experiências encontra-se mais adiante.

turas tal como foi atrás descrito. A *tabela I* reúne os *rendimentos em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9* obtidos nestas experiências. Para determinar os rendimentos das reacções imaginou-se um processo de doseamento colorimétrico descrito na parte experimental e que conduz a resultados bastante reprodutíveis. Pelo emprego deste processo os rendimentos indicados na *tabela I* têm um significado um pouco mais quantitativo do que os rendimentos preparativos usuais. Mostrou este estudo que, dos solventes empregados, o tetrahidrofurano é o mais conveniente, seguindo-se o 1, 2-dimetoxi-etano e o dioxano, encontrando-se em último lugar o éter etílico originalmente empregado.

Tendo o tetrahidrofurano se revelado como sendo o solvente indicado para esta reacção, manteve-se o seu emprego no estudo que se seguiu sobre a *influência do metal alcalino*. De novo se fez uma série de experiências simultâneas com lítio, sódio e potássio. A mistura contendo potássio foi a primeira na qual se verificou a dissolução total do metal alcalino, enquanto que nas outras ainda havia sódio e lítio respectivamente por reagir. Decompuseram-se então as misturas e os excessos de metal alcalino presentes pela adição de metanol e água tal como nas outras experiências. Os rendimentos obtidos nesta série encontram-se reunidos na *tabela II*. Os rendimentos registados nesta *tabela* são rendimentos reais, devido aos cuidados que se tomaram na sua determinação (v. *Parte Experimental*). No caso do *potássio* verificou-se um certo aumento do rendimento em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 (49 %) em comparação com o sódio (27 % na experiência simultânea (comp. *tabela II*) e 43 %, se se agitar até ao consumo total do sódio, comp. *tabela I*) e o aparecimento de *antraquinona* como produto secundário (28 %). Neste caso conseguiu provar-se a formação de *benzeno* antes da metanólise. No caso do *lítio* a formação de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 é reprimida a favor da formação duma substância incolor⁽⁵⁾ que, por acidificação, conduz a 1, 3-difenil-isobenzofurano (XVI-f) (17 %), que foi identificado por comparação com uma amostra autêntica [21].

Do exposto pode concluir-se que, conforme as condições em que se efectua a reacção do o-dibenzoilbenzeno com os metais alcalinos, esta pode conduzir tanto à 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 como ao difenil-isobenzofu-

⁽⁵⁾ Nota adicionada posteriormente à recepção do manuscrito. Essa substância é o 1,1',3,3'-Tetrafenil-3,3'-dihidroxi-difitalanilo-(1,1'), veja-se B. J. Herold, *Tetrahedron Letters* 1962, 75.

rano. Para a preparação do último por redução do o-dibenzoil-benzeno há um processo melhor [23]. A 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9, no entanto, costuma ser preparada pela reacção da antraquinona com o brometo de fenil-magnésio [20], uma reacção em que se produz sempre uma percentagem considerável de 9,10-difenil-9,10-dihidroxi-9,10-dihidroantraceno, de modo que se tem de separar estes dois produtos um do outro e do excesso de antraquinona presente. Tendo em vista estas desvantagens, a reacção de que este estudo trata pode ser proposta como alternativa para a preparação da 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9, uma vez que existe um processo expedito para preparar o o-dibenzoilbenzeno [24].

TABELA I

Solvente	Rendimentos em 10-fenil-10-hidroxi- -antrona-9 %
Éter etílico	< 6
Dioxano	25
1,2-Dimetoxi-etano	27
Tetrahidrofurano	43

Por uma alteração da técnica de preparação consegue-se aumentar o rendimento em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 até 58 %⁽⁶⁾.

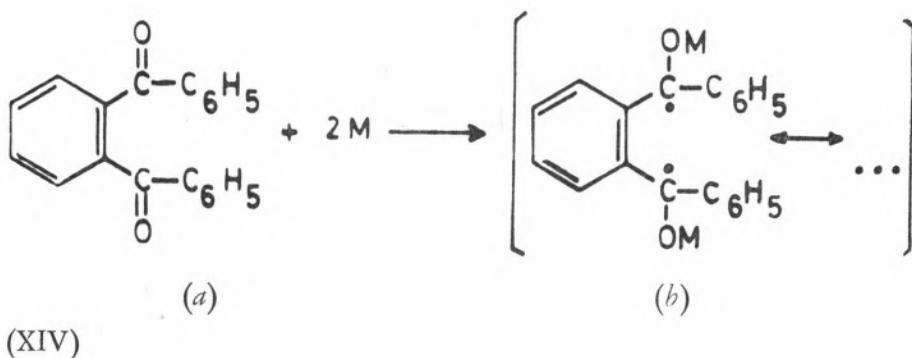
TABELA II

Metal	10-Fenil- -10-hidroxi- -antrona-9 %	Antraquinona %	1,3-Difenil- -isobenzofu- -rano %
Li	< 7	0	17
Na	27	0	0
K	49	28	0

⁽⁶⁾ Veja-se B. J. Herold, *Dissertação Univ. de Heidelberg*, 1961.

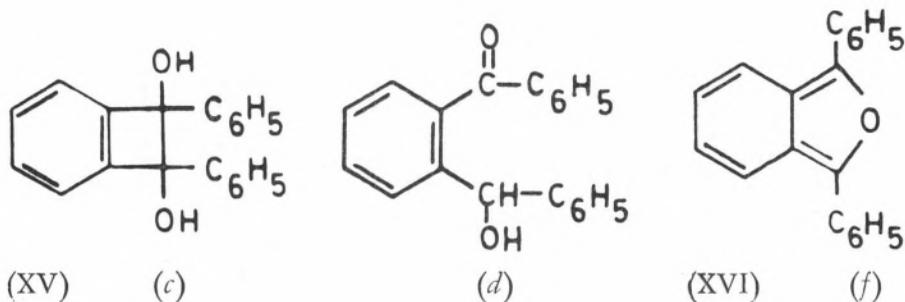
3 - Discussão

Tendo em vista o exposto na *Introdução*, é de esperar que pela adição de dois átomos de metal alcalino aos grupos carbonilo se obtenha um produto intermediário XIV-*b*.



Se XIV-*b* se comportasse como os produtos intermediários XII-*u* e XIII-*w* obter-se-ia por ciclização o pinacolato correspondente que, por hidrólise, podia dar 1,2-difenil-1,2-dihidroxi-ciclobuteno (XV-*c*), uma substância que até à data não se conhece. Sabe-se que é possível obter uma ciclização do produto XVIII-*k* conduzindo a 1,2-difenil-ciclobuteno (XVIII-*i*) como mostram os trabalhos de JENSEN e COLEMAN [25].

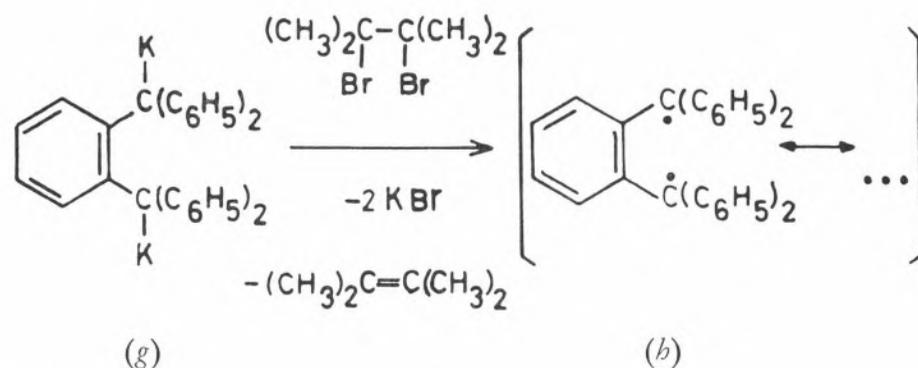
As razões por que nas experiências com o-dibenzoilbenzeno não se obteve, no entanto, XV-*c* devem residir na repulsão electrostática dos dois átomos de oxigénio portadores de cargas negativas, o que dificulta ainda mais a formação do anel ciclobuténico que já por si é muito tenso. Não admira, por estas razões, o intermediário XIV-*b* ter procurado uma forma diferente de se estabilizar.



Normalmente as ciclizações que conduzem a sistemas antracénicos são obtidas por *catálise ácida* [26]. Para ter a certeza de que a ciclização não ocorre posteriormente à metanólise, efectuámos algumas experiências nas quais evitámos estritamente o contacto com toda a espécie de agentes ácidos nas operações necessárias para isolar a 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9.

Ciclizações obtidas por *catálise básica* são pouco conhecidas e o único exemplo que se conseguiu encontrar na literatura [27], não elucida a presente reacção.

A chave para a sua compreensão encontrou-se num trabalho de WITTIG e LEO [28]. Estes autores tentaram sintetizar o 1,2-bis-(difenílmetil)-benzeno (XVII-b). Em lugar de obterem este hidrocarboneto, observaram uma ciclização, conduzindo ao 9,9,10-trifenil-9,10-dihidroantraceno (XIX-p; $R_1 = R_2 = C_6H_5$).

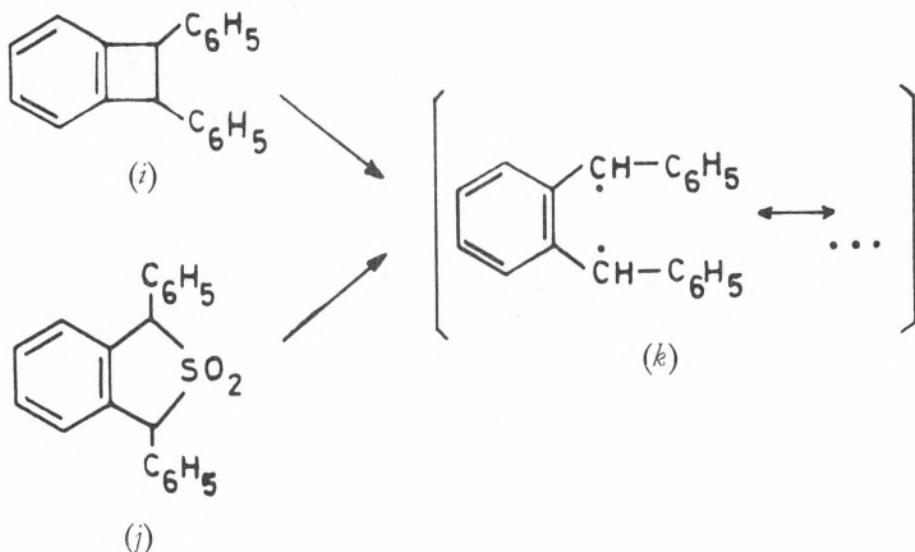


(XVII)

Uma ciclização semelhante foi obtida por STAUDINGER e PFENNINGER [29] por *pirólise do 2,2-dióxido de 1,1,3-trifenil-1,3-dihidro-isotio-nafteno*, todavia, não conseguiram identificar os produtos da reacção. Recentemente esta reacção foi esclarecida por KLOOSTERZIEL e BACKER [30].

JENSEN e COLEMAN [25] observaram uma ciclização, pertencendo a este mesmo tipo quando pirolisaram o 1,2-difenil-benzociclobuteno (XVIII-i). Obtiveram o mesmo produto, o 9-fenil-9,10-dihidroantraceno (XIX-p; $R_1 = R_2 = H$), que CAVA e colaboradores [23] obtiveram por pirólise do 2,2-dióxido de 1,3-difenil-1,3-dihidro-isotio-nafteno (XVIII-j) (piró-

lise absolutamente análoga à acima mencionada do 2,2-dióxido de 1,1,3-trifenil-1,3-dihidro-isotiofteno).



(XVIII)

CAVA e colaboradores [23] conseguiram demonstrar a existência do produto intermediário (XVIII-*k* ou XIX-*l, m, n*; $R_1 = R_2 = H$) efectuando a pirólise em presença dum filodieno que capta uma parte do intermediário numa reacção de Diels-Alder.

Deste conjunto de trabalhos pode tirar-se a conclusão que o mecanismo proposto por WITTIG [28] para estas ciclizações está certo.

A estrutura electrónica dos intermediários do tipo (XIX-*l, m, n*) não tem sido investigada por métodos físicos, mas o facto de conduzirem a ciclizações e a uma síntese diénica sugerem, talvez, não se tratar de tripletes ou diradicaís (⁷), mas antes de estruturas orto-quinoides, com uma densidade electrónica elevada nos dois átomos de carbono que na estrutura XIX-*l* são formalmente trivalentes. O mesmo se aplica aos intermediários XII-*u* e XIII-*w* (⁸).

(⁷) Não caso de ser um diradical ou triplete, deve suprimir-se a estrutura XIX-*m* na mesomeria.

(⁸) Comp. ref. 23, 25 e 49.

Voltando à reacção do o-dibenzoilbenzeno com os metais alcalinos, pode-se afirmar que a cada grupo carbonilo se adiciona um átomo de sódio. Com efeito as experiências mostram que sempre que imediatamente antes da metanólise havia metal alcalino por reagir, os rendimentos em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 eram baixos, só se tendo obtido os rendimentos máximos quando dois átomos de sódio se tinham adicionado ao o-dibenzoilbenzeno.

Como o o-dibenzoilbenzeno e a 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 são isómeros ($C_{20}H_{14}O_2$) também se pensou numa transposição molecular catalisada pelo metal alcalino. No entanto, verificou-se que com uma quantidade catalítica de sódio, agindo nas mesmas condições sobre o o-dibenzoilbenzeno, não se produz a transformação desejada, recuperando-se quase quantitativamente o o-dibenzoilbenzeno.

Pode-se portanto admitir, que primeiramente se forma o intermediário XIV-b (ou XIX-l; $R_1 = R_2 = OM$). Por analogia com o modo como reagem os outros intermediários do tipo XIX-l pode-se concluir que seguidamente se produz uma ciclização, que conduz ao produto XIX-p; $R_1 = R_2 = OM$ (ou XX-q). Este composto devia dar por hidrólise o 9-fenil-9, 10-dihidroxi-9, 10-dihidroantraceno, substância que até à data não se conseguiu sintetizar. Mas o que se obtém de facto não é este produto, mas o produto da sua oxidação, a 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 (XX-r) (†).

Sobre a formação de 28 % de antraquinona no caso da reacção com dois átomos de potássio em tetrahydrofurano apenas há a acrescentar que depois de todo o potássio ter sido consumido se evaporou o solvente sob azoto e se conseguiu detectar nesse solvente benzeno, que se formou nesta reacção com um rendimento de cerca de 15 %. Isto é uma indicação forte de que o intermediário eliminou fenilo como anião. Sabe-se que os compostos organo-alcalinos do tipo do fenil-potássio decompõem os solventes etéreos, encontrando-se entre os produtos da reacção o hidrocarboneto correspondente, neste caso o benzeno [33].

No caso particular do fenil-potássio não tem sido investigada esta reacção, mas das diferenças entre as reactividades dos compostos organo-metálicos dos vários metais alcalinos⁽⁹⁾ pode-se concluir com bastante

⁽⁹⁾ Veja-se por exemplo H. GILMAN e R. V. YOUNG, *J. org. Chemistry*, 1, 315 (1957); E. E. TURNER, *J. chem. Soc. (London)*, 1953, 861.

H. GILMAN e R. H. KIRBY, *J. Amer. chem. Soc.*, 58, 2074 (1936) e D. BRYCE-SMITH e O fenil-potássio é preparado em solução de hidrocarbonetos, visto ser de temer um ataque pelos solventes etéreos, que, nos casos em que não são decompostos, são mais convenientes. (Veja-se também ref. 34).

(†) Sobre a natureza desta oxidação veja-se B. J. Herold, *Dissertação Univ. de Heidelberg* 1961.

segurança que o fenil-potássio eliminado nesta reacção decompõe imediatamente o tetrahydrofurano, formando-se benzeno e outros produtos.

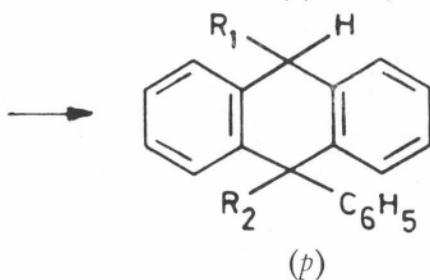
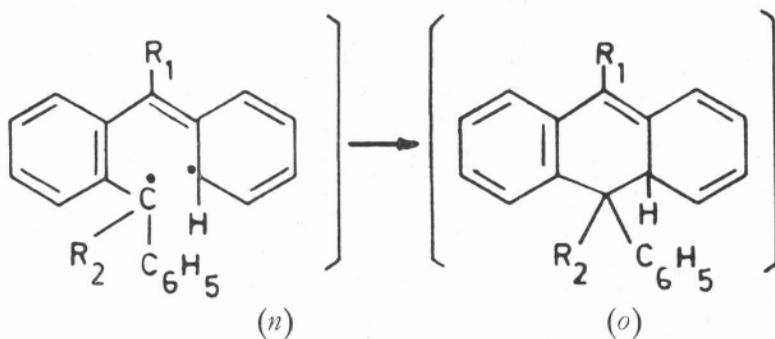
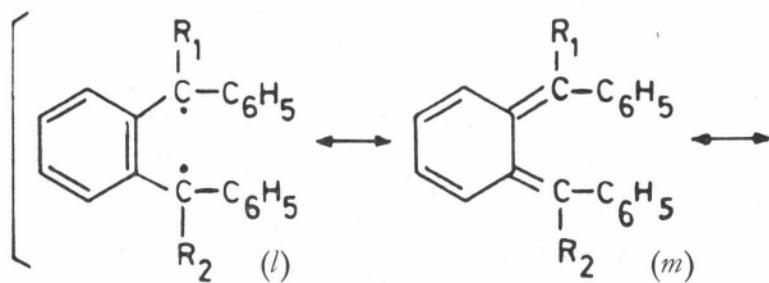
Para produzir antraquinona não basta porém eliminar o anião fenilo, é preciso oxidar como no caso da formação de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9. A reacção do redox responsável pelo aparecimento da 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 e da antraquinona está sendo objecto de pesquisas.

Na literatura encontram-se alguns exemplos em que produtos da associação de duas moléculas de cetilo se estabilizam por eliminação de aniões [35]. Como se trata de cetilos iodomagnesianos [36] em que a ligação metal-resto orgânico é menos polar que nos respectivos compostos alcalinos, com mais forte razão se pode admitir, no caso presente, a eliminação de aniões.

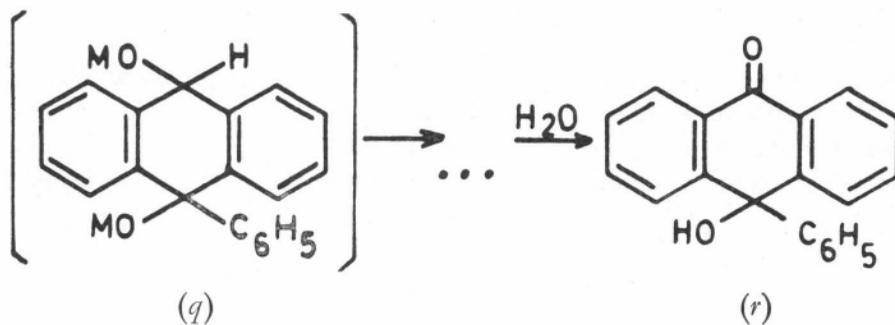
É interessante comparar a adição dos metais alcalinos ao *o*-dibenzoilbenzeno com a adição do magnésio monovalente ao *o*-dimesitoilbenzeno estudada por FUSON [37] e colaboradores. Estes autores obtiveram, após hidrólise, a hidroxi-cetona correspondente a XV-d, admitindo que intermèdiariamente se forma 1,3-dimesitoil-isobenzofurano que não conseguiram isolar. A ciclização, conduzindo a um sistema dihidroantracénico, não se pode produzir neste caso, visto os grupos metilo bloquearem as posições correspondentes.

Resta finalmente discutir a *acção dos solventes* sobre o decurso da reacção. A ordem crescente dos rendimentos em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 coincide com a ordem crescente da *basicidade dos éteres*. Com efeito, há trabalhos que mostram que a basicidade dos éteres aumenta na ordem éter etílico, dioxano, tetrahydrofurano [38, 39]. A maior basicidade do 1,2-dimetoxi-etano em relação ao éter etílico é ilustrada pela superioridade do primeiro na solvatação de catiões metálicos [40, 41], tendo-se mesmo observado a formação de compostos de adição a que se atribui uma estrutura com um catião-quelato [42].

A ordem crescente dos rendimentos em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 na ordem éter etílico < dioxano \approx 1,2-dimetoxi-etano < tetrahydrofurano, mostra que quanto maior for a energia de solvatação do catião metálico pelo éter, mais completamente a reacção decorre no sentido desta ciclização.



(XIX)



(XX)

DESCRIÇÃO DAS EXPERIÊNCIAS

Notas preliminares. Os pontos de fusão foram determinados num aparelho da casa Büchi segundo uma patente de Dr. Tottoli e foram corrigidos.

O éter etílico, dioxano, 1, 2-dimetoxi-etano e tetrahidrofurano foram desidratados por ebulição sobre arame de sódio, até uma pequena quantidade de benzofenona provocar o aparecimento da cor azul da benzofenona-sódio. Seguidamente foram destilados e guardados sobre arame de sódio.

Os solventes empregados na recristalização e na cromatografia foram destilados.

Os adsorventes empregados na cromatografia de coluna foram: óxido de alumínio estandardizado segundo Brockmann (neutro) da casa Merck e sílica gel para cromatografia da mesma casa.

O o-dibenzoilbenzeno foi preparado segundo GUYOT e CATEL [43] ou ultimamente segundo JENSEN [24] e possuía um ponto de fusão 147-148° (lit: 147,6-148,8° [24] ⁽¹⁰⁾).

Nas reacções efectuadas sob uma atmosfera inerte, utilizou-se azoto purificado e tubos de Schlenk fechados à chama ⁽¹¹⁾.

o-Dibenzoilbenzeno e sódio na relação 1:2 em éter etílico. 5,72 g (20 mmole) de o-dibenzoilbenzeno foram introduzidos num tubo de Schlenk sob azoto, contendo alguns cacos de vidro ⁽¹²⁾. Seguidamente juntou-se 50 ml de éter anidro e por fim 0,92 g (40 mat) de sódio. Depois de alguns dias de agitação a mistura tinha adquirido uma cor de sangue e após 26 dias de agitação o sódio ainda não tinha sido totalmente consumido. Decompôs-se então a mistura, juntando-lhe, sob azoto, um excesso de metanol

⁽¹⁰⁾ Aos Srs. cand. chem. M. Wagner, C. v. Sonntag e U. Mayer agradece-se terem preparado uma quantidade maior de o-dibenzoilbenzeno.

⁽¹¹⁾ Veja-se E. Müller, *Methoden der organischen Chemie* (Houben-Weyl), 4.ª ed., vol. I-2, págs. 327, 339 e 340.

⁽¹²⁾ O fim dos cacos de vidro é o de renovar constantemente durante a agitação a superfície do sódio.

seguido de água e, passados alguns minutos, lançou-se a mistura em 2 l de água. Da parte insolúvel em água e dos extractos com éter da fase aquosa conseguiu isolar-se com dificuldade 0,70 g (12 %) de *10-fenil-10-hidroxi-antrona-9* PF 214-215° (lit: 215° [44]) que foi identificado com uma preparação autêntica segundo GUYOT e HALLER, pelo método do ponto de fusão misto e pela identidade dos espectros infravermelhos. Além disso recuperou-se 0,97 g (17 %) de *o*-dibenzoilbenzeno. (As operações de isolamento são descritas com mais detalhe noutros exemplos mais diante.)

o-Dibenzoilbenzeno com uma quantidade catalítica de sódio em éter etílico. 1,43 g (5 mmoles) de *o*-dibenzoilbenzeno e 5 mg (0,2 mat) de sódio foram postos a reagir como nos exemplos anteriores. Depois de se ter agitado durante uma noite, o sódio tinha sido consumido, mas a mistura continuava praticamente incolor. Decompôs-se, adicionando água. A parte insolúvel em éter e o resíduo da evaporação do éter eram constituídos quase exclusivamente pelo *o*-dibenzoilbenzeno inalterado. O contacto com os vapores ácidos da atmosfera do laboratório corou de amarelo o *o*-dibenzoilbenzeno recuperado (presumivelmente vestígios de 1, 3-difenil-isobenzofurano sem que, no entanto, os vestígios fossem suficientes para baixar sensivelmente o ponto de fusão do *o*-dibenzoilbenzeno).

Estudo de influência do solvente sobre o decurso da reacção do o-dibenzoilbenzeno com o sódio na relação 1:2. Em cada um de quatro tubos de Schlenk iguais, contendo alguns cacos de vidro foram introduzidos sob azoto 1,43 g (5 mmole) de *o*-dibenzoilbenzeno. Seguidamente juntaram-se 40 ml dos seguintes solventes anidros, respectivamente: éter etílico, dioxano, 1, 2-dimetoxi-etano e tetrahydrofurano. Finalmente deitou-se em cada tubo 0,23 g (10 mat) de sódio e fecharam-se os tubos. Depois de três dias de agitação na mesma máquina e três dias de repouso, os conteúdos apresentavam-se com um aspecto viscoso e intensamente corado (de vermelho a castanho). Abriram-se os tubos sob azoto e tentou-se retirar mecânicamente o sódio que não tinha sido atacado. Verificou-se que apenas no caso do éter etílico havia uma quantidade suficiente de sódio para ser retirado desta maneira (com auxílio duma agulha de *croché*). Seguidamente deitou-se em todos os quatro tubos mercúrio em quantidade suficiente para amalgamar o excesso de sódio. Fecharam-se novamente os tubos e agitaram-se durante 24 horas. Após esta operação decompuseram-se as misturas pela adição dum excesso de metanol. Durante a decomposição observou-se um desprendimento de bolhas gasosas (hidrogénio resultante da reacção do metanol com o excesso de sódio amalgamado). Depois de cessar o desprendimento gasoso juntou-se água

e, após alguns minutos, lançaram-se os conteúdos em 2 l de água, separando-se substâncias oleosas. No dia seguinte os óleos tinham solidificado e os solventes evaporado. As quatro suspensões foram filtradas, verificando-se que o processo mais conveniente de evitar uma filtração demasiado longa consiste em filtrar através duma camada de areia limpa, com que se cobre um papel de filtro colocado no fundo dum funil de Büchner. O resíduo da filtração é extraído da areia, depois de seca num exsicador, com auxílio dum solvente apropriado, neste caso acetato de etilo.

O filtrado aquoso foi extraído em todos os casos com éter e a solução etérea secada e evaporada à secura. Estes resíduos só foram adicionados aos da filtração precedente nos casos em que um ensaio com ácido sulfúrico concentrado dava a reacção de halocromia purpúrea característica da 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 e muito sensível [45]. Os quatro resíduos foram então dissolvidos parcialmente em 30 ml de tetracloreto de carbono e a suspensão lançada no topo duma coluna cromatográfica com 40 g de sílica gel. Por eluição com tetracloreto de carbono removeram-se pequenas quantidades variáveis de 1,3-difenil-isobenzofurano, e por eluição com benzeno obteve-se uma mistura de o-dibenzoilbenzeno e 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 contaminada por vestígios de outras substâncias incolores. Com auxílio da reacção de halocromia em ácido sulfúrico reconheceram-se as fracções que continham 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 que foram reunidas, dissolvidas em cloreto de metileno e filtradas através de 20 g de óxido de alumínio. Por eluição com cloreto de metileno e com auxílio da reacção de halocromia conseguiu-se separar as fracções que continham a substância desejada. Pela sensibilidade desta reacção, que se pode efectuar como «spot-test», conseguiu-se dar a estas operações um carácter quantitativo. Os resíduos da evaporação do cloreto de metileno eram incolores e cristalinos e pesavam no caso do éter etílico 0,69 g, do dioxano 0,62 g, do 1,2-dimetoxi-etano 0,91 g e do tetrahydrofurano 0,98 g. Os pontos de fusão destes resíduos mostraram tratar-se de misturas. Estas misturas foram analisadas pelo processo colorimétrico exposto mais adiante, que conduziu aos rendimentos indicados na tabela I.

Num dos casos (tetrahydrofurano) a mistura foi separada por recristalizações sucessivas em benzeno, com aproveitamento das águas mães, tendo-se obtido 0,606 g de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9, PF 214-215°, o que corresponde a um rendimento de 42 %.

Rendimentos preparativos obtidos por recristalizações de produtos são sempre menores que os rendimentos reais, pelas perdas inevitáveis nas recristalizações. Os rendimentos obtidos colorimetricamente podem, pelo

contrário, vir afectados dum erro positivo, devido à amostra poder vir contaminada por outras substâncias que absorvam radiações do mesmo comprimento de onda. 42 e 43 % constituem, portanto, os limites entre os quais se encontra o rendimento real, o que mostra que os rendimentos indicados na tabela I merecem confiança.

Só no caso do éter etílico o processo colorimétrico não conduziu a resultados de confiança, visto a curva de absorção não apresentar o habitual máximo a 490 m μ . (v. parágrafo seguinte). Tomou-se a absorção correspondente a 490 m μ como base para um valor que constitui o limite superior do rendimento em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 (6 %).

Processo de doseamento colorimétrico da 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9.

A propriedade de a 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 se dissolver em ácido sulfúrico concentrado com uma cor purpúrea intensa já foi observada por A. v. Bayer [45]. Deixando as soluções em repouso a cor passa a azul e seguidamente a violeta [45, 46]. O espectro desta solução violeta tem um máximo de absorção no comprimento de onda 490 m μ . A intensidade desta banda varia com o tempo, de modo que, à primeira vista, não parece prestar-se a dosagens colorimétricas. No entanto, uma série de soluções padrão preparadas ao mesmo tempo e deixadas em repouso durante 48 horas segue a lei de Lambert-Beer como mostra a fig. 1.

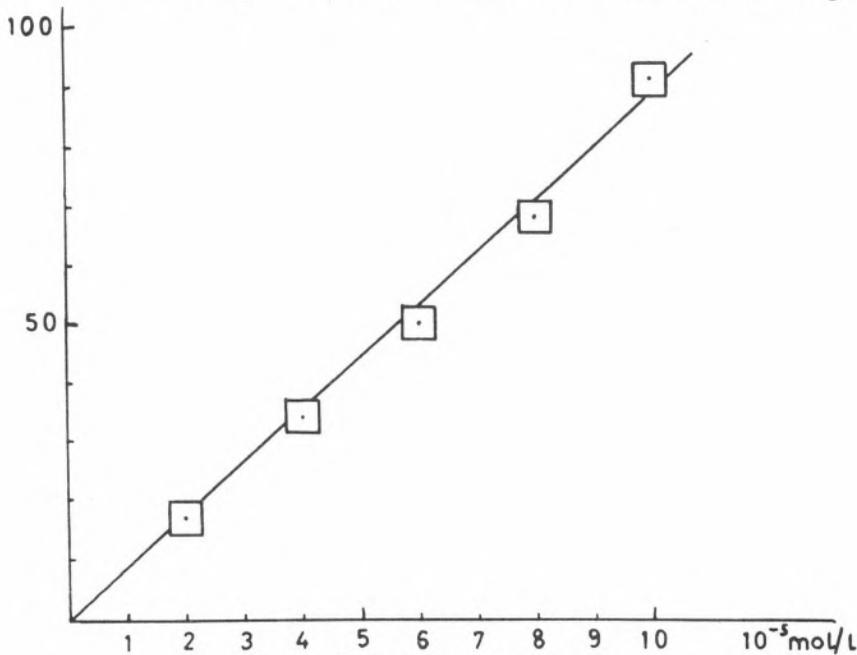


FIG. 1: Extinção \times 100 a 490 m μ

A uma solução padrão preparada no dia anterior, ou posteriormente às outras, já corresponde um ponto que não se situa sobre a mesma recta.

Os padrões foram preparados por dissolução de 28,6 mg (10^{-4} mole) de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 em éter e completando o volume de 100 ml. Retiraram-se 2, 4, 6, 8 e 10 ml de solução respectivamente para cápsulas e deixou-se evaporar o éter. O resíduo foi dissolvido em 100 ml de ácido sulfúrico concentrado e as soluções abandonadas à temperatura ambiente em frascos bem fechados.

As medições foram efectuadas num espectrofotómetro registador Beckman DK2. As dosagens foram efectuadas de modo a prepararem-se simultaneamente soluções das substâncias a analisar e padrões em ácido sulfúrico. As medições efectuaram-se 48 horas mais tarde. É conveniente empregar como solvente numa série de medições ácido sulfúrico proveniente do mesmo frasco.

Estudo da influência do metal alcalino sobre o decurso da reacção com o o-dibenzoilbenzeno em tetrahidrofurano. Em cada um de três tubos de Schlenk sob azoto, contendo alguns cacos de vidro, introduziram-se 1,43 g (5 mmole) de o-dibenzoilbenzeno e 40 ml de tetrahidrofurano. Seguidamente juntaram-se respectivamente 0,069 g (10 mat) de lítio, 0,23 g (10 mat) de sódio e 0,39 g (10 mat) de potássio. Os tubos foram fechados e agitados durante três dias na mesma máquina e deixados em repouso durante outros três dias. Seguidamente as misturas foram decompostas pela adição dum excesso de metanol seguido de água. Deixou-se entrar o ar, lançou-se cada uma das misturas em 2 l de água e filtrou-se como se indicou mais acima (estudo da influência do solvente). Os extractos em éter dos filtrados aquosos foram rejeitados visto o resíduo da evaporação do éter não mostrar coloração vermelha com uma gota de ácido sulfúrico concentrado.

Os resíduos das filtrações foram tratados de diferentes modos:

No caso de lítio dissolveu-se tudo em tetracloreto de carbono e acidificou-se fazendo borbulhar gás clorídrico seco através da solução. Apareceu imediatamente a cor amarela intensa do 1,3-difenil-isobenzofurano. Lançou-se a mistura no topo duma coluna de cromatografia, contendo 40 g de sílica gel e eluiu-se com 500 ml de tetracloreto de carbono. A evaporação do tetracloreto de carbono correspondente a estas fracções deu 0,225 g (17 %) de 1,3-difenil-isobenzofurano, PF 131-132°, que foi identificado pelo método do ponto de fusão misto com uma preparação autêntica [21]. Seguidamente eluiu-se pelo processo de eluição gradiente (utilizando uma câmara de mistura com 500 ml de tetracloreto de carbono a que se foi juntando benzeno). Receberam-se fracções de 100 ml. As seis

primeiras fracções foram reunidas assim como as sete seguintes. A análise cromatográfica das seis primeiras fracções sobre 80 g de óxido de alumínio e com cloreto de metileno como solvente único conduziu a substâncias não identificadas. As sete seguintes deram, pelo mesmo processo, 11 fracções de 10 ml donde se obteve por recristalização em álcool 0,235 g (16 %) de o-dibenzoilbenzeno. As seis seguintes, sujeitas a nova cromatografia, deram substâncias não identificadas e 5 fracções de 20 ml (n.º 15 a 19) pesando no total 0,094 g, que continham 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9, visto a sua recristalização em álcool originar 2 mg dessa substância. 0,094 g (7 %) foram tomados como limite superior do rendimento real em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9.

O resíduo da filtração relativa à reacção com o sódio foi recristalizado em acetato de etilo, obtendo-se 66 mg duma substância que se decompõe a 176-187° e que não foi identificada. As águas-mães foram evaporadas à secura e dissolvidas em cloreto de metileno. Filtrou-se a solução através de 80 g de óxido de alumínio e lavou-se com cloreto de metileno. A recristalização em álcool do conjunto das fracções que deram coloração vermelha com ácido sulfúrico originou 0,38 g (27 %) de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9, PF 214-215°.

O resíduo da filtração correspondente à reacção com o potássio apresentava um aspecto cristalino e a reacção de coloração com o ácido sulfúrico deixava prever uma percentagem relativamente elevada de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9. Por esta razão resolveu-se proceder ao isolamento dos produtos sem auxílio da filtração ou cromatografia sobre adsorventes, como a sílica gel ou o óxido de alumínio.

Ambas estas substâncias têm propriedades desidratantes e ligeiramente ácidas. Além disso, conhecem-se casos em que as substâncias são autoxidadas no estado adsorvido ou reagem fotoquimicamente. Por este motivo limitou-se neste caso o uso do óxido de alumínio ao tratamento daquelas águas-mães que não mostravam tendência a abandonarem produtos cristalinos por evaporação ou arrefecimento.

O resíduo foi então sujeito a numerosas recristalizações em acetato de etilo com aproveitamento das águas-mães, obtendo-se através destas operações 0,243 g de *antraquinona*, PF 280-281°, identificada pelo método do ponto de fusão misto com uma amostra autêntica. As restantes águas-mães foram evaporadas à secura e o resíduo digerido várias vezes com uma solução de ditionito de sódio em soda cáustica diluída [47], até uma nova carga de solução alcalina de ditionito não se corar de vermelho. O resíduo insolúvel foi recristalizado várias vezes em álcool com aproveitamento das águas-mães, obtendo-se desse modo 0,319 g de *10-fenil-*

-10-hidroxi-antrona-9, PF 214-215°. O resíduo da evaporação das águas-mães (0,364 g) foi dissolvido em cloreto de metileno e purificado por filtração dessa solução através duma coluna de cromatografia com 80 g de óxido de alumínio seguida de lavagem com o mesmo solvente. Deste modo obteve-se a quantidade de 0,308 g de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9, PF 214-215°. A parte do resíduo que se dissolveu na solução alcalina de ditionito foi recuperada por oxidação pelo oxigénio do ar, fazendo borbulhar ar através da solução até ela se descorar. A suspensão resultante desta operação foi filtrada e o resíduo recristalizado em acetato de etilo, obtendo-se desta maneira mais 26 mg de *antraquinona*. As águas-mães foram evaporadas à secura e o resíduo oleoso sujeito a uma sublimação no vácuo (2 mm) que rendeu 95 mg duma mistura de cristais. Por dissolução dessa mistura em cloreto de metileno e efectuando uma separação sobre 80 g de óxido de alumínio, tal como se descreveu atrás, obtiveram-se mais 19 mg de *antraquinona* (das primeiras quatro fracções de 25 ml por recristalização em acetato de etilo) e 75 mg de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9. Obtiveram-se portanto no total 0,288 g de *antraquinona* (28 %) e 0,702 g de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 (49 %).

Esta reacção foi repetida num tubo de Schlenk duplo fechado no vácuo⁽¹³⁾. Em vez de agitar numa máquina empregou-se um agitador magnético e verificou-se que, no caso do potássio, não é necessário renovar a superfície metálica por meio das arestas vivas de cacos de vidro. Após quatro dias de agitação o potássio tinha sido totalmente consumido. Destilou-se quantitativamente o solvente para o ramo do tubo de Schlenk que se tinha deixado vazio, introduzindo este numa mistura frigorífica a -70° e colocando o outro em água morna. O destilado foi analisado pelo método da cromatografia de partição gás-líquido⁽¹⁴⁾. O resultado dessa análise mostra que o destilado continha benzeno numa quantidade correspondente a um rendimento de 15 %, enquanto que uma amostra do tetrahidrofurano antes de ser empregado nesta reacção não continha benzeno. (O rendimento de 15 % só tem valor como ordem de grandeza visto não se ter efectuado uma calibração do bloco detector). Na análise empregou-se uma coluna «R» de 2 m (fase líquida polipropileno-glicol) a 75° C, alíquotas de 20 µl, e hélio a 1,1 at de sobrepressão. A identificação do benzeno foi efectuada por adição de benzeno [48]. A percentagem de benzeno foi

(13) Nota 8, pág. 361.

(14) Esta análise foi efectuada pela secção de cromatografia de gases do Instituto de Química Orgânica da Universidade de Heidelberg num aparelho «Fraktometer 116» da casa Perkin-Elmer (Überlingen).

calculada, partindo do princípio que a relação entre as áreas dos «peaks» dos vários constituintes é proporcional à percentagem ponderal, o que, mesmo no caso de pesos moleculares da mesma ordem de grandeza (benzeno: 78, e tetrahidrofurano: 72), conduz a valores que só têm significado como ordem de grandeza ⁽¹⁵⁾.

⁽¹⁵⁾ Ref. 48, pág. 31.

SUMÁRIO

O o-dibenzoilbenzeno reage com metais alcalinos (potássio, sódio e lítio) na presença de solventes etéreos (tetrahydrofurano, 1,2-dimetoxietano, dioxano e éter etílico) e na ausência total de oxigênio e da humidade atmosférica. As soluções organo-metálicas assim obtidas foram decompostas pela adição de metanol seguida de água.

Variando as condições da reação (solvente e metal alcalino), obtêm-se rendimentos variáveis de 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9, antraquinona e, após acidificação, 1,3-difenil-isobenzofurano. Empregando sódio e o-dibenzoilbenzeno na razão de dois átomos de sódio para uma molécula de o-dibenzoilbenzeno, obtêm-se rendimentos em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 que aumentam com a basicidade do éter empregado (do éter etílico, passando pelo dioxano e o 1,2-dimetoxi-etano, até ao tetrahydrofurano).

Usando potássio na mesma proporção e tetrahydrofurano como solvente, o rendimento em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 aumenta até 49 %, obtendo-se simultaneamente uma certa quantidade de antraquinona. O lítio, nas mesmas condições, não reage completamente no mesmo intervalo de tempo, fazendo baixar o rendimento em 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 e predominando a formação de 1,3-difenil-isobenzofurano (após acidificação).

Faz-se na introdução do trabalho uma breve revisão das principais propriedades dos cetilos descritas na literatura.

Por outro lado, compara-se a ciclização que conduz à formação da 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 com outras ciclizações muito semelhantes que se encontram na literatura. Baseado nesta analogia propõe-se um mecanismo para esta reação.

Quanto à formação de antraquinona, conclui-se que o fenilo é eliminado como anião e que o fenil-potássio obtido nesta reação decompõe o tetrahydrofurano, à semelhança do que sucede com outros compostos organo-alcalinos, formando-se finalmente benzeno.

Obteve-se a confirmação desta hipótese pela detecção de benzeno na solução de tetrahydrofurano, após a adição de potássio e o-dibenzoilbenzeno

na proporção de 2 átomos de potássio para uma molécula de o-dibenzoil-benzeno. Esta detecção foi efectuada pelo método da cromatografia de gases.

Na parte experimental apresenta-se ainda um método de doseamento colorimétrico da 10-fenil-10-hidroxi-antrona-9 em solução sulfúrica concentrada.

ZUSAMMENFASSUNG

o-Dibenzoylbenzol reagiert mit Alkalimetallen (Kalium, Natrium und Lithium) in Gegenwart von Äthern (Tetrahydrofuran, Glykoldimethyläther, Dioxan und Äthyläther) unter strengem Ausschluss von Luft-sauerstoff und -feuchtigkeit. Die auf diese Weise erhaltenen metallorganischen Lösungen wurden durch Zugabe von Methanol und anschliessend Wasser zersetzt.

Durch Veränderung der Reaktionsbedingungen (Solvens und Alkali-metall) erhält man wechselnde Ausbeuten an 10-Phenyl-10-hydroxy-anthron-9, Anthrachinon und, nach Ansäuern, 1,3-Diphenyl-isobenzofuran. Bei Verwendung von Natrium im Verhältnis von zwei Atomen zu einem Mol o-Dibenzoylbenzol erhält man Ausbeuten an 10-Phenyl-10-hydroxy-anthron-9, die mit der Basizität des verwendeten Äthers zunehmen (vom Äthyläther über Dioxan und Glykoldimethyläther bis zum Tetrahydrofuran). Wenn man anstelle vom Natrium Kalium verwendet und Tetrahydrofuran als Lösungsmittel beibehält, wird die Ausbeute an 10-Phenyl-10-hydroxy-anthron-9 bis auf 49 % gesteigert, wobei jetzt Anthrachinon als Nebenprodukt auftritt. Lithium reagiert unter den gleichen Bedingungen im gleichen Zeitraum nicht durch. Man erhält nur noch wenig 10-Phenyl-10-hydroxy-anthron-9; es entsteht umso mehr 1,3-Diphenyl-isobenzofuran (nach Ansäuern).

Es werden in der Einführung der vorliegenden Arbeit die wichtigsten Eigenschaften der Ketylen, die in der Literatur beschrieben sind, kurz zusammengefasst. Andererseits wird der Ringschluss, der zum 10-Phenyl-10-hydroxy-anthron-9 führt, mit anderen sehr ähnlichen Ringschlüssen verglichen, die in der Literatur beschrieben sind. Auf diese Analogie gestützt wird ein Mechanismus für den Ringschluss vorgeschlagen.

Was die Entstehung von Anthrachinon angeht, so nimmt man an, dass ein Phenylanion eliminiert wird. Das entstehende Phenylkalium zersetzt das Tetrahydrofuran, wobei sich schliesslich Benzol bildet. Diese Annahme wurde dadurch bestätigt, dass man im Tetrahydrofuran, in dem

man die Addition von zwei Atomen Kalium an das *o*-Dibenzoylbenzol durchgeführt hatte, nachträglich Benzol gaschromatographisch nachweisen konnte.

Im experimentellen Teil wird ausserdem eine Methode zur kolorimetrischen Bestimmung von 10-Phenyl-10-hydroxy-anthron-9 in konzentriert schwefelsaurer Lösung beschrieben.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi efectuado no laboratório do Instituto de Química Orgânica da Universidade de Heidelberg, a cujo director, Ex.^{mo} Sr. Prof. Dr. Dr. h. c. G. Wittig, desejo exprimir a minha profunda gratidão por me ter sugerido o tema deste trabalho, permitido efectua-lo no seu laboratório e publicá-lo, tendo-o apoiado em todas as suas fases com o seu valioso conselho. Agradeço igualmente ao Instituto de Alta Cultura e ao organismo alemão Deutscher Akademischer Austauschdienst a concessão duma bolsa de intercâmbio durante o período de elaboração deste trabalho.

Diese Arbeit wurde am Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg durchgeführt. Dem Institutsdirektor, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. G. Wittig danke ich für die Überlassung des Themas, für die Erlaubnis diese Arbeit in seinem Laboratorium durchzuführen und sie hier zu veröffentlichen, sowie für die stete Unterstützung und seinen wertvollen Rat. Dem Instituto de Alta Cultura und dem Deutschen Akademischen Austauschdienst danke ich für das Austauschstipendium, das ich während dieser Zeit erhalten durfte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] E. BECKMANN e T. PAUL, *Liebigs Ann. Chem.*, **266**, 1 (1891).
- [2] W. SCHLENK e T. WEICKEL, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **44**, 1184 (1911).
- [3] W. SCHLENK e A. THAL, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **46**, 2840 (1913).
- [4] W. SCHLENK, J. APPENRODT, A. MICHAEL e A. THAL, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **47**, 486 (1914).
- [5] S. F. ACREE, *Amer. chem. J.*, **29**, 588 (1903).
- [6] W. E. BACHMANN, *J. Amer. chem. Soc.*, **55**, 1179 (1933).
- [7] L. ANSCHÜTZ e A. UNGAR, *Liebigs Ann. Chem.*, **536**, 285 (1938).
- [8] R. N. DOESCHER e G. W. WHELAND, *J. Amer. chem. Soc.*, **56**, 2011 (1934).
- [9] S. SUGDEN, *Trans. Faraday Soc.*, **30**, 18 (1934).
- [10] F. L. ALLEN e S. SUGDEN, *J. chem. Soc. (London)*, **1936**, 440.
- [11] E. MÜLLER e E. TESCHNER, *Liebigs Ann. Chem.*, **525**, 1 (1936).
- [12] E. MÜLLER e E. WIESEMANN, *Liebigs Ann. Chem.*, **532**, 116 (1937).
- [13] E. MÜLLER e E. WIESEMANN, *Liebigs Ann. Chem.*, **537**, 86 (1939).
- [14] E. MÜLLER e W. JANKE, *Z. Elektrochem*, **45**, 380 (1939) (além de apresentar novo material resume parte dos três artigos anteriores).
- [15] A. E. TSCHITSCHIBABIN, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **40**, 1810 (1907).
- [16] E. MÜLLER e I. MÜLLER-RODLOFF, *Liebigs Ann. Chem.*, **517**, 134 (1935).
- [17] C. A. HUTCHINSON, A. KOWALSKY, R. C. PASTOR e G. W. WHELAND, *J. chem. Physics*, **20**, 1485 (1952); H. S. JARRETT, G. J. SLOAN e W. R. VAUGHAN, *ibid.*, **25**, 697 (1956); G. J. SLOAN e W. R. VAUGHAN, *J. org. Chemistry*, **22**, 750 (1957) (extraído de H. A. STAAB, *Einführung in die theoretische organische Chemie*, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr, 1959, pág. 464).
- [18] W. SCHLENK e M. BRAUNS, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **48**, 716 (1915).
- [19] G. WITTIG e H. PETRI, *Liebigs Ann. Chem.*, **505**, 17 (1933).
- [20] A. HALLER e A. GUYOT, *Bull. Soc. chim. France* [3], **31**, 797 (1904).
- [21] A. GUYOT e J. CATEL, *Bull. Soc. chim. France* [3], **35**, 1126 (1906).
- [22] R. ADAMS e M. H. GOLD, *J. Amer. chem. Soc.*, **62**, 56 (1940).
- [23] M. P. CAVA, M. J. MITCHELL e A. A. DEANA, *J. org. Chemistry*, **25**, 1481 (1960).
- [24] F. R. JENSEN, *J. org. Chemistry*, **25**, 269 (1960).
- [25] F. R. JENSEN e W. E. COLEMAN, *J. Amer. chem. Soc.*, **80**, 6149 (1958).
- [26] Compilação: C. K. BRADSHER, *Chem. Rev.*, **38**, 447 (1946).
- [27] C. K. BRADSHER e S. T. WEBSTER, *J. Amer. chem. Soc.*, **79**, 393 (1957).
- [28] G. WITTIG e M. LEO, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **64**, 2395 (1931).
- [29] H. STAUDINGER e F. PFENNINGER, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **49**, 1941 (1916).

- [30] H. KLOOSTERZIEL e H. J. BACKER, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **71**, 1235 (1952).
- [31] Compilação: N. C. DENO, H. J. PETERSON e G. S. SAINES, *Chem. Reviews*, **1960**, 7.
- [32] M. D. BANUS e A. A. HINCKLEY, em *Handling and Uses of the Alkali Metals*, American Chemical Society, Washington, 1957, pág. 112.
- [33] Compilação: R. L. BURWELL, *Chem. Reviews*, **1954**, 668. Literatura mais moderna encontra-se em H. GILMAN e B. J. GAJ, *J. org. Chemistry*, **22**, 1165 (1957).
- [34] G. WITTIG, *Naturwissenschaften*, **30**, 696 (1942).
- [35] R. C. FUSON e G. W. PARSHALL, *J. Amer. chem. Soc.*, **76**, 5561 (1954); R. C. FUSON e C. HORNBERGER JR., *J. org. Chemistry*, **16**, 637 (1951) e R. C. FUSON e R. O. KERR, *J. org. Chemistry*, **19**, 373 (1954).
- [36] Compilação: M. D. RAUSCH, W. E. McEWEN e J. KLEINBERG, *Chem. Reviews*, **1957**, 417.
- [37] R. C. FUSON, S. B. SPECK e W. R. HATCHARD, *J. org. Chemistry*, **10**, 55 (1945).
- [38] H. C. BROWN e D. M. ADAMS, *J. Amer. chem. Soc.*, **64**, 2557 (1942).
- [39] S. SEARLES e M. TAMRES, *J. Amer. chem. Soc.*, **73**, 3704 (1951).
- [40] N. D. SCOTT, J. F. WALKER e V. L. HANSLEY, *J. Amer. chem. Soc.*, **58**, 2442 (1936).
- [41] A. JEANES e R. ADAMS, *J. Amer. chem. Soc.*, **59**, 2608 (1937).
- [42] G. WITTIG e G. HARBORTH, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **77**, 306 (1944). Comp. ref. 34.
- [43] A. GUYOT e J. CATEL, *Bull. Soc. chim. France* [3], **35**, 1135 (1906).
- [44] P. L. JULIAN e W. COLE, *J. Amer. chem. Soc.*, **57**, 1610 (1935).
- [45] A. v. BAEYER, *Liebigs Ann. Chem.*, **202**, 58 (1880).
- [46] E. BERGMANN, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, **63**, 1041 (1930).
- [47] E. DE B. BARNETT e J. W. COOK, *J. chem. Soc. (London)*, **123**, **II**, 2638 (1923).
- [48] A. I. M. KEULEMANS, *Gas Chromatography*, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1947, pág. 26.
- [49] R. B. WOODWARD e T. J. KATZ, *Tetrahedron*, **5**, 70 (1959).

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO QUÍMICO DE PEIXE SECO DE ANGOLA

ALGUMAS VITAMINAS E COMPOSIÇÃO DAS PROTEÍNAS EM AMINO-ÁCIDOS

por

ALFREDO P. GOUVEIA e A. J. A. DE GOUVEIA

*Centro de Estudos de Química e Agrupamento Científico de Estudos Ultramarinos,
anexos ao Laboratório Químico da Faculdade de Ciências
da Universidade de Coimbra*

Recebido em 9-10-1961

A grande importância do peixe e indústrias associadas na economia de Angola determinou um largo plano de estudo químico destes produtos.

O peixe seco, em muitos casos principal base da alimentação proteica dos indígenas e produto importante nas exportações para o Congo, União das Repúblicas Centrais Africanas, Moçambique, S. Tomé e Príncipe, etc., está a ser estudado por nós sob o ponto de vista químico. Assim, neste trabalho, além das determinações quantitativas de azote total, dos produtos extraídos com éter de petróleo e dos resíduos insaponificáveis, determinámos as vitaminas do complexo B — tiamina, riboflavina e niacina —, efectuámos o estudo espectrofotométrico das fracções insaponificáveis e estudámos a composição das proteínas, expressa em amino-ácidos e compostos relacionados, resultantes da hidrólise total das proteínas. Estas últimas determinações, que poderão ser feitas em diferentes condições, permitirão estabelecer correlações entre as proteínas, do peixe fresco e do peixe seco, e a partir desses resultados avaliar a influência da secagem e salgação não só na composição das proteínas em amino-ácidos e compostos relacionados, como também na verificação de diferenças das suas estruturas secundárias, e formular ilações sobre a variação do valor nutritivo.

Na 3.^a Secção da «Conférence Inter-Africaine sur la Nutrition» (Luanda, 1956), Adrian e colaboradores apresentaram uma comunicação [1] sobre a composição global, alguns amino-ácidos e algumas vitaminas B de peixe seco de Angola.

PARTE EXPERIMENTAL

Amostras

Pelo Ex.^{mo} Senhor Dr. Rui Monteiro, então Chefe da Brigada de Benguela, da Missão de Biologia Marítima, foram-nos enviadas as seguintes amostras de peixe seco, muito provàvelmente correspondentes às espécies indicadas:

Carapau... ..	<i>Trachurus trachurus trecae</i> (Cadenat)
Anchova	<i>Pomatomus saltatrix</i> (L)
Judeu	<i>Auxis thazard</i> (Lac.)
Charro amarelo	<i>Caranx angolensis</i> Fowler
Canivete	<i>Hepatus monroviae</i> Steind.
Ferreira	<i>Pagellus mormyrus</i> (L)
Tico-tico	<i>Pagellus bellotii</i> Steind.
Cavala	<i>Scomber japonicus</i> Houttuyn
Merma	<i>Euthynnus alleteratus</i> Raf.
Taco-taco	<i>Centracanthus melanurus</i> (CV)
Mariquita	<i>Diplodus sargus</i> (L)
Camoxilo	<i>Caesiomorus glaucus</i> (L)

Retirámos destas amostras uma certa quantidade representativa do lote. Triturámo-la, primeiramente, num almofariz e, em seguida, prosseguimos a sua desagregação num «atomizador». As fracções para as diversas determinações eram tiradas deste material. O cloreto de sódio nas amostras era determinado prèviamente, exprimindo-se os resultados experimentais em material livre deste sal. Em média, o teor de cloreto de sódio adicionado era de 21 a 22 por cento.

ESTUDO QUÍMICO

Determinações de azote total, extracções com éter de petróleo, determinações quantitativas dos resíduos insaponificáveis e das vitaminas do complexo B — tiamina, riboflavina e niacina — e estudo espectrofotométrico das fracções insaponificáveis. Utilizámos os processos descritos em publicações anteriores [2].

Análise das proteínas

Reagentes e aparelhagem

Resina Dowex 50-X8.

Os tampões foram preparados com reagentes «Analares».

O «Brij 35» é um produto «Atlas» Powder Company, Wilmington, Delaware, U. S. A. O tiodiglicol foi obtido da firma «Fluka» (Suíça).

O «Complexão III» ou «versenato de sódio» foi obtido da A. G. vorm B. Siegfried Zofingen (Suíça).

O «metilcellosolve» Fluka foi purificado por destilação a pressão reduzida, na presença de cloreto estanoso, e mantido em contacto com cobre-zinco [3].

Utilizámos ninidrina e hidrindantina «Pierce Chemical Co., Rockford, Ill. U. S. A.», própria para trabalho analítico; a ninidrina doutras origens foi purificada segundo Hamilton e Ortiz [4]; preparámos a hidrindantina segundo um processo indicado por Moore e Stein [5].

Usámos o aldeído p-dimetilaminobenzoico «Eastman Kodak».

Os amino-ácidos utilizados, para preparação de padrões e doutras soluções, eram «B. D. H.» e «Fluka» e, para referências na cromatografia de papel, utilizou-se a colecção de soluções de amino-ácidos padrões «Shandon».

As densidades ópticas, em determinados comprimentos de onda, foram medidas num espectrofotómetro Beckman DU; as curvas de absorção e os espectros de fluorescência foram obtidos num espectrofotómetro registador Cary, modelo 14, com os acessórios próprios. Os ensaios polarográficos foram realizados num polarógrafo «Cathode Ray Polarograph, Type K 1000, Southern Instruments Ltd».

Hidrólise das proteínas

Para a determinação quantitativa dos amino-ácidos constituintes duma proteína, ou das proteínas dum alimento, interessa-nos a hidrólise total desses compostos. Esta é de preferência realizada com ácidos (clorídrico, sulfúrico, iodídrico) que nos dá uma hidrólise completa, com um mínimo de destruição; contudo, a *hidrólise ácida* destrói a maior parte do triptofano, transforma a cisteína em cistina e pode destruir quantidades apreciáveis de serina e treonina. A *hidrólise alcalina*, com hidróxido de sódio ou barita, tem vantagem em relação ao triptofano mas destrói, extensivamente, a serina, treonina, cisteína, cistina, podendo converter determinados amino-ácidos noutros. As *hidrólises ácida* ou *alcalina* dão desaminação da glutamina e da asparagina. A *hidrólise enzimática* em geral não é completa e é utilizada na hidrólise parcial das proteínas, com formação de peptídeos de maiores ou menores pesos moleculares. Neste trabalho, para a determinação de todos os amino-ácidos, com a excepção do triptofano, usamos a hidrólise ácida, com ácido clorídrico 6N, pela técnica recomendada por Chibnall [6]. Para a determinação química do triptofano, seguimos, com algumas modificações, o método de hidrólise alcalina de Spies e Chambers [7].

Hidrólise em ácido clorídrico

As amostras eram pulverizadas, tomados 0,300 g, adicionados 3 ml de ácido clorídrico 6N e hidrolisados, a 110°, durante 24 horas, em tubo de vidro fechado, previamente evacuado em atmosfera de dióxido de carbono. As soluções eram levadas à secura, a pressão reduzida, e os resíduos secos durante 24 horas num exsiccador de potassa cáustica, depois retomados em 25 ml de HCl, 0,1N.

Hidrólise alcalina, para determinação do triptofano

Usámos uma bomba Parr de níquel, com capacidade de cerca de 250 ml, onde podíamos dispor 9 cadinhos de níquel, em 3 camadas separadas por placas de níquel perfuradas. Em cada cadinho colocam-se 0,200 a 0,400 g de peixe seco, ou 0,400 a 0,800 g de peixe fresco, e 2 a 6 ml de NaOH, 6N. A bomba é evacuada a 30-40 mm de pressão, com os cadinhos em posição, passada com hidrogénio, de maneira a expulsar completamente o oxigénio do ar, e, finalmente, cheia com hidrogénio, à pressão de 40 cm de água; o conjunto é metido numa estufa a 100° C, durante 20 horas.

Métodos de análise dos amino-ácidos

Todos os amino-ácidos, com excepção do triptofano, foram determinados pelo processo cromatográfico, em colunas de resinas de troca, de polistireno sulfonado, estabelecido por Moore e Stein [8]. O triptofano foi determinado por um método colorimétrico de Spies e Chambers [9], utilizando o reagente de Ehrlich (aldeído p-dimetilaminobenzoico) específico do núcleo indólico do triptofano.

Análise dos amino-ácidos dos hidrolisatos em ácido clorídrico, com excepção dos básicos

Utilizámos uma coluna de 1 × 100 cm, carregada com resina de troca de polistireno sulfonado, Dowex 50-X8. Partiu-se de resina de 200-400 meshes, da qual se separou, pelo processo de flutuação descrito por Hamilton [10] uma fracção, com diâmetros máximos de 50 µ. A coluna foi preparada segundo Moore e Stein (1951). A recuperação da coluna faz-se por tratamento com NaOH 0,2 N algumas vezes com 1 % de versenato de sódio (complexão III), e depois com o primeiro tampão (tampão de citrato 0,2 N, pH 3,25). À coluna, depois de passada com este tampão, deixando quase esgotar o líquido, junta-se

1 ml do hidrolisato; deixa-se esgotar nas mesmas condições, mantendo no final a resina coberta por uma fina camada de líquido, e lava-se mais três vezes, utilizando de cada vez 1 ml de tampão; finalmente, junta-se o tampão e regula-se a velocidade de escoamento a 5 ml por hora. A coluna da resina, envolvida por uma manga de água que circula dum banho de temperatura constante, é aquecida a $50^{\circ} \pm 0,1^{\circ} \text{C}$ durante toda a operação. Em cada análise separam-se 430 fracções de 1 ml, recolhidas em tubos de ensaio, num colector. Os tubos de ensaio eram tapados com rolhas de cortiça prèviamente lavadas com uma solução a 2 % de ácido cítrico em etanol, secas ao ar e guardadas na geleira até serem usados. O conjunto da montagem é dado, fotogràficamente, na Fig. 1. Até ao volume de retenção de 226 ml (fracção

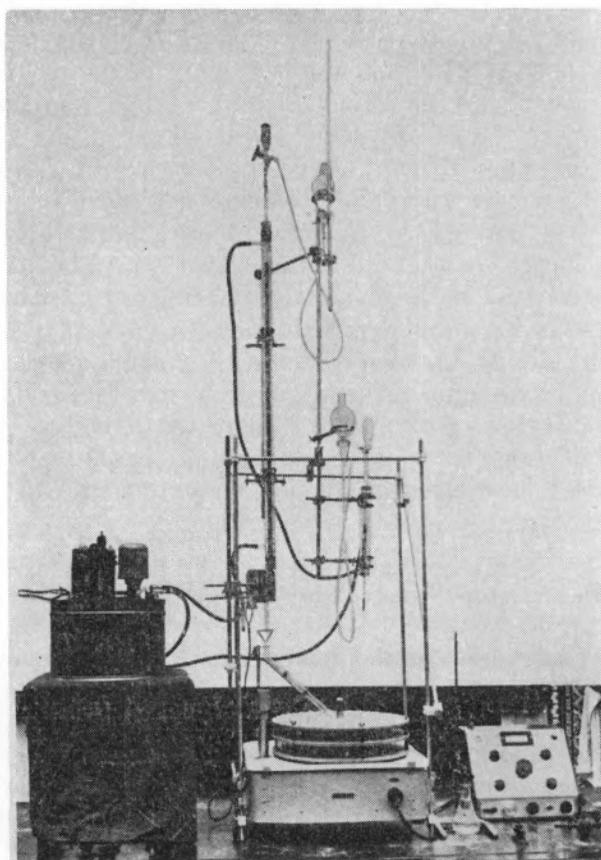


FIG. 1

n.º 226) usa-se o tampão de citrato, de pH 3,25, e depois, até final, o mesmo tampão de pH 4,25. As sucessivas fracções do cromatograma são seguidas, retirando, com um fio de platina fino, uma pequena gota

que é ensaiada em papel de ninidrina que se aquece a 80° C. (Dissolver 100 mg de ninidrina em 10 ml de propanol-n e 20 ml de tampão de citrato de pH 5; pulverizar o papel, secar e guardar em frascos rolhados ac abrigo da luz). A presença e as intensidades de cor das manchas indicam, na colecção dos tubos de ensaio numerados, as fracções que contêm amino-ácidos, dando ao mesmo tempo uma primeira estimativa das quantidades relativas. Os volumes de retenção de cada amino-ácido, nesta coluna, foram determinados por cromatografia numa solução de amino-ácidos puros, comparação com os resultados, de Moore e Stein, e confirmação, por prévia dessalificação das fracções [11] e identificação do amino-ácido por cromatografia em papel e por reacções específicas, em alguns casos [12].

Nas determinações quantitativas, as diferentes fracções de 1 ml, recolhidas nos tubos do colector, eram adicionadas de 1 ml do reagente de ninidrina (Moore e Stein, 1954), tapados com papel de estanho e aquecidos, durante 15 minutos, a 100° C, num banho de água fechado. Depois de arrefecidas e convenientemente diluídas, as soluções eram transferidas para vasos de absorção de 1 cm e determinadas as densidades ópticas em 570 m μ . A prolina foi localizada, num primeiro cromatograma, pela reacção da ninidrina em meio ácido clorídrico-acético (Schweet, 1954) [13]. A determinação quantitativa fez-se por adaptação do processo de Troll e Lindsley (1955) [14], à fracção de 1 ml adiciona-se 1 ml de ácido acético glacial e 1 ml de reagente de ninidrina (125 mg de ninidrina, dissolvidos, a 70° C, em 3 ml de ácido acético glacial e 2 ml de ácido fosfórico 6 M); aquece-se, durante 1 hora, em banho de água fervente, deixa-se arrefecer, à temperatura ambiente, e extrai-se, por agitação enérgica, com 3 ml de benzeno; a fase benzénica separada por centrifugação passa-se para um vaso de absorção de 1 cm e mede-se a densidade óptica em 515 m μ .

Curvas de separação dos amino-ácidos e cálculo dos seus teores

Como os diferentes amino-ácidos não dão o mesmo rendimento de cor, as determinações fotométricas em 570 m μ têm de ser convertidas em «equivalentes de leucina», dividindo-as pelos respectivos coeficientes de rendimento de cor, determinados por Moore e Stein (1954) [8]. Os valores de cor, assim normalizados para cada amino-ácido, são muitas vezes referidos a milimoles do respectivo amino-ácido por litro de solução, ou por 100 g do material em estudo, ou por 16 g de azote total. Nos nossos gráficos (Fig. 2) adoptámos esta última referência, em virtude de 16 g de azote corresponderem ao valor médio da percentagem deste elemento nas proteínas; em abcissas, os números indicam os volumes de retenção, expressos em mililitros.

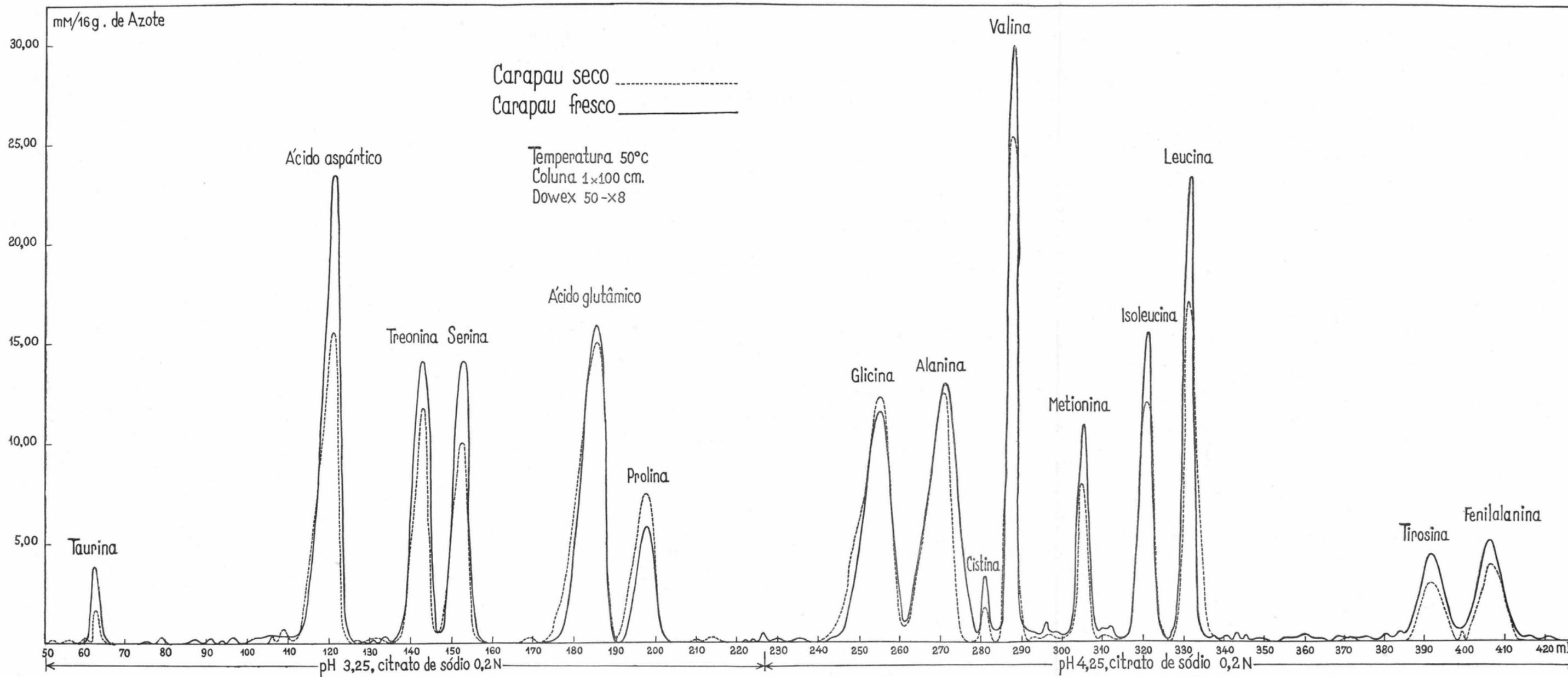


FIG. 2

A integração das bandas, correspondentes a cada amino-ácido, dá os teores respectivos, expressos em milimoles por 16 g de azote, ou em média, em milimoles por 100 g das proteínas. Os teores de amino-ácidos, nos Quadros, vão expressos em gramas, calculados na base de 16 g de azote. As determinações de prolina baseiam-se na extinção milimolar, em 515 m μ , referida a um padrão de prolina.

Análise dos amino-ácidos básicos

Utilizámos uma coluna de 0,9 x 17 cm, carregada e preparada de maneira idêntica à da outra coluna. Os amino-ácidos básicos, cromatografados à velocidade de 20 ml por hora, em solução tampão de citrato 0,35 N de pH 5,28, foram separados em 160 fracções de 1 ml, e análogamente medidos em 570 m μ . O cálculo dos teores e os gráficos (Fig. 3) foram feitos de maneira idêntica aos anteriores. A recuperação da coluna é feita como no caso anterior, utilizando NaOH 0,35 N.

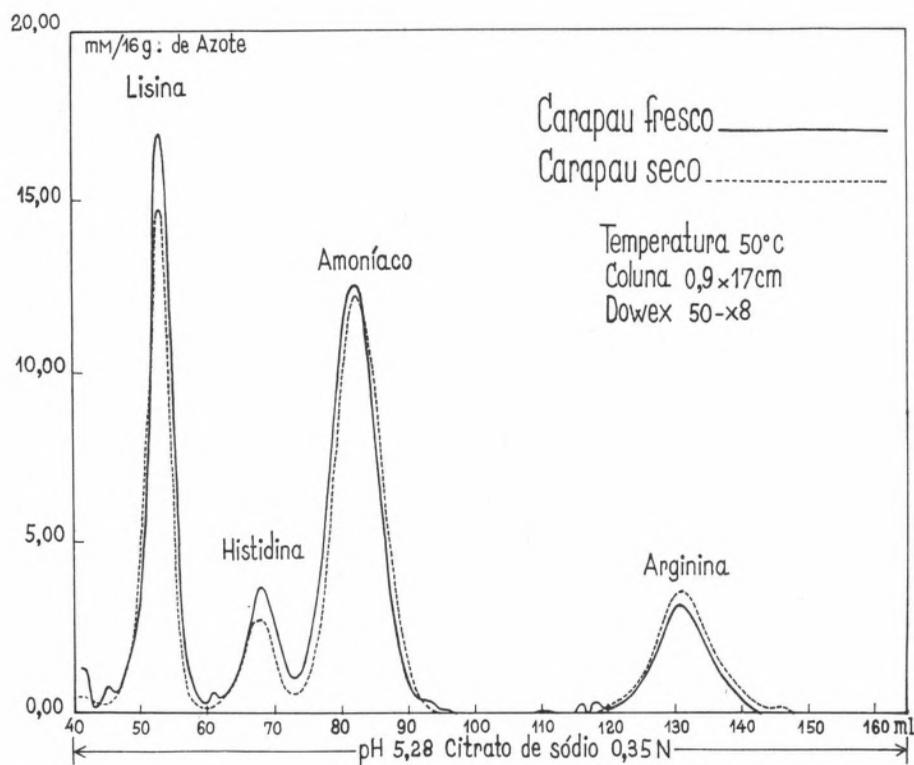


FIG. 3

Análise dos hidrolisatos do triptofano

Deixou-se arrefecer a bomba Parr, manteve-se na geleira durante cerca de 1 dia e abriu-se. Removeram-se, quantitativamente, os conteúdos de cada cadinho, para balões graduados, de 25 ml com o auxílio de solução de soda cáustica e água destilada, de maneira que as soluções finais fiquem normais em relação à soda cáustica e com quantidades de triptofano próprias para as determinações espectrofotométricas, cerca de 100 mg por litro; esta solução é filtrada através dum filtro de vidro (solução A). Em tubos de pirex, de 25 ml, com rolha esmerilada, colocam-se 30 mg de aldeído p-dimetil-amino-benzoico; juntam-se 9,0 ml de ácido sulfúrico 21,4 N e 1,0 ml da solução A. Mistura-se e arrefece-se a $25^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$ e mantém-se a esta temperatura, em banho de água fechado, às escuras, durante 1 hora. Simultaneamente, prepara-se, nas mesmas condições, um padrão de triptofano, com 100 μ g deste amino-ácido puro, por mililitro de solução inicial. Junta-se a cada tubo, com o hidrolisato das proteínas e com o triptofano puro, respectivamente, 0,1 ml de solução de nitrito de sódio a 0,07 % e 0,04 %; deixam-se revelar as cores, durante 30 minutos, e registam-se imediatamente os espectros de absorção (utilizámos neste trabalho um espectrofotómetro Cary, n.º 14) das soluções em ensaio e padrão, na região 400 a 750 $m\mu$, compensando com os respectivos brancos (sem aldeído) e utilizando as intensidades em 595 $m\mu$. Os espectros de absorção vão reproduzidos na Fig. 4.

Resultados experimentais

Resumimos, nos Quadros I e II e nas Figuras 2, 3, 4 e 5, os resultados experimentais obtidos.

Exposição e discussão dos resultados experimentais

Os resultados dados estão referidos a material depois de descontado o cloreto de sódio. O teor de água, obtido por diferença, é bastante variável, em geral, superior a 30 %, com flutuação de 24 a 40 %, e nestas determinações com um valor médio de 33 %. Como a percentagem da água no peixe fresco é muito mais elevada, com o valor médio de 76 %, a comparação das quantidades dos constituintes nestas duas modalidades deve referir-se a amostras secas (Quadro III).

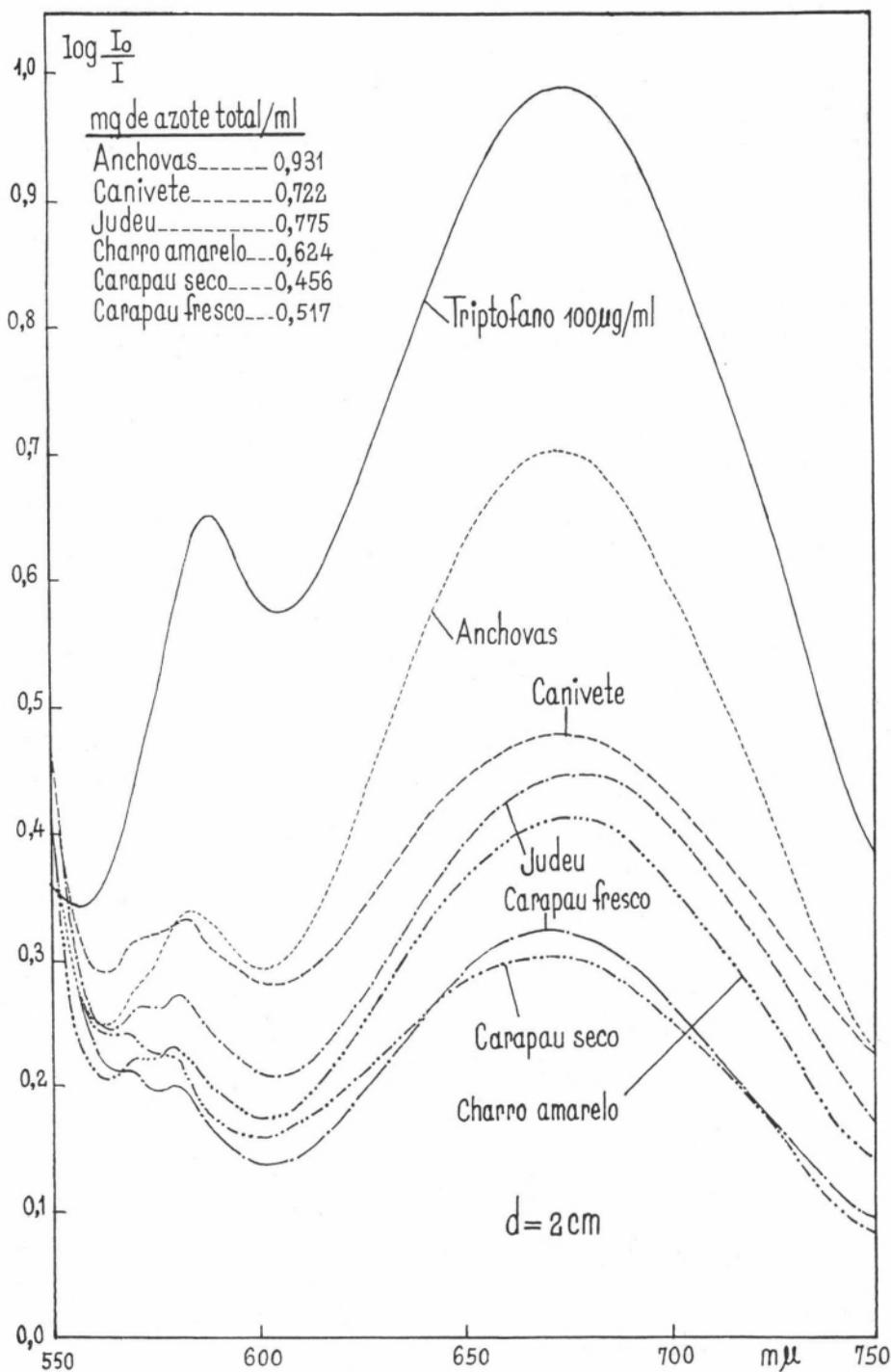


FIG. 4

Azote total

O teor de proteínas e doutras substâncias azotadas é comparável ao do peixe fresco [2], se entrarmos em conta com as diferenças dos teores de água, talvez com indicação de transformação de algum azote proteico em compostos azotados, com maior percentagem de azote do que nas proteínas; com efeito, comparando os resultados obtidos em amostras de peixe seco e fresco, com teores semelhantes de gorduras, e estabelecidos com o factor 6,25, verifica-se geralmente um valor mais alto, significativo, no peixe seco: no *Caranx angolensis* (charro amarelo) percentagens de proteínas, respectivamente, 95,5 % e 92 %, referidos a amostras secas; no *Pagellus mormyrus* (ferreira) 96,9 % e 89 %, no *Pagellus bellotii* (tico-tico) 91,7 % e 78,9 %; no *Diplodus sargus* (mariquita), em que a amostra de peixe seco tem uma quantidade excepcionalmente elevada de gorduras e lipoides, os resultados são mais baixos no peixe seco (74,1 % e 82,9 %) não sendo as amostras comparáveis.

Gorduras e lipoides

O teor de gorduras e lipoides, dependente das espécies e estações, apresentam valores muito diferentes, em geral baixos, como já acontecia com o peixe fresco. Na comparação dos resultados, do peixe seco e fresco, entrando com a correcção do teor de água, verifica-se uma concordância razoável; o peixe seco obtido a partir da «mariquita» (*Diplodus sargus*) é excepcionalmente gorduroso (25,8 %, referido a material seco).

Hidratos de carbono

Existem em quantidades diminutas.

Valores calóricos

São elevados por se tratar dum material com um teor relativamente baixo de água. Os valores individuais são influenciados pelo teor de gordura. O valor médio 308 K-cal/100 g é quase três vezes o do peixe fresco 112 K-cal/100 g.

QUADRO I
Peixe seco de Angola

PEIXES		Proteínas g/100 g	Gorduras g/100 g	K Cal/100 g	Tiamina mg/100 g	Substâncias fluorescentes do tipo riboflavina mg/100 g	Niacina mg/100 g	Resíduo insaponi- ficável g/100 g
Nome local	Espécies prováveis							
Anchova	<i>Pomatomus saltatrix</i> (L)	64,9	2,45	282	0,176	3,22	4,92	0,771
Judeu	<i>Auxis thazard</i> (Lac.)	63,7	1,28	266	0,253	2,41	3,46	0,424
Ferreira	<i>Pagellus mormyrus</i> (L)	62,4	1,98	267	0,129	2,40	3,27	0,547
Merma	<i>Euthynnus alleteratus</i> Raf.	66,1	7,20	329	0,210	4,58	5,76	1,011
Tico-Tico	<i>Pagellus bellotii</i> Steind	59,6	5,44	287	0,147	3,20	3,95	1,769
Charro amarelo ...	<i>Caranx angolensis</i> Fow- ler	66,5	3,08	294	0,164	6,88	3,18	0,866
Mariquita	<i>Diplodus sargus</i> (L)	56,7	19,79	405	0,116	2,64	3,70	0,502
Canivete	<i>Hepatus monroviae</i> Steind	58,2	2,08	252	0,155	3,28	3,29	0,425
Cavala	<i>Scomber japonicus</i> Hout- tuyt	52,1	13,56	330	0,159	5,41	6,65	0,446
Carapau	<i>Trachurus trachurus</i> <i>trecae</i> (Cadenat)	65,9	3,21	292	0,395	2,01	4,74	1,010
Taco-Taco	<i>Centracanthus melanurus</i> (CV)	56,9	16,41	375	0,085	7,84	2,77	0,746
Camoxilo	<i>Caesiomorus glaucus</i> (L)	48,5	11,13	294	0,178	4,25	3,44	0,418

Vitaminas hidro-solúveis

Tiamina — O valor médio é de 0,18 mg/100 g, enquanto no peixe fresco é 0,078 mg/100 g. Considerando os teores de água (valores médios: cerca de 76 % no peixe fresco e 33 % no peixe seco), os valores anteriores de tiamina, referidos a material seco, seriam, respectivamente, 0,27 mg/100 g, para o peixe seco, e 0,325 mg/100 g, para o peixe fresco, com uma destruição de 17 %. Conseqüentemente, parece que a secagem tem como consequência uma destruição de vitamina B₁, talvez limitada de 15 a 20 %. J. Adrian e colaboradores dão uma maior destruição para a vitamina B₁, ordem de grandeza

QUADRO II

Teores de amino-ácidos nas proteínas de peixe calculados na base de 16 g de azote

Amino-ácidos e compostos relacionados	Carapau fresco	Peixe seco				
		Carapau	Anchova	Judeu	Charro amarelo	Canivete
Taurina	0,9	0,5	0,4	0,6	0,6	0,5
Ácido aspártico... ..	12,0	10,1	12,1	9,1	10,2	10,5
Treonina... ..	5,6	5,1	4,8	4,8	4,5	5,7
Serina	4,8	4,3	4,1	3,3	3,8	4,8
Ácido glutâmico	11,6	15,4	16,5	14,0	14,5	12,5
Prolina	2,8	4,5	1,6	3,6	4,0	3,4
Glicina	6,0	7,0	6,0	5,1	6,7	8,2
Alanina	7,5	6,9	6,3	5,9	7,0	6,7
Cistina	1,3	1,0	1,1	1,3	1,0	1,0
Valina	6,5	5,7	6,2	6,1	6,2	4,8
Metionina	3,7	3,2	3,0	3,1	3,1	3,5
Isoleucina	5,8	5,2	5,2	5,3	4,9	5,4
Leucina	8,6	6,9	8,3	8,4	8,4	8,5
Tirosina	4,1	3,2	2,9	3,4	3,2	2,9
Fenilalanina... ..	4,5	4,1	3,7	4,4	4,1	3,6
Lisina	9,8	8,5	9,8	9,1	9,4	9,2
Histidina... ..	3,0	2,4	3,2	5,6	2,4	1,9
Amoníaco	1,6	1,4	1,6	2,0	2,1	1,8
Arginina... ..	5,2	5,8	6,7	5,9	5,6	6,2
Triptofano	0,99	1,07	1,2	0,92	0,92	0,93

de 50 por cento, por comparação dos seus resultados experimentais, sobre amostras de peixe seco, com os valores atribuídos ao peixe fresco na tabela de Blanck [15]. Contudo, a nossa conclusão fundamenta-se na comparação de médias de numerosos resultados experimentais, obtidos com peixe fresco e seco proveniente de Angola. Os nossos resultados, comparados com os de Adrian, embora também com flutuações apreciáveis, apresentam-se menos erráticos. O nosso valor médio é igual a 0,18 mg/100 g, em boa concordância com o valor médio de 0,14 mg/100 g dos resultados dos investigadores franceses.

Riboflavina — Os teores, determinados experimentalmente, por via química, da riboflavina, eram já excepcionalmente elevados no peixe fresco, e mais ainda no peixe seco: no peixe fresco 1,1 mg/100 g e no peixe seco 4,0 mg/100 g (valores médios). Referidos a material seco teríamos, respectivamente, 4,6 mg/100 g e 6,0 mg/100 g, correspondendo assim à secagem um acréscimo de cerca de 30 % de substâncias fluorescentes, com propriedades químicas semelhantes às da riboflavina. Utilizando cromatografia em papel, determinações de espectros de fluorescência e medidas polarográficas, verificámos que grande parte da riboflavina, se não toda, tinha sido destruída; com efeito, pela cromatografia em papel não conseguimos a separação e identificação desta vitamina e os espectros de fluorescência, assim

QUADRO III

Peixe da costa de Angola

	PARTE CARNOSA	
	Valores médios, referidos a material seco	
	Peixe fresco	Peixe seco
Proteínas (g/100 g)	89,5	89,7
Gorduras (g/100 g)	10,0	7,3
K-Calorias/100 g	467	457
Resíduo insaponificável (g/100 g)	1,1	1,1
E $\frac{1}{1}$ % 230-235 m μ (Res. insap.)	0,19	11,4
$\frac{1}{1}$ % 280 m μ (Res. insap.)	0,044	3,94
Tiamina (mg/100 g)	0,325	0,27
Substâncias fluorescentes do tipo riboflavina (mg/100 g)	4,6	6,0
Niacina (mg/100 g)	9,2	6,1

como os polarogramas, eram completamente diferentes dos da vitamina B₂. Os resultados analíticos, microbiológicos, de Adrian e colaboradores, indicando uma destruição quase total da riboflavina (80 %) no peixe seco, são confirmados pelos nossos resultados experimentais. Contudo, devemos destacar que, no material em estudo, existem quantidades apreciáveis de substâncias fluorescentes com comportamento químico, em relação aos processos analíticos utilizados, muito semelhantes ao da riboflavina.

Niacina — Os valores médios do peixe seco e fresco são, respectivamente, 4,1 mg/100 g e 2,2 mg/100 g que reduzidos a material seco dão para o peixe seco 6,1 mg/100 g e para o peixe fresco 9,2 mg/100 g; isto corresponde a cerca de 34 % de destruição de niacina no peixe seco. Os nossos resultados em niacina são cerca de um terço dos teores apresentados por Adrian; são também muito menos erráticos. A destruição de niacina, calculada por comparação com os teores em peixe fresco de Angola, é superior à mencionada por Adrian.

Resíduos insaponificáveis

Os valores médios dos resíduos insaponificáveis no peixe fresco e seco, respectivamente, 0,269 % e 0,745 %, são perfeitamente comparáveis, correspondendo num e noutro caso a 1,1 %, referido a materiais secos.

Os espectros de absorção no ultravioleta (Fig. 5) das soluções, em álcool etílico absoluto, dos resíduos insaponificáveis, apresentam como no caso do peixe fresco, as três regiões de absorção selectiva: 220-250 m μ , 250-300 m μ e 300-450 m μ . Quase todas as amostras apresentam bandas bem definidas, com máximos entre 230 e 240 m μ , possivelmente, devidos a cetonas insaturadas α , β . Também, quase todas as amostras apresentam bandas bem definidas, com alguma estrutura, entre 260 e 290 m μ , com o máximo principal nas vizinhanças de 280 m μ ; uma parte importante desta absorção deve ser atribuída ao 7-de-hidrocolesterol; a absorção entre 300 e 450 m μ é menos característica, correspondendo-lhe uma série de inflexões e bandas mal definidas a que não é possível atribuir a origem. Não se obtêm as reacções de cor da vitamina A e o espectro dos carotenoides também não é nítido. As intensidades de absorção no ultravioleta são cerca de 100 vezes mais elevadas do que nas fracções correspondentes do peixe fresco; isto indica que nos processos de secagem e conservação se verifica um aumento de insaturação nos constituintes do resíduo insaponificável; considerando os valores médios, temos em 230-235 m μ um aumento de noventa e uma vezes e em 280 m μ de 88 vezes.

Amino-ácidos

A inspecção das curvas das Figs. 2 e 3, mostra a separação dos amino-ácidos, com volumes de retenção, praticamente, iguais. Tanto nas curvas de peixe seco, como do peixe fresco, há pequenas bandas e inflexões, correspondentes a pequenas quantidades de substâncias não identificadas. Os teores de amino-ácidos nos diferentes peixes secos (Quadro II) são da mesma ordem de grandeza, e não significativamente diferentes dos teores determinados no peixe fresco (carapau). Comparando os nossos valores com os apresentados por Adrian e colaboradores para 9 amino-ácidos de peixe seco de Angola verifica-se uma boa concordância entre as médias dos resultados, em que os maiores afastamentos (lisina e treonina) são inferiores a 15 %. Contudo, há uma grande diferença entre os nossos resultados experimentais e os de Adrian nos teores extremos em amino-ácidos. Enquanto nos resultados de Adrian, os intervalos dos teores extremos atingem 94 % do valor médio determinado para a cistina e nos resultados em conjunto cerca de 70 %, o afastamento máximo nos nossos valores é de 32 %, no caso da leucina, e em média cerca de 20 %. Torna-se assim oportuna a comparação dos nossos resultados com as quantidades de amino-ácidos nas proteínas totais do ovo; verifica-se para os amino-ácidos essenciais [16], (Quadro IV e V) deficiência de triptofano (média, - 39 %), fenilalanina-tirosina (- 27 %), metionina-cistina (- 20 %), valina (- 20 %), isoleucina (- 20 %), arginina (- 10 %) e leucina (- 7 %); excesso de lisina (+ 45 %); comportamento irregular no caso da histidina; e teor de treonina que não se afasta muito da quantidade nas proteínas totais do ovo. No que respeita aos outros amino-ácidos, há elevado teor de ácido aspártico, de glicina e de ácido glutâmico; baixo teor de prolina e serina. Estes resultados mostram que o amino-ácido *limitativo* [17] deverá ser o triptofano, definindo a *classe química* média (Mitchell) de 64, o índice de amino-ácidos essenciais (Oser) de 83,7 [18] e o *valor biológico* médio de 79. Os valores biológicos, calculados respectivamente pelas equações de regressão de Oser e Mitchell [19], não são muito diferentes, coincidindo os valores médios.

Na correlação dos resultados analíticos dos amino-ácidos com os valores biológicos, mantivemos como padrão as proteínas totais do ovo, com os teores de amino-ácidos essenciais indicados por Orr e Watt [20], em vez dos valores de Block e Bolling [21]. No cálculo dos «índices dos amino-ácidos essenciais, I. A-A. E.», juntámos a tirosina à fenilalanina (recomendação de Mitchell, 1954) [22] e mantivemos a arginina (recomendação de Oser, 1959) [19]. A correlação entre os «índices

de amino-ácidos essenciais» e os «valores biológicos» estabelecemo-la pela equação de regressão de Oser [19]:

$$\text{Valor biológico} = 1,09 \text{ (I. A-A. E.)} - 11,73$$

Comparando os nossos valores do peixe seco com os descritos por Oser [19], para a carne de mamíferos (vaca, carneiro, porco), de aves (galinha, pato) e peixe, verifica-se que os índices de amino-ácidos essenciais são da mesma ordem de grandeza (80-84, assim como os valores biológicos (76-80).

O estabelecimento do triptofano, como amino-ácido limitativo, parece não admitir dúvidas. A hidrólise foi realizada em condições dum mínimo de perda e as determinações colorimétricas foram controladas pelos espectros de absorção, obtendo-se para todos os hidrolisatos as curvas típicas do produto de condensação (λ_{max} 600 m μ). A seguir ao triptofano, as maiores deficiências encontram-se nos amino-ácidos aromáticos, fenilalanina-tirosina, nos amino-ácidos com enxofre, metionina-cistina, e na valina e isoleucina.

QUADRO IV

Percentagens das diferenças de teores de amino-ácidos nas proteínas de peixes, em relação às proteínas totais do ovo

Amino-ácidos	Composição do ovo	Carapau fresco	Peixe seco				
			Carapau	Anchova	Judeu	Charro amarelo	Canivete
Arginina	6,56	-21	-12	+ 2	- 10	-15	- 5
Histidina	2,40	+25	0	+33	+133	0	-21
Lisina	6,40	+53	+33	+53	+ 42	+47	+44
Triptófano	1,65	-40	-35	-27	- 44	-36	-37
Treonina	4,98	+12	+ 2	- 4	- 4	-10	+14
Leucina	8,80	- 2	-21	- 6	- 5	- 5	- 3
Isoleucina	6,60	-12	-21	-21	- 20	-26	-18
Valina	7,42	-12	-23	-16	- 18	-16	-35
Metionina e cistina ...	5,48	- 9	-23	-25	- 20	-25	-18
Fenilalanina e tirosina...	10,08	-15	-27	-34	- 23	-27	-36

As determinações de azote total e os resultados analíticos dos hidrolisatos das proteínas do peixe seco levam-nos à conclusão que,

do ponto de vista do teor de amino-ácidos, não se verificam diferenças significativas dos resultados obtidos com o peixe fresco. O alto teor de lisina e o seu valor comparável com o peixe fresco parece indicar que a reacção de Maillard [23] não se dá profundamente durante os

QUADRO V

Teores de amino-ácidos essenciais nas proteínas de peixes
(percentagens calculadas na base de 16 % de azote)

Índices de amino-ácidos essenciais (I. A. — A. E.), classe química e valores biológicos (V. B.)

Amino-ácidos	Ovo	Carapau fresco	Peixe seco				
			Carapau	Anchova	Judeu	Charro amarelo	Canivete
Arginina	6,56	5,2	5,8	6,7	5,9	5,6	6,2
Histidina	2,40	3,0	2,4	3,2	5,6	2,4	1,9
Lisina	6,40	9,8	8,5	9,8	9,1	9,4	9,2
Triptofano	1,65	0,99	1,07	1,2	0,92	0,92	0,93
Treonina	4,98	5,6	5,1	4,8	4,8	4,5	5,7
Leucina	8,80	8,6	6,9	8,3	8,4	8,4	8,5
Isoleucina	6,60	5,8	5,2	5,2	5,3	4,9	5,4
Valina	7,42	6,5	5,7	6,2	6,1	6,2	4,8
Metionina e cistina ...	5,48	5,0	4,2	4,1	4,4	4,1	4,5
Fenilalanina e tirosina...	10,08	8,6	7,3	6,6	7,8	7,3	6,5
I. A. — A. E.	(100)	87,9	87,9	84,9	85,4	82,1	80,5
V. B. (Oser)	97	84,1	80,8	81,7	81,4	77,8	76,0
Amino-ácido limitativo — Triptofano							
Classe química	—	60	65	73	56	64	63
V. B. (Mitchell)... ..	—	77	80	85	74	79	79

processos de secagem e salgação; mantém-se contudo a questão se teria havido, como consequência das operações industriais, modificações nas estruturas das proteínas, com mudança da sua eficiência de utilização. Modificações nas estruturas secundárias podem ter afectado o grau e velocidade de digestibilidade, com diferenças no valor nutritivo geral e, especificadamente, no valor biológico. Para a resolução deste problema, parece impor-se a utilização de hidrólises enzi-

máticas controladas. Considerando apenas os presentes resultados experimentais, conclui-se que os processos de secagem e salgação não trazem modificação significativa ao teor de amino-ácidos nos hidrolisatos e, deste ponto de vista, o peixe seco comporta-se como equivalente ao peixe fresco e às proteínas provenientes doutros animais (mamíferos e aves).

RESUMO

Fizemos determinações de azote total, extracções com éter de petróleo, determinações quantitativas dos resíduos insaponificáveis e das vitaminas do complexo B — tiamina, riboflavina e niacina — e estudo espectrofotométrico das fracções insaponificáveis, em peixe seco proveniente de várias espécies. Considerando os resultados obtidos com as vitaminas do complexo B e comparando-os com as determinações em peixe fresco, verifica-se uma certa destruição de tiamina (destruição média 17 %) e de niacina (34 %). Com a riboflavina verifica-se um acréscimo de fluorescência (cerca de 30 %) mas não há dúvidas que os resultados, excepcionalmente elevados, são devidos à formação de substâncias estranhas, com propriedades químicas muito semelhantes às da riboflavina.

Em comparação com os espectros de absorção dos resíduos insaponificáveis das gorduras do peixe fresco, o peixe seco apresenta resíduos insaponificáveis com absorção muito mais forte na região ultravioleta e visível; aparece nitidamente a absorção característica das provitaminas D (7-de-hidrocolesterol).

Determinaram-se, quantitativamente, 18 amino-ácidos em hidrolisatos de proteínas de peixe seco, proveniente de Angola, por separação cromatográfica, em colunas de resinas de troca, e determinações espectrofotométricas; para o triptofano utilizou-se a reacção com o aldeído p-dimetilaminobenzoico e ácido nitroso, e medida da intensidade de cor.

Verificou-se que não há diferenças significativas entre os teores dos amino-ácidos nos peixes fresco e seco. Estabeleceu-se o triptofano como provável amino-ácido *limitativo*, sendo também deficientes os amino-ácidos aromáticos, fenilalanina-tirosina, os amino-ácidos com enxofre, metionina-cistina, e a valina e isoleucina. Determinaram-se as *classes químicas* (56-65), os *índices de amino-ácidos essenciais* (80-85) e os *valores biológicos* (74-81), calculados a partir dos resultados analíticos. Conclui-se que os valores biológicos, calculados, do peixe seco, estão em boa concordância com os valores biológicos, observados e calculados, para o peixe fresco e carne de mamíferos e aves.

SUMMARY

We carried out quantitative determinations of total nitrogen, of fats and lipoids by extraction with petrol ether, of unsaponified residues and of some vitamins of the B complex, upon dried fish. Comparison with results from fresh fish shows some destruction of thiamine (*ca* 17 %) and niacin (*ca* 34 %); with riboflavin there is an increase of fluorescence (*ca* 30 %) but there is evidence that this is due to some interfering substances.

The intensities of the absorption spectra, on the ultraviolet and visible regions, obtained with the unsaponified matter from fat and lipoids of dried fish is much higher than those obtained from fresh fish; the absorption spectra show the presence of provitamin D (7-de-hydrocholesterol).

Quantitative determinations of 18 amino acids in hydrolysates of proteins, from dried fish of Angola, have been carried out by exchange resin chromatography and spectrophotometry; tryptophan was determined by the colour reaction with p-dimethylaminobenzaldehyde and nitrous acid.

It has been shown that there are no significant differences between the amino acid contents of fresh and dried fish. It was established that tryptophan is probably the *limiting* amino acid; the fish proteins are also deficient in aromatic amino acids, phenylalanine-tyrosin, in the sulphur-containing methionine and cystine, and in valine and isoleucine. From the analytical results, the *chemical scores* (56-65), the *essential amino acid indexes* (80-85) and the *biological values* (74-81) were computed. It has been ascertained that the calculated biological values for the dried fish were in good agreement with the observed and calculated biological values for fresh fish, beef, lamb, pork, veal, chicken and duck muscles.

This research was done in the «Centro de Estudos de Química» annexed to the «Laboratório Químico» of the Faculty of Sciences of the University of Coimbra, using a grant from the Overseas Research and Geographical Missions Board (Group for Surveys of the Overseas Provinces together with the Coimbra Faculty of Sciences). Certain apparatus, which have been purchased some time previously, with grants from the «Instituto de Alta Cultura», «Fundação Calouste Gulbenkian» and «Fundo Sá Pinto», were also used.

BIBLIOGRAFIA

- [1] ADRIAN, J., JACQUET, R. e BERTIN, C., *Boletim do Instituto de Angola*, 8, 115 (1956).
- [2] Cf. GOUVEIA, A. J. A. de, GOUVEIA, ALFREDO P., CORREIA J. ANACORETA e FONSECA, MARIA HELENA R., «Garcia de Orta», vol. iv, n.º 4, pág. 531-555.
- [3] MUERS, M. M. e HONSE, M. A., *Analyst*, 74, 85 (1949).
- [4] HAMILTON, P. B. e ORTIZ, P. J., *Anal. Chem.*, 22, 1107 (1950).
- [5] MOORE, S. e STEIN, W. H., *J. Biol. Chem.*, 211, 907 (1954).
- [6] MACPHERSON, H. T., *Biochem. J.*, 40, 470 (1946).
- [7] SPIES, J. R. e CHAMBERS, D. C., *Anal. Chem.*, 21, 1249 (1949).
- [8] MOORE, S. e STEIN, W. H., *J. Biol. Chem.*, 176, 337, 367 (1948); 178, 53 (1949); 192, 663 (1951); 211, 893, 907 (1954).
- [9] SPIES, J. R. e CHAMBERS, D. C., *Anal. Chem.*, 20, 30 (1948); 21, 1249 (1949).
- [10] HAMILTON, P. B., *Anal. Chem.*, 30, 914 (1958).
- [11] DRÈZE, A., MOORE, S. e BIGWOOD, E. J., *Anal. Chim. Acta*, 11, 554 (1954).
- [12] BLOCK, R. J., DURRUM, E. L. e ZWEIG, G., «A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis», Academic Press, Inc. Nova York, 1958.
- [13] SCHWEET, R. S., *J. Biol. Chem.*, 208, 603 (1954).
- [14] TROLL, W. e LINDSLEY, J., *J. Biol. Chem.*, 215, 655 (1955).
- [15] BLANCK, F. C., «Handbook of Food and Agriculture», Reinhold Publishing Co., Nova York, 1955.
- [16] ROSE, W. C., *Harvey Lectures Ser.*, 30, 49 (1935); MADDEN, S. C. e WHIPPLE, G. H., *Physiol. Revs.*, 20, 194 (1940); FRAZIER, L. E., WISSLER, R. W., STEFEE, C. H., WOOLRIDGE, R. L. e CANNON, P. R., *J. Nutrition*, 33, 65 (1947).
- [17] MITCHELL, H. H. e BLOCK, R. J., *J. Biol. Chem.*, 163, 599 (1946); *Nutrition Absts. & Revs.*, 16, 249 (1946).
- [18] OSER, B. L., *J. Am. Diet. Ass.*, 217, 197 (1951).
- [19] OSER, B. L., «Protein and Amino Acid Nutrition», Editor A. A. Albanese, Academic Press, 1959, pág. 292.
- [20] ORR, M. L. e WATT, B. K., «Home Econ. Research Repts», 1957, n.º 4.
- [21] BLOCK, R. J. e BOLLING, D., «The Amino Acid Composition of Proteins and Foods», C. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
- [22] MITCHELL, H. H., *Wiss. Abhandl. deut. Akad. Landwirtschaft*, 2, 279 (1954).
- [23] MAILLARD, L. C., *C. R. Soc. Biol.*, 72, 599, Paris, 1912; LEA e HANNAN, *Biochim. biophys. Acta*, 5, 433 (1950); HENRY e KON, *ibid.* 455; SOUTHCOFF, B. A. e TARR, H. L. A., *J. Fish Res. Bd. Can.*, 10, 64 (1953); BISSETT, H. M. e TARR, H. L. A., *Poult. Sci.*, 33, 250 (1954); INGRALDSEN, T., *Canad. Chem. Metall.* 13, 97 (1929); INGALLS, R. L. et al., *Bull. Mich. Agric. Exp. Sta.*, 219 (1950); MILLER, D. S., *J. Science Food Agriculture* 7, 337 (1956).



À CERCA DO LIVRO
«GUIA DE ANÁLISE QUÍMICA DAS ÁGUAS»
DE A. HERCULANO DE CARVALHO

R. A. GUEDES DE CARVALHO

O aparecimento de um livro de química em língua portuguesa é sempre agradável de registar, dada a exiguidade da nossa literatura neste ramo. O caso presente tem ainda outros motivos de satisfação: trata de um assunto no qual já existem tradições entre nós, pois os grandes nomes portugueses na química, como Ferreira da Silva, Charles Lepierre e outros, a ele se dedicaram, e esse assunto é apresentado pela pessoa que, na actual geração, está, sem sombra de dúvida, em melhores condições para o fazer, dada a sua competência e experiência no assunto versado.

Segundo nossa opinião o nome do livro traduz fielmente o espírito do autor e seus colaboradores, que não pretenderam escrever um tratado ou livro de curso sobre análises de águas, nem tão pouco quiseram apresentar uma colectânea de métodos padrões que seriam uma transcrição fria dos diversos métodos que existem publicados pelas várias comissões de normalização. A leitura do livro deixa bem perceber a larga experiência do seu autor, e até a terminologia usada ao longo da obra é a de um químico que descreve aquilo que fez e não aquilo que outros dizem para ser feito. O uso de certos termos que mais se poderia dizer aproximarem-se de um «calão» de laboratório do que da clássica forma didáctica, foi um dos pormenores que achamos de muito agrado, pois torna o livro mais receptivo para aqueles a quem ele se destina, isto é, aos químicos que têm que efectuar ensaios de laboratório sobre águas. E a confirmar esse interesse o facto de no nosso laboratório ser já o livro seguido na execução de alguns ensaios correntes de águas.

Notamos que a revisão das provas tipográficas é deficiente, pois além das gralhas indicadas na errata, várias outras assinalámos ao longo da obra, todas geralmente facilmente detectáveis (excepto na

pág. 10, alínea 4, 124, onde supomos que as fórmulas são, respectivamente, $D=0,04 n$ e $d=0,2 n$).

Na representação das actividades estamos mais habituados a { } do que a (), o que nos causou uma certa confusão quando da leitura.

Ao tratar do assunto da dureza seria útil indicar as relações com outros graus de dureza, pois embora a tendência seja a expressão em mval, surge ainda muito ao analista de águas a necessidade, a pedido dos clientes, da expressão em graus alemães ou ingleses.

No doseamento colorimétrico do ferro parece-nos que, no caso de existir titânio como se prevê, possa haver uma interferência devido à cor desenvolvida quando se adiciona a água oxigenada. Não sabemos contudo se a presença de tiocianato impedirá essa interferência.

Ao tratar da colheita da água para o doseamento do oxigénio, teria sido interessante indicar as ampolas especiais para colheita e doseamento indicadas, por exemplo, pelos métodos A. S. T. M.

Na determinação da agressividade de uma água gostaríamos de ter visto descrito um método mais expedito além do que é indicado.

Quanto ao doseamento do estrôncio supomos ser hoje em dia o método de espectrofotometria de chama o mais recomendado, muito especialmente dadas as pequenas quantidades do elemento presentes nas águas.

Teríamos também apreciado a inclusão no livro de um capítulo com as características limites para águas industriais pois este é um dos problemas com que depara frequentemente o analista quando tem que dar um parecer acerca da possibilidade de aplicação de certa água a determinada operação industrial.

Em resumo diremos que o presente livro reúne um conjunto de métodos equilibradamente escolhidos, onde não se procurou apresentar somente métodos muito recentes, e onde os métodos clássicos nos surgem suficientemente depurados por uma larga experiência.

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 – *Sumário 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, seguindo-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 C. A. WINKLER, *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, simplificados 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 Graphites», 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 nº 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 - Nomenclatura*

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 da 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 o 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 que para 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 de 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	=====	PALAVRAS EM VERSALETES
Sublinhar com três linhas	=====	PALAVRAS EM CAIXA ALTA
Sublinhar com uma linha ondulada	~~~~~	palavras em negro
Sublinhar com uma linha descontinua	- - -	p a l a v r a s e s p a ç a d a s

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

Utilização das lenhites como permutadoras de iões <i>M. Lusa Martins</i>	3
Evolução da radioactividade da água de algumas chuvas <i>B. Edmée Marques, M. Regina Grade e C. Nunes Viana</i>	9
Contribuição para a estrutura do 1,2-Dibromo-tetrametiletano <i>L. M. Vaz de Sampayo</i>	57
Algumas determinações físico-químicas da água mineral das Caldas de Monchique <i>J. Simões Redinha</i>	67
Uma nova reacção de ciclização mediante a acção de dois átomos de metal alcalino sobre o-dibenzoilbenzeno <i>B. J. Herold</i>	101
Contribuição para o estudo químico de peixe seco de Angola <i>A. P. Gouveia e A. J. A. de Gouveia</i>	133

Secção B

Dosimetria das radiações por métodos químicos <i>M. Carmo Anta</i>	85
Àcerca do livro «Guia de análise química das águas» de A. Herculano de Carvalho <i>R. A. Guedes de Carvalho</i>	155

Secção C

A determinação colorimétrica do Alumínio <i>Maria Cristina Moreira de Almeida e C. Moura Pulido</i>	31
---	----

Secção D

Progressos recentes dos métodos de migração diferencial aplicados à Química Inorgânica <i>R. Guedes de Carvalho</i>	41
Normas para a colaboração na Revista	157



Índice de Autores

- | | |
|------------------------------|------------------------|
| ALMEIDA, M. C. M. — 31 | MARQUES, B. E. — 9 |
| ANTA, M. C. — 85 | MARTINS, M. L. — 3 |
| CARVALHO, R. A. G. — 41, 155 | PULIDO, C. M. — 31 |
| GOUVEIA, A. J. A. — 133 | REDINHA, J. S. — 67 |
| GOUVEIA, A. P. — 133 | SAMPAYO, L. M. V. — 57 |
| GRADE, M. R. — 9 | VIANA, C. N. — 9 |
| HEROLD, B. J. — 101 | |



Composto e impresso
nas
Oficinas Gráficas de
RAMOS, AFONSO & MOITA, LDA.
S. Vicente de Fora
LISBOA

