

# ANNAIS

DA

## Associação Química do Brasil

### DIREÇÃO:

C. E. NABUCO DE ARAUJO JR.

FRANCISCO J. MAFFEI

TAIGOARA AMORIM

### SUMÁRIO DESTE NÚMERO:

	Pag.
Ruben Descartes de G. Paula — Investigações sobre o óleo de café .....	57
Terence R. M. Molan — A cera do <i>Ceroplastes grandis</i> da <i>Mimosa acutifolia</i> .....	75
Antonio Sacco Neto — Uma experiência de aplicação do óleo de <i>Andá-assú</i> .....	77
H. Moussatché — Ação dos altos teores de gás carbonico sobre as convulsões experimentais .....	80
Italo V. Matoso — Determinação da tiamina livre e fosforilada — Aplicação da técnica de Jansen .....	84
José Maria Chaves e Oscar Ribeiro — Dosagem da riboflavina em alimentos .....	91
Paulo da Rocha Azevedo — A influência dos fenóis do creosoto na preservação das madeiras .....	97
José Luiz Rangel — A goma de angico .....	109
Luciano Barzaghi e Frederico B. Angeleri — O aproveitamento do fluor do topazio da mina Inhandjara .....	117
Julio Rabin — O emprego da madeira na construção de colunas de retificação .....	121
Heinrich Hauptmann e Jandira França — Um simples micro-extrator .....	126

PUBLICADOS TRIMESTRALMENTE PELA  
ASSOCIAÇÃO QUÍMICA DO BRASIL

REGISTRADOS NO D.I.P. SOB N.º 14.385

DIRETOR RESPONSÁVEL: C. E. NABUCO DE ARAUJO JR.

CAIXA POSTAL 550 — RIO DE JANEIRO



# ASSOCIAÇÃO QUÍMICA DO BRASIL



## SECRETARIA:

Rua Senador Dantas, 19 — 1.º andar — Rio de Janeiro

## DIRETORIA:

Presidente: Theodoretto Arruda Souto

Vice-Presidente: Francisco de Moura

Secretário: C. E. Nabuco de Araujo

Tesoureiro: Francisco J. Maffei

## CONSELHO:

**Conselheiros gerais:** Antonio Furia, Jorge da Cunha, Leopoldo Miguez de Melo, Silvio Frois Abreu e Taygoara Amorim.

**Conselehiros Regionais:** BELO HORIZONTE: Lourenço Menicucci Sobrinho — BAÍA: Derval Gramacho — CAMPOS: Robert de Capol — DISTRITO FEDERAL: Coriolano José P. da Silva, Geraldo Mendes de Oliveira, Luiz Inacio Miranda e Jaime Ptolomi da Rocha — PARAÍBA: José Assis Pereira de Melo — PARANÁ: Ernesto Sigel Filho — PERNAMBUCO: Manoel Jaime Galvão — PIRACICABA: Paul Madon — PORTO ALEGRE: Carlos Burger Jor. — SÃO PAULO: José Capocchi e Julio Rabin.

## SECÇÕES REGIONAIS:

BAÍA — Escola Politécnica — Salvador

BELO HORIZONTE — Rua da Baía, 51 - Belo Horizonte

CAMPOS — Caixa Postal 102 — Campos, Est. do Rio

DISTRITO FEDERAL — Rua Senador Dantas, 19 1.º - Rio de Janeiro

PARAÍBA — Avenida Minas Gerais, 114 - João Pessoa, Est. da Paraíba

PARANÁ — Caixa Postal, 672 - Curitiba - Est. do Paraná

PERNAMBUCO — Rua Soledade, 265 - Recife, Est. de Pernambuco

PIRACICABA — Usina Tamoio, Tamoio, C. P., Est. de S. Paulo

PORTO ALEGRE — Rua dos Andradas, 1641, sala 4 - Porto Alegre

SÃO PAULO — Predio Martinelli, Sala 1420 - São Paulo



---

# ANNAIS

## DA

# Associação Química do Brasil

Volume II — Abril = Junho, 1943 — Número 2

---

[CONTRIBUIÇÃO DOS LABORATÓRIOS POLIN — RIO DE JANEIRO]

### INVESTIGAÇÕES SOBRE O OLEO DE CAFE' (\*)

Por Rubens Descartes de G. Paula

Em seu trabalho, sobre a química do café, Slotta, Neisser e outros (1) chamam a atenção para a importância do óleo do café, máxime dos seus componentes de natureza vitamínica hormonal constantes dos insaponificáveis. O presente trabalho relata os resultados das pesquisas que fizemos nesse setor que abrangem:

- 1) Pesquisa do tocoferol, ou vitamina E.
- 2) Fracionamento da massa dos insaponificáveis e o estudo de cada fração isolada.

#### I — Tocoferol ou Vitamina E

E' um fato estabelecido pela observação e pela experiência que o tocoferol está, via de regra, ligado, em produtos vegetais, a princípios anti-oxidantes ou inibidores da rancificação de matérias graxas. Ora, contendo o grão de café uma taxa bem elevada de matéria graxa (9 a 13%), mesmo depois de "morto", ou esterilizado o referido grão não se deixa rancificar; a mesma resistência à rancificação e oxidação, tem o seu óleo isolado (do grão). Esse fato estava indicando o óleo de café como uma fonte do fator anti-esterilidade.

Iniciamos o trabalho pela pesquisa qualitativa do tocoferol

---

(\*) Apresentado à Divisão de Química Tecnológica, no 2.º Congresso da A.Q.B., realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



diretamente no óleo e pela reação de Furter Meyer. Embora se note no correr da reação do ácido nítrico sobre a solução do óleo em butanol (normal ou iso) uma gama complexa de colorações (vermelho fugaz — verde — castanho turvo — vermelho sanguíneo e, finalmente, castanho — em que se sabe haver as cores amarela e vermelha), a coloração final revela (pelo vermelho) a existência de tocoferol no óleo de café. Existência, aliás, também revelada pela reação de Emmerie e Engel.

Sabendo-se que ha substâncias, como cafecol, quinonas, etc., suscetíveis de existirem em óleos naturais, sobretudo nos extraídos por solventes, como é o nosso caso, capazes de darem também, a reação de Furter Meyer, tomamos precauções para eliminá-las do meio (lavagem do óleo, saponificação e isolamento do insaponificável, etc.), e nos produtos assim libertos de eventuais interferentes continuou positiva a reação de tocoferol, porém, também persistiram os interferentes da reação.

À vista do exposto, mau grado a perturbação de substâncias interferentes da reação, fomos levados a uma primeira tentativa de dosagem da vitamina E, diretamente no óleo, pelo mencionado método Furter Meyer (fotométrico) e segundo a técnica descrita pelo Dr. G. Villela, (2) do Instituto de Manguinhos.

Algumas anomalias verificadas nessas dosagens nos fizeram proceder ao estudo da vitamina E no óleo de café, comparativamente com a do óleo de germen de milho e de concentrado estandardizado de tocoferol (da *Distillation Products, Inc.*). Cedo verificamos que as curvas de absorção estabelecidas por Villela, para os concentrados de tocoferol e óleos de germen de trigo, de milho, etc., não se aplicavam para o óleo de café. Fizemos, então, com a colaboração do químico Ary Aragão, novas curvas de absorção através dos mesmos concentrados de tocoferol e óleo de germen, e ainda assim, não pudemos aplicar essas curvas para o óleo de café, quer usando o óleo, quer, o seu insaponificável, que preparamos, partindo de diversas amostras. Fato curioso: a gama colorida gerada na ação do ácido nítrico sobre o óleo, reproduziu-se, praticamente idêntica, sobre o insaponificável, o que quer dizer não ter havido grande progresso quando quisemos aplicar o método Furter Meyer (reação F. M.) no insaponificável, em vez de fazê-lo no óleo original.

A esse tempo o químico Noel Kuhrt, deste laboratório, aplicava para as mesmas amostras de óleo, já submetidas à reação F. M., o método de Emmerie e Engel, dando, este método, como aquele, resultados positivos, ora baixos, ora mais altos, numa palavra: controvertidos.

Colaborando ainda nessas pesquisas com o Dr. Kuhrt, quando obtive ele os primeiros fracionamentos do óleo de café no



aparelho de destilação molecular, tomamos as doze frações obtidas e as submetemos à reação F. M.; ainda nesse caso, os resultados não foram satisfatórios. A reação F. M. foi mais ou menos confusa em todas as frações, não tendo evidenciado que houvesse uma ou algumas dessas frações suficientemente ricas em tocoferol e este em estado de maior pureza do que no óleo original, pois a reação continuava em todas com mais ou menos as mesmas cambiantes de côr já mencionadas: — verde, castanha, vermelha intensa e finalmente castanho-avermelhada, nuns casos e apenas amarela em outros.

Em nova tentativa dividimos tais frações da destilação molecular em tres grupos: 1) as frações de temperatura de destilação mais baixa — sólidas; 2) as de temperatura de destilação média — óleo semi-viscoso e de coloração castanha e finalmente, 3) as frações de ponto de destilação mais elavado, mais claras e fluídas. Preparamos o insaponificavel de cada um dos grupos e sobre cada insaponificavel foi experimentada a reação F. M. variando, cada um dos demais, apenas na intensidade das respectivas cores da gama já tantas vezes lembrada.

Em vista desses insucessos, empreendemos novo rumo: procurar isolar no insaponificavel do óleo de café uma ou mais frações ricas no eventual tocoferol, submetendo o insaponificavel aos diferentes métodos que vamos examinar:

1) Slota, Neisser e outros, no seu citado trabalho (1), no capítulo denominado: *Tres novas substâncias do café* — falam do fracionamento do insaponificavel por meio de solventes e cristalizações sucessivas, de substâncias que chamaram A, B, C e de uma quarta B<sub>1</sub>; não cogitam, porem, eles do tocoferol, nem tão pouco se referem a qualquer das reações características desse redutor. Tivemos, pois, a idéia de reproduzir a marcha de fracionamento desses pesquisadores, tendo em vista ver se alguma de suas frações continha concentrada ou mais purificada a vitamina E. Não foram mais animadores os resultados obtidos: nenhuma das frações correspondia a uma concentração apreciavel e mais purificada do fator anti-esterilidade. (\*).

II) Sendo conhecida uma habitual associação, nos produtos naturais, da vitamina E com substâncias antioxidantes, a que nos referimos atrás, este devia ser o caso do óleo do café e de seu insaponificavel; tornava-se, então, aconselhavel aplicar para ele o processo de separação de Evans e Burr (3) pelo tratamento do insaponificavel com a mistura eter de petróleo-álcool meti-

---

(\*) Retomamos, mais tarde, essa marcha de análise ou fracionamento do insaponificavel, modificada, dando-lhe uma nova orientação, o que constitue a segunda parte deste trabalho.



lico de 92%. Nesse caso o tocoferol devia passar para a fase metanol, ficando o complexo antioxidante na fase eter de petróleo. Tomada uma porção da solução alcoólica e evaporado o solvente, a reação F. M. mostrou estar na referida fração as substâncias interferentes já conhecidas da reação do tocoferol. Também a solução etérea (fase eter de petróleo), evaporado o solvente, dava ainda a gama multicolorida com ácido nítrico.

Era nossa intenção, desde que dispuséssemos de bem maior porção de insaponificavel (Olcott e Mattil (4) usaram, de uma vez 250 g de insaponificavel), tentar a separação dos eventuais tocoferol e antioxidante, seguindo o original esquema de Evans e Burr, como descrito minuciosamente para os insaponificáveis dos lipídios da alface, por H. S. Olcott e H. A. Mattil (4).

III) Método cromatográfico: Todd, Bergel e Work (5) descrevem uma notavel marcha para o isolamento dos tocoferóis do óleo de germen de trigo; também a marcha desses autores requer uma grande porção de insaponificavel (o caso por eles descrito envolve 250 g).

Não sendo possível seguir o processo em todas as suas fases, tentamo-lo em parte: Tomamos o insaponificavel e agitamo-lo fortemente com eter de petróleo (p.e. 60/80°C) e a solução filtrada foi passada em coluna de óxido de alumínio ativado de Merck, para obtenção do cromatograma — análise cromatográfica segundo Tswet. (Esta parte foi feita em colaboração com o Dr. Kuhrt).

Obtivemos um cromatograma que, à luz natural, revelou cinco zonas mais ou menos distintas, com as seguintes características, de cima para baixo: zona 1) amarela; zona 2) castanha; zona 3) vermelho-violeta; zona 4) amarela; zona 5) incolor; a solução passada através da coluna e recolhida no *kitasato* — percolato — que chamaremos fração 6, era amarelo claro.

Retiradas do tubo e eluídas separadamente as cinco zonas, com álcool, e evaporado este, obtivemos residuos com as seguintes características:

1) substância entre resinosa (uma parte) e cristalizada (outra), amarelo clara, com pontos castanhos. Reação F. M.: gama de coloração como no caso do óleo e finalmente coloração vermelha fraca, em uma palavra, reação F. M. mais ou menos duvidosa.

2) Ainda parte resinosa e parte cristalizada, amarelas; e parte amorfa, castanho-fosca. Reação F. M. mais duvidosa do que no caso anterior.

3) Massa cristalina (cristais aciculares em feixes) amarelo-clara (representa a porção mais abundante). F. M. negativa.



4) Parte resinosa e parte cristalina quasi branca. F. M. negativa.

5) Massa cristalina (micro cristais) crême-claro, quantidade abundante, F. M. positiva muito fraca, mais ou menos duvidosa como no caso da fração 1).

6) Massa semi-oleosa, semi-cristalina, amarela; F. M. muito fraca.

Como se vê destes resultados parciais ainda esse método deixou duvidosa a questão do fracionamento e obtenção de um concentrado de tocoferol.

Resolvemos, aplicando o método cromatográfico, voltar a agir sobre o óleo, em vez de sobre seu insaponificável.

Fizemos, então, um cromatograma partindo do óleo escuro, extraído com eter. O cromatograma — coluna de 20 cm de comprimento e 2 cm de diâmetro, com óxido de alumínio ativado e o óleo em solução no eter de petróleo, deu, após desenvolvimento, e à luz natural, quatro zonas: zona 1) amarelo-suja; zona 2) amarelo-castanha; zona 3) amarelo-alaranjada; zona 4) amarela; 5) parte não absorvida, recolhida no *kitasato*, o percolato.

Após separação das zonas, aluidas separadamente e evaporado o solvente (álcool), a reação F. M. deu em cada caso:

- |           |    |                                |
|-----------|----|--------------------------------|
| zona      | 1) | ligeira coloração rêssea.      |
| zona      | 2) | reação evidentemente positiva. |
| zona      | 3) | reação positiva.               |
| zona      | 4) | reação positiva fraca.         |
| percolato | 5) | reação negativa.               |

Deve-se notar que o material das zonas 2 e 3 além de dar a reação F. M. positiva, quanto à coloração vermelha característica, (vermelho-cereja, persistente) não deu (tanto num caso como noutro) lugar à cambiante de cor dos casos atrás mencionados. Conseguimos, assim, nos libertar das ou da substância interferente principal (\*).

---

(\*) Adiante, na segunda parte dêste, ao descrevermos o esquema de isolamento dos componentes dos insaponificáveis, voltaremos a esse assunto, focalizando outro meio de conseguir-se concentrado de tocoferol. No mesmo esquema ficou identificada a substância interferente responsável pela gama colorida na reação F. M. sobre o óleo ou sobre alguns de seus derivados. É a fração que designamos  $CB_1$ .



Submetida a mistura das duas frações ao método de Emerie e Engel, em ensaio qualitativo, foi confirmado o resultado positivo da existência de tocoferol no óleo de café, suscetível de ser concentrado e isolado quasi puro de outras substâncias perturbadoras, ou interferentes, nas reações de Furter Meyer e Emmerie e Engel.

Sendo as duas mencionadas reações do tocoferol provenientes da sua natureza redutora, e manifestando-se tais reações mais intensamente no óleo e na massa de seus insaponificáveis do que nos produtos concentrados que conseguimos, devia ser considerada como existente, em tal óleo, outra ou outras substâncias redutoras.

Verificamos, no prosseguimento dessas investigações, que tal substância realmente existia e a ela acabamos de nos referir na última nota.

Tratada essa substância ( $CB_1$ ), em solução alcoólica (butanol) pelo ácido nítrico (reação de Furter Meyer), reproduz-se a coloração volúvel, passando pelo vermelho, o que se assemelha à coloração obtida pelo tocoferol; o vermelho daquela porém, é sanguíneo e fugaz, enquanto o deste (tocoferol) é vermelho-cereja persistente.

Para afastar dúvida quanto à natureza das substâncias dando reação positiva ou aparentemente positiva, realizamos estudos comparativos da reação Furter Meyer entre os concentrados derivados do óleo do café, o óleo de germen de milho e o concentrado padrão de vitamina *E*, chegando à evidência de que o nosso material contém tocoferol.

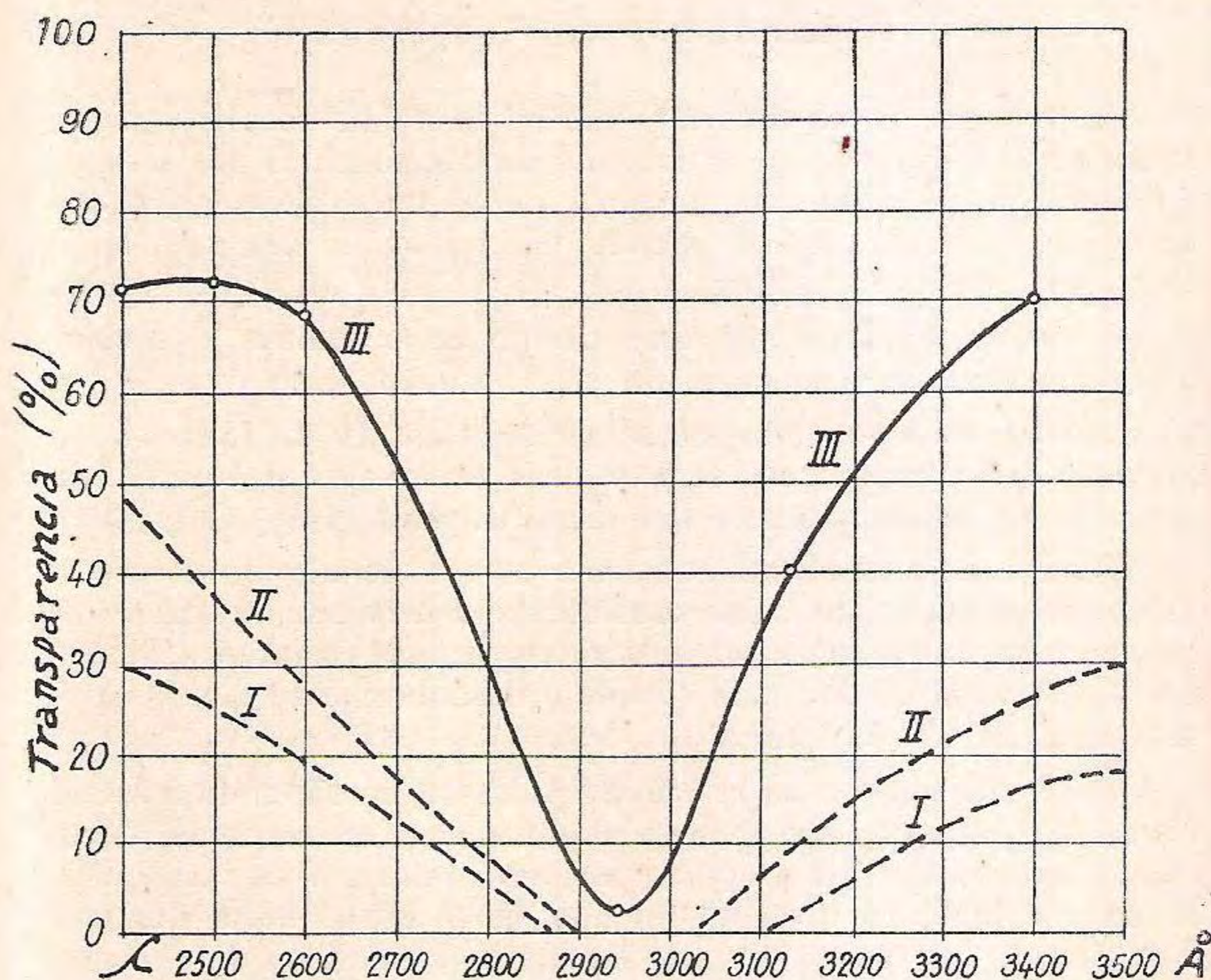
Verdade é que não havendo os processos ensaiados engendrado aquele princípio puro, porém, concentrados mais ou menos ricos em tal fator, mais ou menos isentos de substâncias afins, quanto à natureza redutora, lançamos, ainda, mão de outro meio de investigação: o espectro de absorção, cujas curvas se veem em adendo (\*).

Se o resultado do espectrograma é duvidoso e, quando isolado, pouco valor tem, assim não o é quando em concorrência com os outros métodos ensaiados: Então, sua parte duvidosa pende para a confirmação ou corroboração da existência de vitamina *E* no óleo de café.

---

(\*) Devemos ao químico Ary Aragão a fineza de haver feito a espectrografia, traçado o espectrograma, bem como a interpretação. Consignamos-lhe, aqui, os nossos melhores agradecimentos.





Tocoferol em concentrados de óleo de café. Curvas de absorção obtidas pelo processo do setor rotativo:

- I — Insaponificáveis do óleo de café.
- II — Concentrado obtido pela purificação do insaponificável que serviu para a curva I.
- III — Concentrado de tocoferol.

Dos diversos ensaios de determinação quantitativa feitos quer por nós mesmos, quer por nosso colega Noel Kuhrt, chegamos aos seguintes teores de tocoferol:

no óleo .....	0,02 a 0,05%
no insaponificável .....	0,30 a 0,50%

Tendo em vista a baixa percentagem da vitamina anti-esterilidade, bem mais escassa do que era dado esperar dos primeiros ensaios que realizamos, não julgamos oportuno prosseguir seu estudo no café.

Justificamos, assim, a razão por que não tentamos seu isolamento pelo método mais trabalhoso se bem que mais adequado: o processo — através da formação dos alofanatos.



## II — Fracionamento dos insaponificáveis

Vimos, em tópico anterior, que na busca do tocoferol experimentamos o esquema de isolamento de componentes dos insaponificáveis do óleo de café, original de Slotta e Neisser. Como se vê do trabalho desses autores já citados, e eles mesmos o declaram, não teve conclusão o seu interessante esforço analítico.

Ficamos tentados por esse campo de pesquisas e desejamos, também nós, participar do seu desenvolvimento.

Nosso objetivo seria isolar as substâncias já isoladas ou previstas por Slotta, bem como outras eventualmente existentes, tentando, ao mesmo tempo, sua identificação.

Assim, pois, concomitantemente com o estudo do tocoferol (que já era, aliás, uma das substâncias *eventualmente existentes* no óleo do café, como nos referimos acima) empreendemos o presente estudo de um mais completo desdobramento dos insaponificáveis do óleo do café.

Podíamos deixar de referir ao processo da saponificação do óleo e da preparação da massa dos insaponificáveis, mas, como outros autores que trataram do assunto obtiveram os insaponificáveis por processo diverso, diremos que o usado neste trabalho é o classico: o óleo é tratado em balão comum ou *Erlenmeyer* com solução de potassa alcoólica (30%), na base 1,5 a 2 vezes o teor teórico de hidróxido de potássio calculado necessário para a saponificação; a mistura é levada à ebulição, durante 40 a 60 minutos. Resfriado o sabão, transvasa-se-o para um funil separador, junta-se um volume igual de água e extraem-se os insaponificáveis daí, por sucessivas vezes (4 a 5) com pequenas porções de eter de petróleo (p.ex. 60-70°), ou eter etílico (êste de preferência livre de peróxidos). Os solutos etéreos das extrações parciais e contendo os insaponificáveis, são reunidos em funil separador; o soluto total é, então lavado repetidamente com água, até que esta saia neutra ou livre de álcalis; no mesmo funil agita-se o soluto com sulfato de sódio anidro, para desidratá-lo; filtra-se recolhendo o filtrado em balão de destilação; destila-se o solvente até pequeno volume, transvasa-se para uma cápsula ou cristizador e completa-se a evaporação do resto de solvente, de preferência em dessecador ou estufa a vácuo, à temperatura ambiente. Obtem-se assim o total de substâncias insaponificáveis em forma de massa mais ou menos cristalina, de coloração que vai do amarelo-claro ao castanho-escuro, conforme a procedência do óleo.

Vamos, aliás, antes de entrar no principal objetivo dessa parte de nosso trabalho, expor alguns dados analíticos e de observação sobre o óleo e seu insaponificável.



Extraído por solvente, está o óleo de café (como qualquer outro) sujeito a pequenas variações de aspeto e composição, conforme o solvente usado; assim, em nosso caso obtivemos:

- 1) óleo extraído por clorofórmio comercial (contendo eventualmente álcool, ácidos livres etc.) cor esverdinhada escura.
- 2) óleo extraído pelo clorofórmio puro, no aparelho de Soxhlet — amarelo esverdinhado claro.
- 3) óleo extraído com gasolina de aviação — amarelo dourado.
- 4) óleo extraído com eter etílico — esverdinhado escuro.

O insaponificável participa, em parte, dessa variação de aspetos do óleo; em nossas experiências observamos:

- no óleo 1) insaponificável, massa em parte pastosa, em parte cristalina; castanho escura;
- ” ” 2) massa preponderantemente cristalina, amarelo suja;
- ” ” 3) massa preponderantemente cristalina, amarelo alaranjada, clara;
- ” ” 4) massa semi-pastosa, semi-cristalina amarelo castanho.

O teor de insaponificável é muito suscetível de variações segundo o método de extração do óleo, obtendo os resultados abaixo, em nossas experiências:

Extraído com clorofórmio	{	máximo	11,5%
	{	mínimo	6,7%
Extraído com gasolina	{	mínimo	5,2%
	{	máximo	9,5%
Extraído com eter			7,7%

Para o nosso estudo de fracionamento usamos uma mistura dos insaponificáveis diversos, acima mencionados.

Nosso objetivo nesse trabalho é, repetimos, isolar e identificar os componentes do insaponificável. No meio de diversos esquemas que podiam ser tentados, escolhemos aquele já usado por Slotta e Neisser nos seus estudos, também sobre o insaponificável do óleo de café, com algumas modificações na primeira fase, que é, em parte, idêntica à de Slotta, e prosseguindo por uma segunda fase, nossa.



Em rápidos traços é a seguinte a marcha adotada para o fracionamento em questão: (\*)

O insaponificável, bem seco, é misturado com certa porção de argila lavada e calcinada (ou outra substância inerte) e triturada ou homogeneizada, a mistura, em um gral e transferida para um frasco com rolha esmerilhada e exgotada diversas vezes (agitação demorada — repouso e decantação) por eter de petróleo, a frio; geralmente 4 ou 5 extrações, com uma quantidade de eter de petróleo proporcionada à quantidade de substância empregada na operação, são suficientes, dando o ultimo extrato praticamente incolor.

As diversas frações do extrato são misturados numa só porção; é esta concentrada, por destilação do eter, até consistência óleo-fluida e posta na geladeira (de preferência na câmara de refrigeração), de um dia para outro; forma-se uma parte cristalina que será separada por filtração em cadinho de placa filtrante, a vácuo; o filtrado, adicionado de pequena porção de eter de petróleo, voltará à geladeira e a operação será repetida até não dar mais precipitado cristalino. As diversas colheitas de cristais misturadas constituem a fração  $A_2$ , a qual purificada através de cristalizações sucessivas de álcool, revelou representar *sitosterol*.

O filtrado  $CA_1$  em pesquisa realizada, revelou ainda conter esterol que precipitado com a digitonina, libertado desta e submetido a diversos ensaios, nos evidenciou não ser o sitosterol, mas sim, outro esterol  $CA_4$ .

A fração não esterólica  $CA_3$  libertada do excesso da digitonina e do álcool (evaporada a maior parte do álcool, tomada num funil separador com água e eter e agitada, as substâncias que nos interessam passam para o eter, ficando a digitonina na fase água-álcool, regeitada); evaporado o eter, temos uma substância semi-oleosa semi-resinosa, a qual, dissolvida no eter de petróleo, é submetida à análise cromatográfica, passando a solução através da coluna de alumina ativada Merck; embora não tenhamos logrado um cromatograma bastante nítido, havendo dificuldade de separar as zonas, conseguimos identificar certos componentes que vieram mostrar ser a fração em causa um complexo com os seguintes componentes: *tocoferol*, *carotenoides* e outras substâncias *corantes*, *hidrocarbonetos*, *ácidos graxos oxidados* (resinosos).

Em alternativa, e com melhor resultado, fizemos também a análise cromatográfica da fração  $CA$  diretamente, isto é, sem o afastamento prévio do esterol  $CA_4$ . O resultado foi melhor: 4

---

(\*) Vide esquema de fracionamento à pagina 73.



zonas, com separação mais nítida, componentes mais ou menos assim distribuídos, partindo de cerca de 2,5 g do produto:

Zonas I e II — eluídas conjuntamente, resíduos seco 0,10 g carotenoides e corantes não identificados.

Zona III — resíduo cristalino claro, 0,44 g, em que prepondera esterol.

Zona IV — resíduo, mais abundante, 1,26 g, de aspeto óleo resinoso, amarelo-ambar; é a fração onde se concentrou o tocoferol do insaponificável, encontra-se aí ainda esterol, hidrocarbonetos e possivelmente calciferol; a complexidade dessa fração indica a necessidade do seu refracionamento em novo ensaio cromatográfico.

Zona V — Resíduo cristalino branco; sua escassez (0,12 g) não permitiu identificação.

Percolato — Resíduo substância oleosa incolor 0,52 g.

O resíduo insolúvel no éter de petróleo frio — fração *CB* ainda em mistura com argila, é metido em Soxhlet e extraído longamente (30 a 40 horas de ação efetiva do éter de petróleo (p.e. 60-80) quente); no fim de cada dia de trabalho, ou no lapso de tempo de mais ou menos 7 em 7 horas do referido tempo efetivo (\*), o soluto do balão, reduzido a pequeno volume, é transvasado, quente, para um becher ou um cristizador, onde, pelo resfriamento, de um dia para outro e de preferência na geladeira, se precipita uma substância cristalina branca; as tres ou quatro colheitas de cristais são reunidas e temos a fração *CB<sub>1</sub>*, substância cristalizada em agulhas mais ou menos longas, brancas, etc.

---

(\*) Isto, no caso de fracionamento qualita-quantitativo, para estudo de rendimento. No caso de se querer obter apenas a fração *CB<sub>1</sub>*, a mais importante, ou que tem despertado maior interesse, a operação pode simplificar-se muito: A mistura *CB* — argila, adicionada de éter de petróleo da mesma qualidade daquele da operação anterior, em balão com refrigerante de refluxo, é aquecida à ebulição por 10 a 15 m; decanta-se, em seguida, com cuidado, o éter ainda quente; repete-se essa operação 4 ou 5 vezes, juntando-se as soluções decantadas num só recipiente. Nota-se ao se decantar, sobretudo nas primeiras operações, que o soluto se turva ao mais ligeiro resfriamento; é a substância *CB<sub>1</sub>* precipitando-se. Os extratos reunidos são postos na geladeira durante algumas horas, o que resulta na cristalização da substância em preparo. Desse modo simplificado, reiteramos, obtem-se em curto lapso de tempo, a quasi totalidade de *CB<sub>1</sub>* bruta, da fração *CB*.



Aderida às paredes do balão de Soxhlet fica uma substância resinosa, amarelo-castanha, insolúvel no éter de petróleo quente; verificamos tratar-se de uma mistura dos componentes  $CB_1$  e da fração final  $CB_3$ , nesse ponto praticamente inseparáveis; demos-lhe a designação  $CB_2$ .

No cartucho Soxhlet, resta finalmente, um resíduo insolúvel no éter de petróleo quente, solúvel, porém, no álcool e no éter etílico, ou melhor, na mistura dos dois. Exgotamo-lo por esta mistura solvente, que finaliza esta fase do fracionamento do insaponificável; evaporado o éter tem-se um resíduo com aspeto e propriedades de resina, é a fração  $CB_3$ .

As principais características do insaponificável e das frações isoladas e identificadas, parcial ou completamente são as dadas a seguir:

Alem do aspeto físico, já referido atrás a pesquisa de azoto, fósforo deu resultados negativos e a do enxofre mostrou a presença de vestígios.

Após a hidrólise a pesquisa do açúcar foi positiva.

A reação de açúcar repete-se, positiva, após hidrólise, nas frações  $CB_1$  e  $CB_2$ ; nessas duas, como produto de hidrólise (álcool a 50%, acidulado com 10% de HCl, 1 hora de ebulição com refluxo) aparece também um esteroide (um e outro — açúcar e esteroide — em quantidade excessivamente escassa); cremos, assim, que se encontram no insaponificável pequena porção de esterolína (glucosídeo de esteroide) que escapou ao fracionamento. É o insaponificável muito sensível à ação dos ácidos, tornando-se verde sujo ou esverdeado pela ação de mínimas porções de qualquer um deles, mesmo a seco (nesse caso, ação lenta), por influência de vapores ácidos na atmosfera do laboratório.

Dissolvido em álcool (de preferência butílico) o insaponificável dá com os ácidos, a quente, interessante mudança de cor:

Com ácido clorídrico: coloração verde azulado-roxo e, enfim, verde azulado intensa e persistente;

Com ácido sulfúrico: verde com reflexos vermelhos-azulado-roxo e, enfim, verde azulado persistente;

Com ácido nítrico: vermelho-verde — vermelho castanho turvo-vermelho intenso, seguido de descoloramento até amarelo alaranjado.

**Substância estrogênica** — Segundo Slotta, foram feitas, no Instituto Butantã, pelo Professor Thales Martins, experiências fisiológicas, em cobaias, sobre a substância  $B$ , congênere, como temos visto, da nossa  $CB_1$ . Tais experiências denotaram forte atividade estrogênica.



Julgamos de interesse repetir com a referida substância  $CB_1$  o mesmo ensaio. Encarregou-se dele o nosso colega deste Laboratório, Dr. Italo Mattoso.

Para os ensaios fisiológicos foi preparada solução injetável, em óleo neutro de oliva, do seguinte modo: 0,1 g de  $CB_1$ , reduzida a pó finíssimo, foi juntada a 10 g do óleo e agitado durante longo tempo, a quente; observa-se que a substância não é completamente solúvel no óleo a quente, restando pequeno resíduo grumoso. Destacado esse, lavado com éter de petróleo, verificamos pesar 0,034 g; a solução oleosa ficou, pois, com a riqueza aproximada de 0,66% de  $CB_1$ . O soluto, límpido a quente, turva-se ao resfriar.

Resultado dos ensaios em camundongos castrados:

INOCULAÇÕES		Substancia mg	15 h	19 h	40 h	63 h
5 x	Total					
0,1	0,5	3,3	—	—	—	+
0,2	1,0	6,6	±	+	+	+
0,3	1,5	10,0	—	+	+	+
0,4	2,0	13,3	M			
0,5	2,5	16,6	M			
0,6	3,0	20,0	M			

As leituras foram feitas nas horas citadas, contadas após a última inoculação. Como se vê ha, no óleo do café, pelo menos numa das frações obtidas do desdobramento de seus constituintes não saponificáveis, uma substância da natureza das estronas (\*).

### Produtos do fracionamento do insaponificável

**Sitosterol** (fração  $CA_2$ ). p.f. 137-139°C; do acetato, 129-131°; poder rotatório específico (em álcool); — 40°. Pelas constantes encontradas, esse produto se classifica como *sitosterol*.

(\*) Está em nosso programa continuar o estudo da fração  $CB_1$ , (quando se religa à B e ao "cafesterol" de Slotka), com suas afins, no sentido de "surpreender" a ou as estronas. Tal pesquisa torna-se tanto mais indicada quanto, no volume do Boletim QUÍMICA da F. F. C. L. da Universidade de São Paulo, (6) tomamos conhecimento do estudo, do ponto de vista fisiológico, do cafesterol, da autoria de H. Hauptmann, Paulo Sawaya e Lucy B. de Lacerda, em que se nega atividade estrogênica ao "cafesterol".

Retomaremos esse aspeto da questão, em outro trabalho e com a colaboração do Dr. Italo Mattoso, com o objetivo de verificar, realmente, qual a fração dos insaponificáveis é responsável pela atividade estrogênica.



**Esterol** (fração  $CA_4$ ) p.f. 128-130°; do acetato, 118-119°; devido à mínima porção obtida não foi possível determinar o poder rotatório.

**Fração  $CB_1$ .** A mais importante, quer pelo teor, quer pelas características interessantes que apresenta (as experiências aqui mencionadas são feitas sobre o produto como obtido no fracionamento, isto é, produto cristalizado sem outra purificação, senão uma recristalização no eter de petróleo). Sob alguns aspectos comporta-se essa substância como pura, ou espécie química definida, salvo pequenos indícios de impureza adsorvida pelos cristais; precipita-se da solução em eter de petróleo quente, em cristais brancos, limpos e puros; resiste a diversos processos de fracionamento experimentados. Dissolve-se nos diversos solventes orgânicos, a frio: alcoois, eter, clorofórmio, tricloro-etileno, etc., sem deixar resíduo; porem, de nenhum deles, com exceção do metanol, cristaliza, quer gelado, quer ao evaporar-se o solvente, aliás, nem mesmo quando dissolvido no eter de petróleo quente e evaporando este, cristaliza; em qualquer desses casos, exceto metanol, o resíduo adquire aspecto resinoso. (\*).

Em face dos ácidos, comporta-se a fração  $CB_1$  bastante análogamente ao insaponificavel integral, com alguma variante apenas na intensidade e pureza da gama colorida; cabe mesmo a essa fração a responsabilidade pela reação policrômica dos ácidos, quer sobre o insaponificavel, quer sobre o óleo de café diretamente e que tanto perturba a reação de Furter Meyer (tocoferol); eis as reações com os ácidos concentrados (algumas gotas) sobre a solução de poucos cristais em álcool butílico (3 cm<sup>3</sup>), quente:

Acido clorídrico: Alaranjado-verde, com reflexos vermelhos-azul esverdinado persistente;

Acido sulfúrico — verde com reflexos vermelhos-azul esverdinado persistente;

Acido nítrico — róseo — violeta — verde-amarelo esverdinado-vermelho sanguíneo, que esmaece em seguida.

---

(\*) Posteriormente verificamos que a cristalização proveniente da dissolução da substância  $CB_1$  no metanol, a quente, não é total; cristalizações e colheitas sucessivas de cristais, deixaram, após evaporação do resíduo álcool, uma substância resinosa. Estariam as duas substâncias — a cristalina e a resinosa — originariamente em  $CB$  e esse processo consiste em fracionamento, ou formar-se-ia a parte resinosa durante as operações de recristalização, por oxidação?



Foram pesquisados: enxofre ..... vestígios  
glucosídeo { esterol .. ..  
                  { açúcar .. ..

Foi feita análise elementar e encontrou-se:

C = 76,6%  
H = 8,3%  
O = 15,1%

Tentando identificar a substância fizemos a reação de acetilação (pesquisa do radical hidroxila dos alcoois, se bem que pela reação simples do anidrido acetico) e o resultado foi negativo; isto confirma, aliás, igual tentativa de Slotta e seus colaboradores. Também fizeram eles outros ensaios de identificação que dispensamos, pelo menos no momento (\*).

As reações para a pesquisa de radicais hidroxidos (alcoois e fenóis), carboxilo, metil-cetônico e metoxílico, deram resultados negativos (\*\*).

Não estando verificado se se trata de substância pura ou mistura, duas circunstâncias, excluída "CB<sub>1</sub>" das funções mencionadas, levaram-nos a situá-la (em bloco ou "CB<sub>1</sub>" integral) entre os hidrocarbonetos, senão puro, ao menos parcialmente oxidado e como constituinte principal: pirogenado desprende gases com cheiro idêntico ao despreendido pelo cautchu (isopreno) em idênticas condições; em solução alcoólica descora o bromo (reação de hidrocarbonetos não saturados, inclusive o isopreno).

Dada a possibilidade de haver no insaponificável hidrocarbonetos (como pareceu pelo que acabamos de ver) tentamos a técnica de Rosenthaler (8), para seu isolamento; operações repetidas não deram resultados satisfatórios. Aplicando (para confronto o processo de Rosenthal em uma cera, como caso indicado pelo autor, ainda assim não logramos melhor resultado. Não insistimos na técnica, que julgamos falha em algum detalhe.

---

(\*) Essa substância CB<sub>1</sub> foi, juntamente com o sitosterol, isolada por Slotta (e constituem as duas, as únicas comuns ao estudo daquele pesquisador e o nosso); embora haja alguma divergência entre o produto de Slotta — B — e nosso — CB<sub>1</sub> — sua composição elementar é bem semelhante, sendo a composição de B:

$$C = 75,66\%; \quad H = 8,77\%; \quad O = 15,57\%.$$

(\*\*) As nossas referências ao trabalho de Slotta e Neisser dizem respeito ao publicado nas Memórias do Instituto de Butantã (1). Verificamos, posteriormente que em outro trabalho publicado (10) deram maior desenvolvimento ao estudo da substância, ali, chamada "cafesterol".



**Constantes físicas** — Ao aquecer para determinar o ponto de fusão, passa, de início, por uma fase de amolecimento:

Ponto inicial de amolecimento . . . . .	130°
Ponto de fusão . . . . .	145-148°
Poder rotatorio . . . . .	$[\alpha]_D^{30} -106^\circ$

À vista dos dados, parece-nos tratar-se de um hidrocarboneto, ou mistura de hidrocarbonetos, parcialmente condensados e oxidados, com pequenas porções de substâncias não isoláveis (esterolina, estrona ou estronas, composto de enxofre, etc., como constituintes de um complexo ou como simples impurezas).

Outra hipótese aceitável é a de tratar-se de um álcool terpenico hidratado, ou não, a exemplo do  $C_{10}H_{18}(OH) + H_2O$ , citado por Allen (8). Nêsse caso, para verificação destas hipóteses, devia ser reiterada a pesquisa do grupamento álcool (hidroxilo) e tentada a do radical metila, do isopreno, devendo para tal, contar com maior quantidade de substância, do que a disponível até aqui. (\*).

### Resumo

O autor retoma o estudo do óleo do café, já tentado por outros pesquisadores, concentrando suas investigações sobre os constituintes insaponificáveis do mesmo óleo.

Dividido o trabalho em duas partes, na primeira investiga a existência do tocoferol, ou vitamina E, quer nos insaponificáveis, quer no óleo original, chegando à conclusão de contar o referido óleo pequena percentagem do fator anti-esterilidade:

Tocoferol no óleo . . . . .	0,02 a 0,05%
” ” insaponificavel . . . . .	0,30 a 0,50%

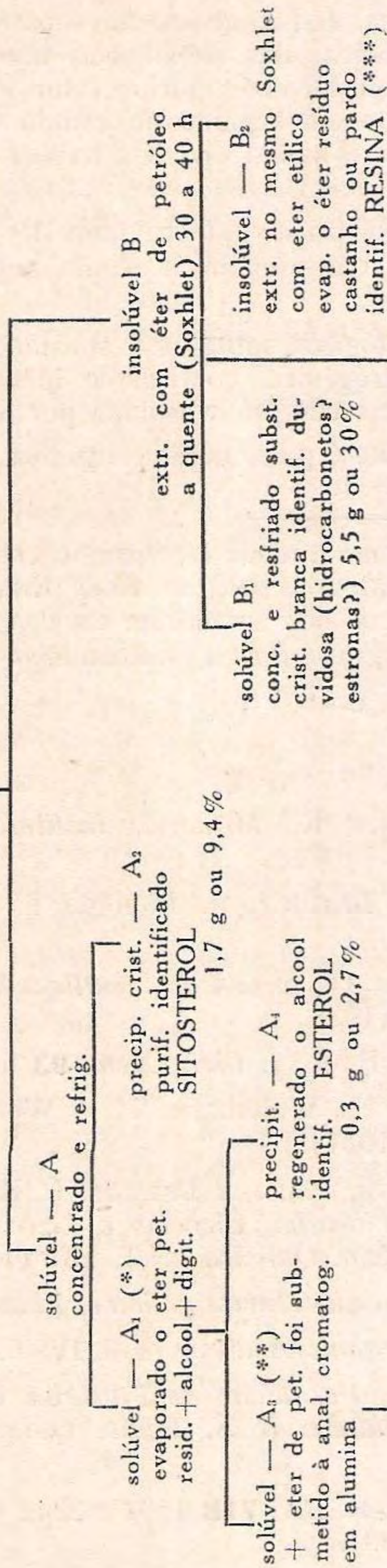
(\*) Estavam escritas essas considerações, quando nos veio às mãos, o trabalho da Dra. Jandira França (9). Partindo ela, também dos estudos de Slotta e Neisser e tomando para objeto de suas investigações a substância chamada por aqueles pesquisadores: nas Memórias do Instituto Butantan B; e no "Berichte (10), de "cafesterol" (substância que, salvo alguns detalhes de purificação, parece ser a mesma nossa  $CB_1$ ), exgotou o assunto no que respeita a todos os aspectos de seu estudo físico-químico. Exgotar, aliás, não é a verdadeira expressão, porquanto apesar de ter tratado a fundo o assunto, não chegou ela à última definição do que é o estranho componente do café. À vista disto, (e apesar) deixamos de pé nossa hipótese sobre a natureza de mistura ou complexo hidrocarbônico para a  $CB_1$ , ao menos como incentivo para posteriores investigações. De qualquer maneira, porém, devemos acentuar que nessas pesquisas colimamos uma finalidade mais tecnológica do que teórica ou puramente científica.



# Ó L E O D E C A F É

Insaponificável: 18 g

éter de petróleo  
temp. ambiente



B<sub>2</sub>  
no balão do Soxhlet forma-se uma crosta praticamente insolúvel no éter de petróleo quente; resinosa, amarelo-castanho trata-se de uma mistura das frações B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> 1,1 g ou 6,1%

(\*) Em alternativa com a marcha abaixo, fizemos também a anal. cromat. diretamente da fração A<sub>1</sub> nesse caso a fração A<sub>2</sub> desaparece e o esteroi passa a figurar no cromatog.

(\*\*) Foi libertado do excesso de digitonina e do álcool 3,8 g ou 21,5%.

(\*\*\*) Um acidente nos fez perder grande parte desse componente, não podendo computar seu teor ou rendimento.



Na segunda parte faz um estudo comparativo entre o rendimento e principais características das substâncias não saponificáveis de óleos extraídos com solventes vários (clorofórmio, gasolina leve e éter): passando em seguida ao estudo de fracionamento dos insapofinificáveis, isolando diversas frações que tenta identificar.

Demora-se no estudo da fração que chamou de substância  $CB_1$  (denominada por Slotta, que primeiro a estudou, de substância  $B$  ou cafesterol).

Realizados ensaios fisiológicos sobre essa substância foi revelado possuir atividade estrogênica, confirmado idêntico resultado obtido sobre a substância congênere isolada por Slotta.

O conteúdo deste trabalho é parte de investigações que serão continuadas.

---

Na realização do presente trabalho contamos com a dedicada e eficiente colaboração dos colegas Noel Kuhrt, Sarah Kaufmann e Camilla Rolin, que nos auxiliaram em diversas fases do trabalho analítico. E' grato prazer testemunhar-lhes aqui nossos agradecimentos.

#### **Bibliografia:**

- 1) Slotta, C. H. e Neisser, K., *Memorias Instituto Butantã* **9** 71 (1941).
- 2) Villela, G. G., *Revista Brasileira de Biologia*, n.º 3 — Set. (1941).
- 3) Evans, H. M. e Burr, G. O., in Gorther, *Outlines of Biochemistry* — 2.ª ed. (1938).
- 4) Olcott, H. S. e Mattil, H. A., *J. Biol. Chem.* **93** 59 (1931).
- 5) Todd, A. R., Berger, F., Waldmann, H. e Work, T. S., *Nature* **140** 361 (1937).
- 6) Hauptmann, H., Sawaya, Paulo, e Lacerda, L. B., *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciencias e Letras da Universidade de S. Paulo. Química* n.º 1, 181 (1942).
- 7) Rosenthaler, L., *The Chemical Investigation of Plants* (1930).
- 8) Allen's *Commercial Organic Analysis*, Vol. IV, 5.ª Ed.
- 9) França, J., *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciencias e Letras da Universidade de S. Paulo. Química* n.º 1, 141 (1942).
- 10) Slotta, K. H. e Neisser, K. *Ber.* **71B** 1991 e 2342 (1938) — *C. A.* **33** 990 (1939).



[CONTRIBUIÇÃO DA SECÇÃO DE QUÍMICA DO INSTITUTO DE  
PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE S. PAULO]

A CERA DO *CEROPLASTES GRANDIS* DA *MIMOSA ACUTIFOLIA* (\*)

Por Terence R. M. Mollan

O *ceroplastes grandis* é um inseto da família dos coccideos ramal *ceroplastes*, que é numerosa no Brasil. Muitas espécies já foram classificadas e a cera extraída em pequena quantidade, mas, nunca caracterizada.

Algumas espécies são fáceis de encontrar por serem bem disseminadas. Em S. Paulo destaca-se o *ceroplastes grandis* por ser a espécie que ataca os jacarandás que arborizam as suas ruas. Esse inseto encontra-se em grande quantidade e é fácil de colher.

Em certos países esses insetos são uma fonte de renda pela cera que contêm. Na China a cera extraída é usada na manufatura de velas para iluminação. Na África Ocidental Francesa há produção de cera de *ceroplastes*, sendo esta empregada na fabricação de certas ceras para polir soalhos e moveis, e usada também em medicina.

**Ocorrência** — O *ceroplastes grandis* cresce nos galhos finos da *Mimosa acutifolia*. A cera é produzida pela fêmea e começa a aparecer no mês de agosto em forma de uma escama rosea nos galhos ainda sem folhas. Cresce à razão que sobe a seiva e o seu desenvolvimento chega ao máximo quando a árvore está em plena floração. Quando completamente desenvolvido, o *ceroplastes*, consiste de uma parte central vermelha que é a parte vital e o verdadeiro inseto, e a carapaça que é uma camada branca assemelhando-se ao cebo, não tendo patas nem asas. A carapaça contém cera e grande quantidade de água.

---

(\*) Apresentado à Divisão de Oleos e Gorduras, no 2.º Congresso da A.Q.B. realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



**Colheita** — O *ceroplastes* quando completamente desenvolvido pode ser separado dos galhos, sacudindo-os com força. Os insetos caídos são colhidos no chão.

**Métodos de extração e rendimento** — A cera pode ser extraída com eter de petroleo, gasolina, eter sulfúrico e cloroformio. A extraída com éter de petroleo é branca e seu rendimento é de 8 % sobre o peso total, sendo os insetos colhidos em tempo seco. Quando extraída com eter sulfúrico é levemente amarelada e seu rendimento é de 10 % sobre o peso total.

CARATERISTICOS DAS CERAS DE ALGUNS INSETOS

INSETO	Peso específico	Ponto de fusão	Índice de iodo	Índice de saponificação	Índice de ácido	Insaponificáveis
<i>Coccus ceriferus</i> , Fabr. . . . .	0,970	80-83°C	1,4	80-93	1,5	—
<i>Psylla alni</i> . . . .	—	96°C	—	—	—	—
<i>Ceroplastes ceriferus</i> . . . . .	1,04 (15°C)	55°C	—	—	—	—
<i>Ceroplastes rubens</i>	1,03 (23°C)	55°C	—	—	—	—
<i>Coccus axin</i> . . . .	—	55°C	—	—	—	—
<i>Cochonila prateada</i> , Huerre . . .	—	—	50,0	—	—	3%
<i>Ceroplastes grandis</i>	1,002 (25°C)	49.C	59,5	91	50,3	65%

**Dados físicos e químicos** — A cêra, adêre à mão, se aquecida; é plastica, mas quebra em lascas se destacada. Tem leve cheiro e seu peso específico a 25°C é 1,002. Caraterizam a cera os seguintes índices:

- Índice de iodo . . . . . 59,5 %
- Índice de saponificação . . . . . 91 mg KOH/g
- Índice de ácido . . . . . 30,3 mg KOH/g
- Insaponificáveis . . . . . 65,1 %

Na tabela anexa reproduzem-se esses caraterísticos da cera de *ceroplastes grandis* da *mimosa acutifolia* ao lado dos de outras ceras de origem semelhante.



[CONTRIBUIÇÃO DA SECÇÃO DE QUÍMICA DO INSTITUTO DE  
PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE S. PAULO]

UMA EXPERIÊNCIA DE APLICAÇÃO DO OLEO DE ANDÁ-ASSÚ (\*)

Por Antonio Sacco Neto

A produção de oleos secativos tem adquirido aparentemente nos últimos anos importância crescente em nosso país. A produção de óleo de linhaça, por exemplo, passou de quasi 4.000 toneladas em 1935 a 21.000 em 1939. Essa produção, porem, baseia-se quasi toda ela na linhaça importada.

A extração do óleo de oiticica, exclusividade do Brasil e considerado como tendo propriedades similares às do óleo de tungue, está também aumentando. A falta de óleo de tungue em quantidade suficiente para a indústria norte-americana de tintas e vernizes, em face das dificuldades de abastecimento das regiões asiáticas, está contribuindo para o incremento da extração do óleo de oiticica.

A extração do óleo de tungue, no país, tende também a desenvolver-se uma vez que as plantações no Brasil já atingiram importância apreciável.

Ao lado desses oleos mais industrializados, não se deve esquecer da existência de outros que não passaram da esfera dos laboratorios.

O presente trabalho tem por fim consignar mais alguns caracteristicos do óleo de andá-assú, a respeito do qual a indústria de tintas e vernizes pouco ou nenhum conhecimento tem. Esse óleo encontra-se nas amêndoas dos frutos da *Joahnesia princeps*, planta da família das Euforbiacias, cuja existencia em certas regiões do país, principalmente no Estado do Espirito Santo, é bastante notável.

Moacyr Silva (1) se refere à aplicação do óleo de andá-assú em vernizes oleo-resinosos, ensaiando o comportamento des-

---

(\*) Apresentado à Divisão de Oleos e Gorduras no 2.º Congresso da A.Q.B., realizado em Curitiba, de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



tes à ação da água fervente durante 5 minutos, concluindo que é uma matéria prima perfeitamente aplicável nessa indústria.

**Alguns característicos do óleo de andá-assú** — Os frutos para a extração do óleo foram obtidos de plantas que arborizam algumas ruas da cidade de São Paulo. A separação da casca dos frutos secos foi feita manualmente obtendo-se 30%, em peso, de amêndoas. O óleo foi extraído a frio; sob a pressão de 300 kg/cm<sup>2</sup>, durante 30 minutos, obtem-se 22% de óleo de cor amarela clara.

O índice de iodo do material assim extraído foi de 142 (pelo método de Wijs) e o índice de ácido 0,30. Etzel e King (2) estudaram a composição deste óleo. O índice de iodo encontrado por esses autores, seguindo o método de Hanus, foi de 115.

Pelo índice de iodo vê-se que o óleo de andá-assú pertence à classe dos óleos secativos. Espalhando-se o óleo em camada fina sobre lâminas de vidro, verifica-se que no ambiente comum de laboratório forma-se uma película seca após 60 horas.

Quanto à sua secatividade, verifica-se que o óleo tratado, em presença de gás carbônico, com 0,15% de chumbo e 0,03% de manganês, sob forma de resinatos precipitados, durante 5 horas a 180°C, forma película seca após 24 horas, a 20°C e 65% de humidade.

**Resistência às intempéries** — Visto tratar-se de uma matéria prima com possibilidade de ser aplicada na preparação de tintas, foram feitos alguns ensaios de resistência às intempéries. Foram preparadas duas tintas: uma com óleo cru e outra com óleo cozido com secante nas condições acima mencionadas.

Ambas as tintas obedeceram a seguinte composição, em peso:

Oleo . . . . .	53 %
Oxido de zinco . . . . .	52 %
Essencia de terebintina . . . . .	5 %

À tinta com óleo cru foi adicionado secante (0,15% de chumbo + 0,03% de manganês, em forma de resinatos precipitados).

Corpos de prova foram preparados aplicando-se duas camadas de tinta sobre placas de ferro, com intervalo de 72 horas.

O ensaio de intemperismo natural consistiu na exposição ao ar livre dos corpos de prova inclinados de 45° com a face exposta para o norte.



Após 12 meses de exposição, a pintura obtida com a tinta preparada com óleo cozido apresentou integridade praticamente inalterada, ao passo que a de óleo cru mostrou fedilamento fino não se notando, porém, manchas de ferrugem.

No ensaio de intemperismo artificial os corpos de prova foram submetidos à ação de uma atmosfera artificial constante obtida num aparelho "Weather-Ometer".

A luz é obtida por arco elétrico de carvão, havendo dispositivos para molhar e ventilar os corpos de prova. A temperatura na superfície dos painéis é mantida ao redor de 60°C.

O ciclo diário de funcionamento da atmosfera artificial adotado compreendeu:

- 1.º) 17 horas consecutivas de luz de arco e humidificação durante  $\frac{1}{2}$  minuto cada  $\frac{1}{2}$  hora.
- 2.º) 3 horas consecutivas de lavagem enérgica.
- 3.º) 1 hora de ventilação.

Nesse aparelho, além de se obterem condições de ensaio reprodutíveis em qualquer época, as pinturas sofrem uma ação mais enérgica de intemperismo, de forma a acelerar o envelhecimento das películas.

Não se deve supor, porém, que essa atmosfera artificial constante reproduza fielmente as intempéries naturais, porquanto deve-se considerar que estas sofrem variações contínuas de intensidade e natureza, de modo que os resultados nesses aparelhos nem sempre são comparáveis aos do intemperismo natural.

Os resultados obtidos com as tintas preparadas foram os seguintes:

- Oleo cru . . . . . pulverulencia superficial após 11 ciclos.
- Oleo cozido . . . . . pulverulencia superficial após 16 ciclos.

Como termo de comparação ensaiaram-se paralelamente tintas preparadas com óleo de linhaça cru e cozido, com a mesma proporção dos constituintes usados nas tintas com andá-assú, obtendo-se os seguintes resultados:

- Oleo cru . . . . . pulverulencia após 16 ciclos.
- Oleo cozido . . . . . pulverulencia após 16 ciclos.

**Conclusão** — Os resultados que apresentamos devem chamar a atenção dos que se utilizam de óleos secativos. Como ma-



teria prima de emprego satisfatorio na indústria de tintas e vernizes o oleo de andá-assú apresenta-se promissor.

E' de esperar-se que outros resultados experimentais e de aplicação e as condições económicas da sua obtenção se tornem mais conhecidas afim de facilitar o aproveitamento deste oleo nas nossas indústrias de tintas e vernizes.

### **Bibliografia:**

- (1) Silva, Moacir — *Anais do Terceiro Congresso Sulamericano de Quimica*, IX, 1.a parte, 216 (1937).
- (2) Etzel, Gastão e King, C. G. — *Anais do Segundo Congresso de Oleos*, 137 (1927).  
— *J. Am. Chem. Soc.* **48** 1369 (1926).

[CONTRIBUIÇÃO DA DIVISÃO DE QUÍMICA E FARMACOLOGIA DO  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ — RIO DE JANEIRO]

### **AÇÃO DOS ALTOS TEORES DE GAZ CARBONICO SOBRE AS CONVULSÕES EXPERIMENTAIS (\*)**

Por H. Moussatché.

Relatamos neste trabalho os primeiros resultados obtidos sobre a ação dos altos teores de CO<sub>2</sub> sobre as convulsões experimentais. Utilizamos em nossas experiências as convulsões produzidas pela excitação química da zona motora da cortex cerebral de cães (epilepsia de Amantea). Empregamos com excitante químico uma solução de sulfato de estriçnina embebida em pequenos quadrados de papel de filtro que eram aplicados sobre um ponto motor cortical. Os animais eram, em geral, previamente tratados pela morfina, na dose de 10 a 20 mg por kg de peso, o que facilitava o aparecimento de crises convulsivas subintrantes, em um verdadeiro estado de mal epileptico. Depois de renovar por algumas vezes a aplicação do papel embebido

(\*) Apresentado à Divisão de Química Biologica, no 2.º Congresso da A.Q.B. realizado em Curitiba, de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



em estriçnina, com intervalos de 5 a 10 minutos, começavam a aparecer espontaneamente as convulsões, que se repetiam com pequenos intervalos, ou após uma fraca excitação cutânea do ponto correspondente ao centro estriçnizado. Quando o animal já se encontrava nessas condições, era a traquea ligada a uma cânula e esta, através de 2 válvulas (inspiradora e expiradora) de Tissot, a um gazometro contendo uma mistura de CO<sub>2</sub> com ar atmosférico, em uma proporção aproximada de 18 % de CO<sub>2</sub>. Em geral não se produziam mais as convulsões mesmo nos primeiros minutos seguintes ao início da respiração de CO<sub>2</sub>.

Quando sobrevinha algum ataque, era de intensidade e duração muito mais fraca do que os registrados anteriormente.

Os efeitos impedientes do CO<sub>2</sub> sobre as convulsões prolongavam-se, em alguns casos, muito tempo após terminada a inspiração da mistura. Isto, porém, não sucede sempre; em algumas das experiências, poucos minutos depois de terminada a inalação da mistura de CO<sub>2</sub>, os ataques recomeçavam com intensidade forte e longa duração.

Resumimos, a seguir, 2 protocolos das experiências realizadas:

29-12-42 — Cão 5,3 kg. Injeção no peritoneo de 5 cm<sup>3</sup> de uma sol. de clorid. de morfina de 2 % (13.30 horas).

13.40 — Exposição da zona motora. — 14.00, início: papel com solução de 1% de estriçnina sobre o centro do orbicular. A estriçnina foi renovada às 14.15, às 14.20, às 14.30 e às 14.45.

14.55 — renovado o papel com estriçnina. Contrações clônicas do musculo orbicular da palpebra. Excitação mecânica da pele que recobre o orbicular. Seguiu-se ataque do orbicular. Ataque forte que durou 1m 30 seg. Seguiram-se ataques após ligeira excit. mec. do orbicular às 15.25, às 15.30, às 15.45, às 15.55 e às 16.10. Durante este periodo a estriçnina foi renovada às 15.25 e 15.45.

16.12 — Traquea ligada ao gazometro contendo uma mistura de cerca de 17% de CO<sub>2</sub> com ar atmosférico. Novo papel com estriçnina. 16.20 — excit. mec. do orbicular. Não houve ataque. O animal continuou respirando alta dose de CO<sub>2</sub> até 16.35. Não foi obtido ataque pela excitação prolongada do orbicular.

17.30 — Novo papel com estriçnina. O animal não deu mais ataques por excitação do orbicular.

18.00 — Não foram conseguidos mais ataques.



2-1-43 — Cadela, 10 kg. Exposição da zona motora.  
12.10 — Injeção no peritoneo de 10 cm<sup>3</sup> sol. de cloridrato de morfina de 2%.

16.05 — Início do emprego da estriçnina sobre o centro do orbicular. A estriçnina foi renovada às 16.14, às 18.20, às 16.30 e às 16.47.

O animal apresentou o primeiro ataque espontaneamente às 16.10.

16.15 — Ataque espontaneo que durou 2 m. Novos ataques espontaneos, com durações respectivas, às: 16.22 (2m 30 seg), 16.32 (2m 20 seg), às 16.37 (2m 10 seg), às 16.49 (2 m 40 seg), às 16.54 (1m 50 seg) e às 16.58. Início da inalação da mistura com cerca de 19% de CO<sub>2</sub>.

16.59 — Clonus do orbicular. Não ha ataque. Durante a inalação a estriçnina foi renovada às: 17.02, às 17.15, às 17.30 e às 17.40. — O clonus manteve-se sempre, propagando-se até o labio algumas vezes. Às 17.30 e 17.33 houve uma generalização de clonus, formando um ataque clonico de curta duração.

17.46 — Suspensa a inspiração da mistura.

17.48 — Forte ataque espontaneo que durou 1m 45seg. Renovado o papel com estriçnina às 17.55 e 18.07. Ataques espontaneos com as respectivas durações às 17.57 (1m 45seg), às 17.01 (1m 25seg), às 18.08 (1m 45seg), e às 18.10 (3m).

18.15 — Voltou a respirar uma mistura contendo 25 % de CO<sub>2</sub> e 15,6 % de O<sub>2</sub>.

18.25 — Novo papel com estriçnina. — Não apresentou mais ataque, nem mais clonus do orbicular. Reflexos corneanos presentes.

Idem reflexos patelares.

18.30 — Não apresentou mais ataque. Suspensa a respiração da mistura de CO<sub>2</sub>.

18.31 — Ataque espontaneo, forte, que durou 2m.

18.45 — Novo ataque espontaneo forte.

E' prematuro, ainda, dizer a que é devida esta ação. Os efeitos inibidores do CO<sub>2</sub> sobre as convulsões são conhecidos ha longos anos. Já em 1871, Brown-Sequard (1) assinalava o fato, inibindo as convulsões de origem reflexa das cobaias, com jato de gás carbonico agindo sobre a mucosa da laringe. Brown-Sequard admitiu que o gás carbonico tinha uma forte ação irri-



tante sobre as terminações sensitivas da laringe dos bronquios, etc., que dava origem a uma inibição das convulsões.

Em 1937, M. Ozorio de Almeida (2) utilizou as convulsões produzidas pelo resfriamento brusco da medula da rã para estudar os efeitos de CO<sub>2</sub>. Fazendo rãs respirar por via pulmonar, durante 25 a 30 minutos, misturas contendo 19 a 20 % de CO<sub>2</sub> ao terminar a inalação, fazendo a preparação da medula isolada do trem posterior, logo verificou que não havia mais convulsões pelo resfriamento. Esta experiencia demonstra que o CO<sub>2</sub> tem uma ação direta sobre os centros, impedindo as convulsões.

Recentemente Gellhorn e Yesenick (3), retornando ao assunto, estudaram os efeitos sobre as convulsões por injeção de substancias convulsivas (metrazol, picrotoxina, estriçnina, absinto). Seus resultados os levaram a admitir que o CO<sub>2</sub> age, em grande parte, através o seio carotidiano.

Nossos resultados não nos permitem ainda uma conclusão definitiva. Em alguns dos cães, os efeitos anticonvulsivantes do CO<sub>2</sub> desapareciam imediatamente após a suspensão da inalação da mistura. Em outros, porem, os efeitos se prolongaram muito tempo depois da suspensão da inalação, o que indica não um simples efeito inibidor reflexo do CO<sub>2</sub>, mas uma ação direta sobre os centros nervosos. E' bem possivel, entretanto, que o CO<sub>2</sub> exerça os seus efeitos nos dois casos, por dois mecanismos diferentes.

#### **Bibliografia:**

- (1) Brown Sequard, — Note sur un moyen de produire l'arrêt d'attaques d'épilepsie e des convulsions causés par la strychnine e les pertes de sang. *Archives de Physiologie*, **4** 204 (1871-1872).
  - (2) Ozorio de Almeida, M., *Comp. rend. soc. biol.* **125** 167 (1937).
  - (3) Gellhorn, E. e Yesenick, L., *Am. J. Physiol.* **137** 404 (1942).
-



[CONTRIBUIÇÃO DOS LABORATÓRIOS POLIN — RIO DE JANEIRO]

DETERMINAÇÃO DA TIAMINA LIVRE E FOSFORILADA  
APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE JANSEN (\*)

Por Italo V. Mattoso

Barges, Bergel e Todd (1) oxidando a vitamina B<sub>1</sub> em meio alcalino pelo ferricianeto de potássio, obtiveram uma substância amarelo-pálida, contendo enxofre, e dando em soluções neutras ou alcalinas uma fluorescência azul intensa.

Kuhn, Wagner-Jauregg, van Klaverem e Vetter (6) obtiveram também os mesmos resultados e ao produto obtido denominaram tiocromo.

Jansen (3) utilizou esta reação de oxidação da vitamina B<sub>1</sub> para a sua dosagem. Utilizou-se para as leituras de um fluorômetro de fotocélula de Cohen. Temos utilizado em nossas leituras de fluorescência um fotômetro gradual de Pulfrich adaptado com uma lâmpada produtora de raios ultra-violetas (lâmpada de Hanau ou uma lâmpada Hanovia).

Em 1937, Lohmann e Schuster mostraram que a cocarboxilase, o grupamento prostético da carboxilase, enzima que provoca a descarboxilação dos ácidos  $\alpha$ -cetocarboxílicos, e que conseguiram obter cristalizada, era o éster pirofosfórico da tiamina.

Kinnersley e Peters (4) observaram que a cocarboxilase era também oxidada quando tratada de modo idêntico à tiamina, a uma substância também fluorescente, o tiocromo-pirofosfato. É possível, no entanto, separar a tiamina da cocarboxilase se ambas estiverem presentes numa solução. O tiocromo é solúvel no álcool isobutilico, enquanto que o tiocromo-pirofosfato não o é.

A hidrólise ácida da cocarboxilase, como a realizaram Lohmann e Schuster, fervendo-a por 15 minutos em ácido clorídrico

---

(\*) Apresentado à Divisão de Química Biológica, no 2.º Congresso da A.Q.B. realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



normal, produz a sua cisão em uma molécula de ácido fosfórico e em fosfotiamina (tiamina-ortofosfato). Esta fosfotiamina é também insolúvel no álcool isobutilico, o que torna esta hidrólise ácida inaproveitável para a dosagem diferencial com a tiamina.

Tauber (8), Weijlard e Tauber (9), Lohmann e Schuster (7), e Kirch e Bergeim (5), mostraram que a tiamina podia ser obtida da cocarboxilase pela hidrólise, por processos enzimáticos. Dosando a tiamina livre e a tiamina total após fazer atuar uma fosfatase, por diferença obtem-se o teor da cocarboxilase.

### **Método fluorométrico de Jansen.**

**Princípio** — A tiamina é oxidada pelo ferricianeto de potássio em meio alcalino a tiocromo, que é extraído por isobutanol, e cuja fluorescência se mede. Uma outra amostra é tratada previamente por fosfatase de levedo ou de rim, que hidrolisando a cocarboxilase, permite dosar a tiamina total.

Reativos:

Solução de ferricianeto de potássio de 1%.

Solução de NaOH de 10%.

Isobutanol.

a) **Dosagem da tiamina** — Usar um volume da solução a dosar tal que seu teor de tiamina seja de 2 a 20  $\gamma$ . Colocar em cilindro graduado com rolha esmerilhada a quantidade ótima, completar a 5 ml com água destilada. Adicionar à amostra 0,05 a 0,20 ml da solução de ferricianeto de potássio de 1%, misturar, e juntar, agitando, 3 ml de solução de NaOH de 10%. Imediatamente acrescentar 13 ml de isobutanol e agitar vigorosamente a mistura por 1 minuto. Centrifugar por 1 minuto para separar as duas camadas, decantar a camada alcoólica para um tubo contendo 2 a 4 g de sulfato de sódio anidro e misturar bem. Deixar depositar o sulfato de sódio e transferir a solução de tiocromo para as cubas de leitura do fluorometro.

Fazer uma prova em branco, onde a mesma técnica é seguida, exceto quanto à adição de ferricianeto de potássio que é omitida, e conforme aconselham Hennessy e Cerecedo (2), inverter a ordem de adição do hidróxido de sódio e do isobutanol.

Quando cloreto de tiamina é adicionado à amostra numa quantidade igual à já presente, recuperam-se de 93 a 102% por este método (2).



b) **Dosagem de cocarboxilase** — A solução é corrigida para o pH 6 (podendo contudo, usando a solução de fosfatase de Kirch e Bergeim, estar entre pH 3 a 7). 10 a 20 ml desta solução, sofrem um tratamento enzimático preliminar, sendo adicionados de 1 ml da solução de fosfatase (K. e B.) e aquecidos em banho de água a 85-90°C, se se tratar duma solução em álcool de 30%. Se é uma suspensão de material em água pura ou solução aquosa, mergulhá-la por 3 minutos em água fervente após a adição do extrato glicerinado da fosfatase. Quando necessário, o hidrolisato é acidificado pela adição de uma gota de ácido acético, levado à fervura, resfriado e centrifugado. Do centrifugado toma-se uma aliquota para o ensaio, que é realizado como descrevemos acima para a dosagem de tiamina.

**Purificação da solução em coluna de adsorção** — Hennessy e Cerecedo (2) recomendam em alguns casos, proceder a purificação dos extratos a dosar, através duma coluna cheia com material adsorvente. Isto deverá ser realizado se a dosagem direta não fôr praticável, desde que a prova em branco dá valores maiores do que o usual, ou se houver necessidade de maior purificação para evitar a influência dos extrativos-não-tiamina na determinação. Sempre que os líquidos residuais da dosagem, após a extração com isobutanol, se mostram fluorescentes, é obvio a indicação da determinação da cocarboxilase.

Uma coluna das usadas em análise cromatográfica de 77 mm de diâmetro interno, envolvida por um manguito por onde possa circular vapor d'água, é cheia de 20 cm de *Decalso*. (The Permutit Co. N. Y.), de grãos inferiores a 0,5 mm. Esta coluna do adsorvente é primeiramente lavada com soluções ferventes de ácido acético de 2% e de KCl de 25% passadas, alternadamente, em 4 porções de 15 ml cada uma, e por sucção. Durante todo o processo faz-se circular vapor de água no manguito envolvendo a coluna, de modo a mantê-la próximo de 100°C. Lavar finalmente 3 vezes com porções de 15 ml de água fervente.

Uma aliquota da solução, (15 a 20 ml), contendo mais de 10 microgramas de tiamina, verificada num ensaio prévio, é ajustada a um pH de 4,0 a 4,5 com ácido acético. Levar a fervura e introduzir na coluna mantida próxima de 100°C. A solução deve passar através das camadas de *Decalso* em 3 a 5 minutos, e esta é lavada por 3 vezes com 5 ml de água fervente.

A eluição da tiamina é realizada com solução fervente de cloreto de potássio de 25% num fluxo de 1 ml por minuto, coletando 20-25 ml. O volume é proporcional ao teor de tia-



mina: para 0-1  $\gamma$ , coletar 10 ml; de 1-3  $\gamma$ , 15 ml; de 3-7  $\gamma$ , 25 ml; aliquotas usualmente de 5 ml da solução de KCl efluente são dosados pela técnica de determinação da tiamina.

O tubo com *Decalso* pôde ser usado repetidamente, lavando-o simplesmente com água fervente para a remoção de todo KCl, especialmente se a nova amostra a analisar fôr de baixo teor de tiamina e, mais ainda, se seguir a uma amostra rica. Novo tubo será preparado quando o ensaio com padrão de tiamina der uma prova em branco de valor maior do que o habitual, ou baixa recuperação.

Usamos também com bons resultados o tubo para cromatogramas com alumina lavada com ácido acético de 1% e feita igualmente a eluição com solução de KCl de 25%.

**Hidrólise de cocarboxilase** — As experiências de Kirch e Bergeim sobre a ação do extrato glicerinado de ação fosfatase por eles preparado, usando levedo, mostram ser ele ativo numa região de pH de 3 a 7. Tratando-se de reações em extrativos de álcool de 30%, obtem-se bons resultados com o aquecimento por 3 minutos a 90° ou 1 hora à temperatura ambiente; as soluções aquosas exigem o aquecimento a 100°C.

Para a hidrólise, 10 ml da solução contendo cocarboxilase corrigida a pH 3 a 7, são adicionados de 1 ml. do extrato glicerinado de fosfatase e aquecidos a 90°C por 3 minutos. A hidrólise à temperatura ambiente é completa em cerca de 1 hora.

O emprego para a hidrólise da cocarboxilase também de tecido renal, hidrolisa mais de 50% em 3,30 horas a 38°C. Hennessy e Cercedo usam extrato salino (NaCl 1%) de rim desengordurado, que é purificado por agitação com *Volclay* (finura de 300 malhas — Am. Colloid C° Chicago). O filtrado é tratado cuidadosamente com acetona e o precipitado obtido é seco e usado assim, empregando 3 horas a 37°C, para a reação. A recuperação é de 90-97% da cocarboxilase adicionada.

O extrato glicerinado de levedo empregado por Kirch e Bergeim como fonte de fosfatase é preparado da seguinte forma: 1000 g de levedo fresco (Fleischmann) são agitados com 500 ml. de água destilada e deixados repousar à temperatura ambiente durante cerca de 1 hora. Adicionar, então, gelo seco (neve carbonica) em quantidade suficiente para gelar a mistura, que se deixa depois aquecer gradualmente até a temperatura ambiente. Adicionar em 1 litro de glicerina, agitar a mistura por alguns minutos e transferir para cilindro graduado que é guardado na geladeira durante 1 noite. A suspensão é, então, centrifugada e o líquido sobrenadante usado como preparação de fosfatase para a hidrólise da cocarboxilase.



**Leitura** — A medida da tiamina (ou de cocarboxilase) se faz pela fluorescência produzida pelo tiocromo, produto da oxidação. Realizamos nossas leituras com o fotômetro de Pulfrich adaptado a leituras de fluorescência com lampada de ultra-violeta de Hanovia. Esta lampada é adaptada ao fotômetro substituindo a lampada usual do aparelho. Os raios visíveis são eliminados com vidro de níquel. Os filtros a empregar são os da serie K ou L. Temos empregado em nossas leituras o filtro L-II.

As medidas são feitas sempre em comparação com padrão fluorescente, que pôde ser um vidro padrão de uranio, ou, no caso, solução padrão de sulfato de quinino.

Este padrão fluorescente é empregado numa única e determinada concentração. Com ele prepara-se uma curva para leitura dos resultados.

Esta curva é estabelecida realizando-se uma serie de determinações com varias soluções de tiamina, de concentrações compreendidas entre 2 e 20  $\gamma$  em 5 ml de amostra, e lendo os resultados comparativamente com o padrão adotado.

Varios padrões ensaiados, empregando sulfato de quinino em  $H_2SO_4$  N/10 nos forneceram curvas de leituras que podem ser apreciadas no gráfico anexo.

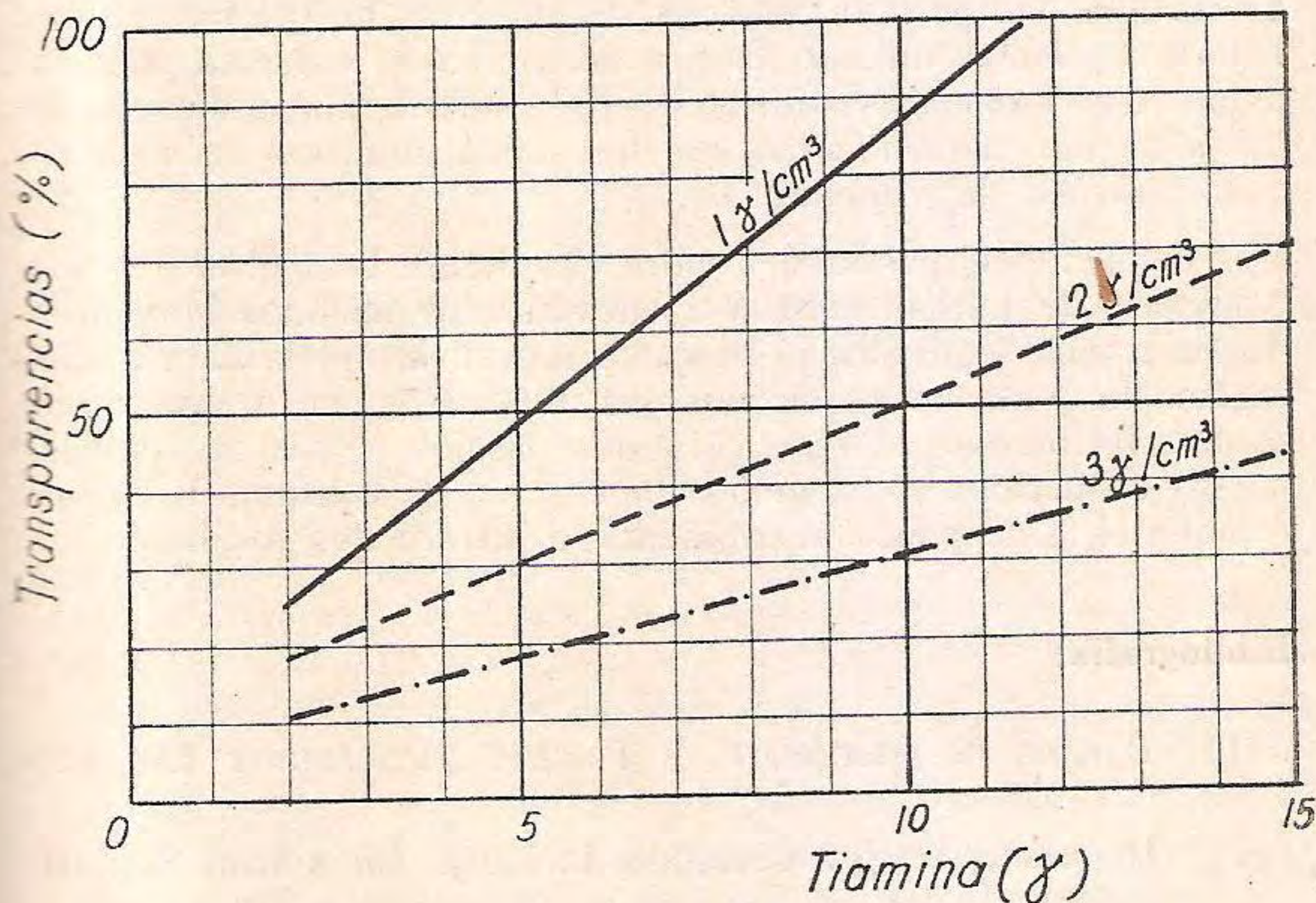
Estas soluções padrões de sulfato de quinino devem, de preferencia, apresentar fluorescência mais intensa do que as soluções de tiocromo obtidas no ensaio. As medidas realizadas no fotômetro de Pulfrich adaptado às medidas de fluorescência são feitas mantendo o diafragma do tambor correspondente às soluções de tiocromo aberto (100% de transparencia) e movimentando o das soluções padrões. A leitura é convertida em teor de tiamina pela curva traçada previamente.

Se porem, em dada leitura, a solução de tiocromo se apresentou com fluorescência mais intensa que a do padrão a medida é feita pelo diafragma correspondente à solução em análise a aplicada a formula  $100.100/a$  onde  $a$  designa a leitura realizada no tambor.

Com soluções padrões por nós ensaiadas (v. gráfico) verifica-se que com a de concentração a 1  $\gamma$  de sulfato de quinino por ml a zona de leitura fica compreendida entre 2 e 10  $\gamma$  de tiamina. A solução de 2  $\gamma$  por ml abrange toda a zona de aplicação da técnica de Jansen, que é a das concentrações de 2 a 20  $\gamma$  de tiamina na amostra.



Esta curva, feita com o padrão de sulfato de quinino de 2  $\gamma$  /ml tem portanto aplicação geral, dentro da região em que o método de Jansen é utilizado. A primeira curva poderá ser utilizada quando a concentração de tiamina da amostra tomada para o ensaio estiver compreendida entre 2 e 10  $\gamma$  . Ela nos fornecerá resultados mais precisos.



Curvas de aferição para o fotômetro de Pulfrich, empregando-se como padrão soluções de sulfato de quinino com as concentrações indicadas e o filtro L-II.

**Discussão** — A oxidação da tiamina pelo ferricianeto de potássio com formação do tiocromo, fluorescente, permite um bom método de determinação quantitativa. Esta oxidação se processa em meio alcalino, tendo Jansen verificado que o ótimo de reação corresponde ao pH 10.

Um excesso de ferricianeto destrói rapidamente o tiocromo e, por isso, a quantidade deste reagente deve ser cuidadosamente adicionada. Jansen aconselha adicionar quantidades variadas de ferricianeto às soluções de tiamina e observar qual a de fluorescência mais intensa, devendo o máximo aparecer dentro de 1 a 2 minutos.

O tiocromo é resistente à ação dos álcalis, mas a vitamina



B<sub>1</sub> é facilmente destruída. Isto implica em realizar a adição do oxidante antes ou simultaneamente com a do álcali.

Segundo Jansen as quantidades de ferricianeto de potássio em solução aquosa de 1 %, a adicionar, devem estar entre 0,01 a 0,1 ml. para 1  $\gamma$  de vitamina B<sub>1</sub>; entre 0,03 a 0,1 ml. para 10  $\gamma$  e entre 0,1 a 0,2 ml. para 20  $\gamma$  de vitamina.

Jansen emprega para as determinações uma concentração de tiamina que permita tomadas de amostras de 0,1 ml. Outros autores preferem utilizar para a determinação volumes maiores, o que tem realmente contribuído para uma maior utilização do método, pois podem então ser utilizadas soluções de menores concentrações de vitamina B<sub>1</sub>.

Os métodos químicos, e entre eles figura com grande relevo o método de Jansen, tendem a substituir os métodos biológicos. Aliada a uma segurança já bastante sugestiva, apresentam a vantagem de poderem os ensaios ser realizados em tempo muito menor, facilitando as repetições dos ensaios, e sem as desvantagens conhecidas dos métodos biológicos, de consumo de tempo e material, e de pouca sensibilidade e justeza dos resultados.

#### **Bibliografia:**

- (1) Barger, G., Bergel, F. e Todd, A. R., *Nature* **136**, 259 (1935).
- (2) Hennessy, D. J. e Cerecedo, L. R., *J. Am. Chem. Soc.* **61**, 180 (1939).
- (3) Jansen, B. C. P., *Rec. trav. chim.* **55**, 1046 (1936) e *Z. Vitaminforsch.*, **7**, 239 (1938).
- (4) Kinnersley, H. W, e Peters, A. A., *Biochem. J.* **32**, 697 (1938).
- (5) Kirch, E. R. e Bergeim, O., *J. Biol. Chem.* **143**, 575 (1942).
- (6) Kuhn, R.; Wagner-Jauregg, T., van Klaveren, F. W., e Vetter H., *Z. physiol. Chem.* **234**, 196 (1935).
- (7) Lohmann, K. e Schuster, P., *Biochem. Zeit.* **294**, 188 (1937)
- (8) Tauber, H., *J. Biol. Chem.* **123**, 499 (1938).  
id. *ibid.* **125**, 191 (1938).
- (9) Weijlard, J. e Tauber, H., *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 2263 (1938).



DOSAGEM DA RIBOFLAVINA EM ALIMENTOS (\*)

por José Maria Chaves e Oscar Ribeiro

O presente trabalho teve por objetivo o ensaio comparativo dos métodos microbiológico e físico-químico na determinação da riboflavina e a sua aplicação à avaliação desta vitamina nos alimentos.

O método microbiológico de Snell e Strong (1), consiste na medida da turvação produzida, no colorímetro foto-elétrico de Evelyn, pela vegetação do *Lactobacillus casei* em meio basal, adicionado de doses crescentes de riboflavina, estabelecendo-se assim uma curva padrão, e simultaneamente a comparação com a intensidade de vegetação desenvolvida num meio idêntico, contendo os extratos de substância a dosar. O incremento da acidez desenvolvida pelo referido germen conforme os autores citados, é também diretamente proporcional aos teores em vitamina adicionados ao meio ou contidos na substância a ensaiar.

O método físico-químico consiste na medida da fluorescência produzida em diferentes soluções de vitamina B<sub>2</sub> de concentrações conhecidas, de forma que se possa traçar uma curva padrão para dosagens posteriores. Dada a instabilidade da vitamina B<sub>2</sub> essa curva foi traçada tomando-se como padrão uma solução de sódio-fluoresceína, contendo 0,5  $\gamma$  por cm<sup>3</sup>. A fluorescência foi excitada com a luz ultra-violeta produzida por uma lampada de vapores de mercúrio de Hannovia e a medida de luz fluorescente efetuada com um fotómetro gradual de Pulfrich com filtro verde (L-II).

**Preparação dos extratos** — Sendo a riboflavina solúvel em

---

(\*) Apresentado à Divisão de Química Biológica no 2.º Congresso da A. Q. B. realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



água e termo-estável, a sua extração de material rico, para fins de dosagem, se torna simples.

O material finamente dividido deve ser autoclavado 15 minutos a 110°C ou fervido durante uma hora em refluxo com grande volume de água acidulada (HCl 0,1N) (1).

Para fígado e levedura, esta técnica forneceu bons resultados. Para leite e sub-produtos que contenham caseína, Hodson e Norris (5) aconselham fazer a extração com acetona acidulada com HCl.

Nas nossas extrações, empregamos 5 cm<sup>3</sup> de leite para 20 cm<sup>3</sup> de acetona. Em material pobre, é sempre preferível fazer uma adsorção da vitamina, e eluição posterior. Como adsorvente apropriado é recomendado o *Supersorb* também conhecido com o nome de *Fluorosil*.

Empregamos coluna cromatográfica 1 x 15 cm aproximadamente e como eluente uma mistura de piridina-metanol-água (1:1:4) (2). Euler e Adler (3) usam a mesma mistura na proporção 1:2:3. Vilela (4) dosando Vitamina B<sub>2</sub> na urina, elue o adsorbato com piridina 20% em água acidulada com 2% de ácido acético.

Eliminam-se os solventes orgânicos do eluto, evaporando em vácuo a pequeno volume. O resíduo é completado em balão aferido com água levemente acidulada, (pH 5-6).

Neste caso deve-se sempre fazer um testemunho com o adsorvente e o eluente, para deduzir a sua fluorescência do resultado da determinação.

No caso de substâncias amiláceas uma hidrólise do amido com takadiastase é aconselhável.

Para evitar a interferência de substâncias fluorescentes que possam influir na determinação, Hodson e Norris (5) recomendam destruí-las com hidrosulfito de sódio e cloreto estanhoso, de vez que o hidrosulfito reduz também a vitamina à sua forma não fluorescente em 10 minutos de contato, e uma agitação por 5 minutos com ar reoxida totalmente a vitamina B<sub>2</sub> à sua forma fluorescente. Assim a precisão da dosagem torna-se maior.

Experiência por nós feita com raspa de mandioca, mostrou que substâncias fluorescentes do extrato daquela raiz não sofriam redução com cloreto estanhoso e hidrosulfito de sódio. Ensaian-do com solução de riboflavina pura, cristalizada, notamos que a recuperação depois da redução com cloreto estanhoso e hidrosulfito não era de 100%.



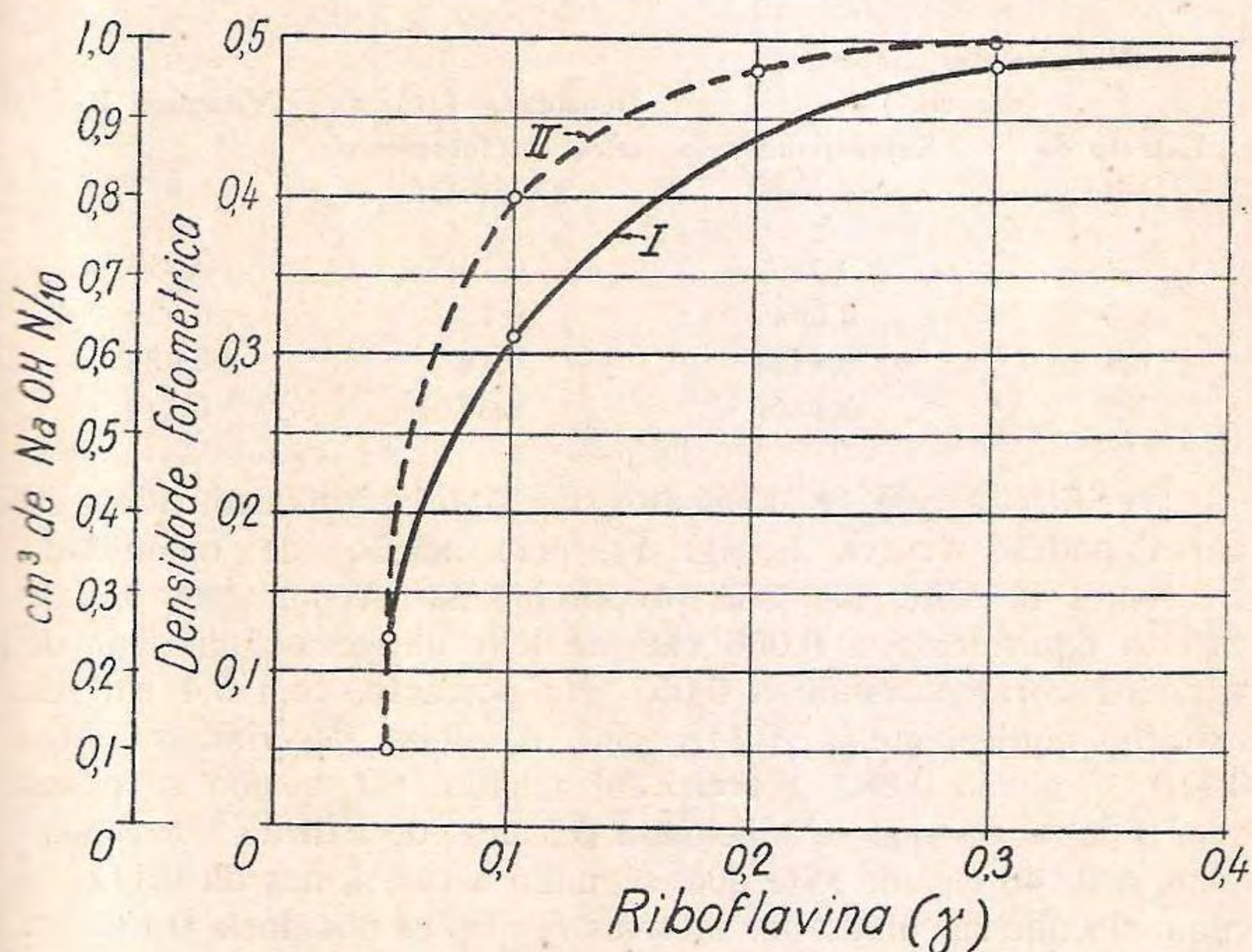


Fig. 1 — Desenvolvimento do *Lactobacillus casei* em meio basal, adicionado de vitamina B<sub>2</sub>.

Curva I — Curva turbidimétrica obtida no fotômetro foto-elétrico de Evelyn.

Curva II — Incremento da acidez.

**Resultados e discussão** — Os resultados obtidos no ensaio microbiológico acham-se apresentados na fig. 1 os quais concordam com os de Snell e Strong, em relação ao desenvolvimento da curva, isto é, esta vai num crescendo desde a concentração de 0,05  $\gamma$  a 0,3  $\gamma$  de vitamina B<sub>2</sub> por cm<sup>3</sup> e depois de 0,3 torna-se estacionaria, isto é, não ha aumento de turvação nem de ácido produzido pelo *Lactobacillus casei*.

No entanto, em relação à precisão do método, não obtivemos os resultados previstos pelos autores.

A tabela I apresenta os resultados obtidos com a adição de extrato de leite aos tubos de cultura ao em vez de riboflavina.



TABELA 1

Volume das amostras (em cm <sup>3</sup> )		Densidade fotome- trica (fotometro de Evelyn	Vitamina B <sub>2</sub>  γ
Extrato de leite	Correspondencia em leite		
0,2	0,056	0,13	0,055
0,3	0,084	0,13	0,055
0,4	0,112	0,28	0,088
0,5	0,140	0,34	0,112

Verifica-se que os aumentos de riboflavina, deduzidos da curva padrão (curva I, fig. 1), pela adição de quantidade crescentes de leite, não são proporcionais. Assim, com 0,2 de extrato equivalente a 0,056 cm<sup>3</sup> de leite obtivemos um teor de vitamina correspondente a 0,055 γ ; portanto, com 0,4 cm<sup>3</sup> de extrato, equivalente a 0,112 cm<sup>3</sup> de leite deveríamos obter 0,110 γ e não 0,88 γ como foi achado. O mesmo se passa com o tubo em que se adicionou 0,5 cm<sup>3</sup> de extrato correspondente a 0,140 cm<sup>3</sup> de leite que, segundo a curva, nos dá 0,112 γ enquanto que calculado nas mesmas condições nos daria 0,137 γ .

Em relação ao calculo, segundo a acidez, obtivemos o seguinte resultado:

TABELA 2

Volume das amostras (em cm <sup>3</sup> )		NaOH N/10 (cm <sup>3</sup> )	Vitamina B <sub>2</sub>  γ
Extrato de leite	Correspondencia em leite		
0,2	0,056	0,30	0,055
0,3	0,084	0,30	0,055
0,4	0,112	0,60	0,077
0,5	0,140	0,70	0,088

Nas mesmas condições o aumento de riboflavina não é proporcional, pois, dando a 2.<sup>a</sup> amostra 0,055 γ , equivalente a 0,056 de leite, a amostra de 0,112 cm<sup>3</sup> de leite deveria dar 0,110 γ ao em vez de 0,77 γ .

Para o ensaio fluorométrico procedemos do seguinte modo: a 5 cm<sup>3</sup> de leite adicionamos 20 cm<sup>3</sup> de acetona ligeiramente acidulada. Centrifugamos, filtramos e os resultados lidos, em cuba de 2 cm, no fotómetro de Pulfrich. Em outro ensaio foram empre-



gados 35 cm<sup>3</sup> de acetona. Os resultados representados no gráfico da fig. 2 (onde é dada ainda a curva de aferição do fotômetro, foram os seguintes:

Leite (cm <sup>3</sup> )	Acetona (cm <sup>3</sup> )	Coef. de extinção ( $\epsilon$ )	Riboflavina ( $\gamma$ /cm <sup>3</sup> de leite)
5	20	0,145	2,8
5	35	0,310	2,7

No entretanto, o método fluorométrico apresenta também suas dificuldades, como por exemplo: a existencia nos alimentos de outras substancias ou pigmentos que emitam fluorescencia.

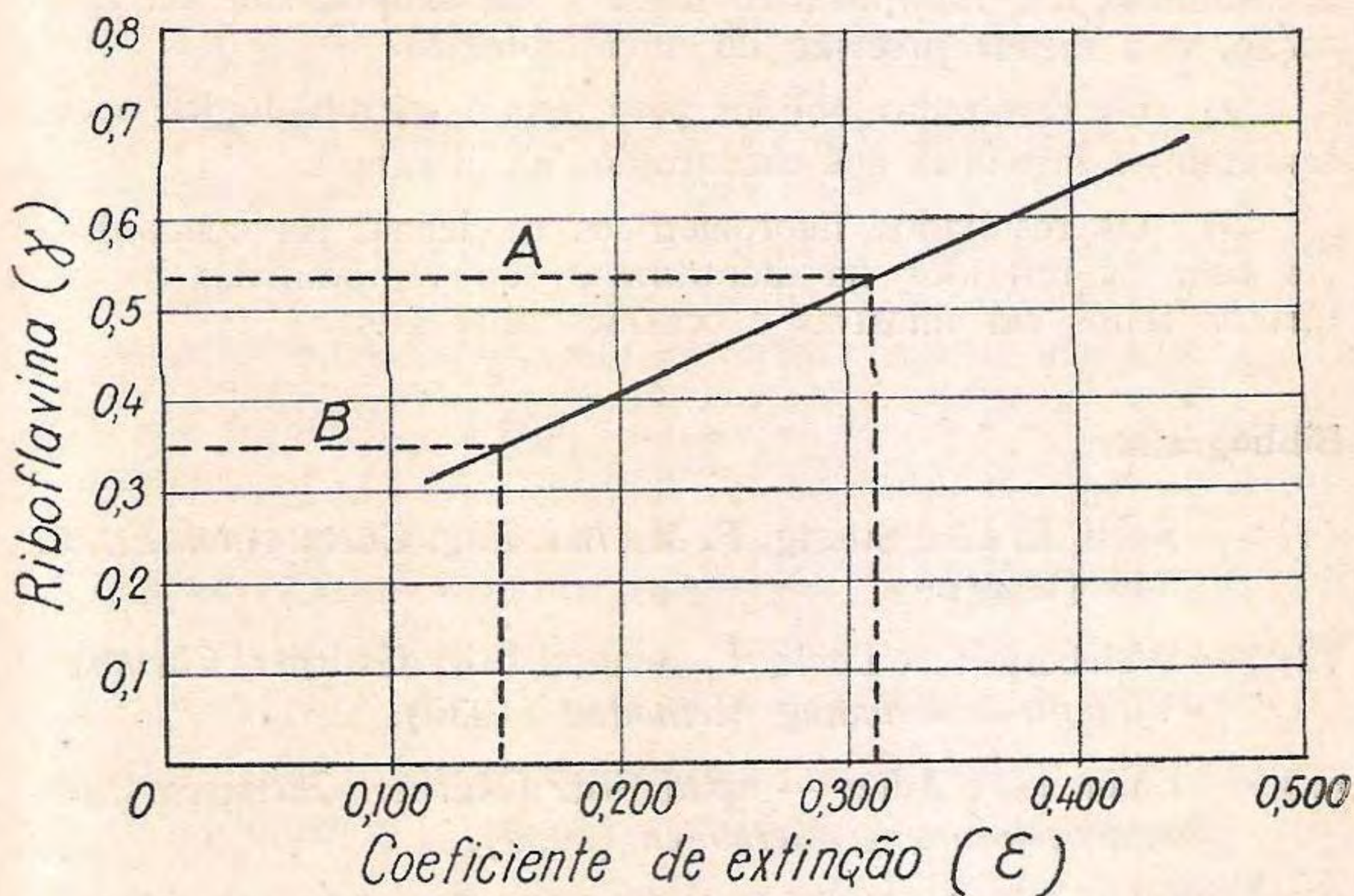


Fig. 2 — Curva de aferição para a determinação fluorométrica com o fotômetro de Pulfrich.

Tivemos ocasião de tentar dosar a vitamina B<sub>2</sub> na mandioca; a fluorescencia propria de seus extratos, entretanto, é difícil de destruir. Mesmo empregando a técnica de Hodson e Norris (5) não pudemos em nossa primeira tentativa eliminar a intensa fluorescencia azul.

Hodson e Norris (5) baseiam-se no fato de que a maior parte dos pigmentos e substancias, é facilmente reduzida pelo clorêto estanhoso e hidrosulfito de sodio. A riboflavina que é mais re-



sistente, volta a ser oxidada pelas simples agitações com ar enquanto que isso não acontece às outras substancias.

E' provavel que isto se passe com alguns alimentos; não obtivemos, porem, resultados satisfatorios em nossas primeiras tentativas. Com referencia ao ensaio microbiológico devemos assinalar que trabalhos recentes, (6) (7) assinalam a presença de outro, ou outros, fatores capazes de influir sobre o crescimento do *Lactobacillus casei*, mesmo na ausencia de riboflavina, fatores esses encontrados no farelo de trigo de arroz e na farinha integral de trigo.

**Conclusões** — 1) Pelos dados apresentados chegamos a conclusão que dos dois métodos ensaiados o que nos parece mais aconselhavel é o fluorométrico dada a sua simplicidade da aplicação, e a menor precisão do microbiológico.

2) Os resultados obtidos pelo ensaio microbiológico apresentaram-se inferiores aos encontrados na literatura.

3) Os resultados fluorométricos se acham em concordancia com os referidos na literatura e são reprodutíveis mesmo quando feitos em amostras e ocasiões diferentes.

#### **Bibliografia:**

- (1) — Snell, E. E. e Strong, F. M., *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **6**, 346 (1939).
- (2) — Weisberg, S. e Levin, I. — apud Fritz Gstirner, *Chemisch Vitamin-bestimmung Methoden* (1939).
- (3) — Euler, H. e Adler — apud Fritz Gstirner, *Chemisch Vitamin-bestimmung Methoden* (1939).
- (4) — Vilela, G. G., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **37**, 428 (1942).
- (5) — Hodson, A. Z. e Norris, L. C., *J. Biol. Chem.* **131**, 626 (1939).
- (6) — Wegner, I. M. e Keminerer e Fraps, G. S., *J. Biol. Chem.* **144**, 731 (1942).
- (7) — Feeney, R. E. e Strong, F. M., *J. Biol. Chem.* **142**, 962 (1942).



[CONTRIBUIÇÃO DA SECÇÃO DE PRESERVAÇÃO DE MADEIRAS  
DO INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE SÃO PAULO]

A INFLUÊNCIA DOS FENOIS DO CREOSOTO NA PRESERVAÇÃO  
DAS MADEIRAS (\*)

por Paulo da Rocha Azevedo

E' o creosoto o mais antigo e o mais usado preservativo das madeiras. A sua eficiencia é devida à sua alta toxidez aos agentes causadores do apodrecimento e à grande permanencia nas madeiras. E' ele um produto complexo, obtido por destilação do alcatrão, proveniente tanto da hulha como da madeira.

Ha, na Europa e nos Estados Unidos, um tipo de creosoto conhecido por *óleo de antraceno* ou *Carbolineum*, que apresenta um maior peso específico e um ponto de ebulição mais elevado do que o creosoto comum e em que uma das partes de seus elementos constituintes (antraceno, fenantreno, etc.) foi removida para tornar o produto menos viscoso à temperatura ambiente.

No Brasil o termo *Carbolineum* adquiriu significado diferente, sendo utilizado como designação comercial dos creosotos destinados ao tratamento das madeiras e obtidos por destilação do alcatrão da hulha obtida na fabricação do gás de iluminação.

As propriedades dos varios creosotos, embora de diferentes origens, são mais ou menos idênticos, sendo eles constituídos por um grande número de compostos, os quais podem ser reunidos em tres grupos principais:

“Ácidos” de alcatrão ou fenóis que incluem o fenol, os creosóis e naftóis, todos mais ou menos tóxicos aos organismos des-

---

(\*) Apresentado à Divisão de Química Tecnológica no 2.º Congresso da A. Q. B. realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943



truidores da madeira e se encontram nas frações de pontos de ebulição mais baixos;

*bases do alcatrão* — que são as piridinas, quinolinas, acridinas, etc., a maioria das quais é também tóxica aos fungos;

*hidrocarbonetos* — constituem a maior parte do volume do creosoto e incluem o naftaleno, acenafteno, antraceno, fluoreno e fenantreno, a maioria dos quais possui, também, grande toxidez.

A ação do creosoto como preservativo, além do alto grau de toxidez dos seus constituintes é completada por ser ele um produto oleoso, difícil de ser arrastado da madeira, o que mantém as suas qualidades tóxicas por muito tempo. Esses característicos tornam o emprego do creosoto recomendável para a proteção das madeiras mais expostas às intempéries, como para postes, moirões, vigas, dormentes, esteios de toda a espécie, etc.

As diversas especificações para creosoto não diferem essencialmente quanto aos limites fixados para os vários característicos, tais como, peso específico, teor das frações de destilação com os respectivos limites de temperatura de separação, etc. Divergências apreciáveis se encontram, porém, quanto ao teor de fenois ou de *ácidos do alcatrão*, como se pode ver do quadro abaixo, onde se reproduzem as exigências de várias especificações:

IPT (1) E-30	EFCB (2)	BSS-144 (3)			ASTM (4) AREA (5)	TTW-556 (6)			SWMT (7)
		Tipo A	Tipo B	Tipo C		Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	
min. 6 ‰	min. 10 ‰	min. 5 ‰  max. 16 ‰	min. 5 ‰	min. 5 ‰	não especificado				min. 6 ‰

(1) — Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo.

(2) — Estrada de Ferro Central do Brasil.

(3) — British Standard Specifications.

(4) — American Society for Testing Material.

(5) — American Railway Engineering Association.

(6) — Federal Specification — E. U. A.

(7) — Schweizerischer Verband für die Material Pruefungen der Technik  
— Suissa.



Em face dessas divergencias, resolveu a Secção de Preservação de Madeiras do I.P.T., proceder a um estudo de laboratorio afim de melhor elucidar a influencia dos fenóis do creosoto na preservação das madeiras.

### Método de estudo

Para esse estudo adotou-se o método seguido pelos *Bell Telephone Laboratories* de Nova York (1) com algumas modificações que permitem uma melhor avaliação dos resultados. Esse método — particularmente utilizado para a avaliação da eficiência dos produtos usados como preservativos da madeira contra os agentes do apodrecimento — apresenta a vantagem de, em um prazo relativamente curto, permitir que se observe a ação dos preservativos sobre os fungos causadores do apodrecimento da madeira, sendo essa ação avaliada: a) pelo crescimento do órgão vegetativo (micélio) dos fungos sobre os corpos de prova tratados com o produto em estudo, e pelo seu vigor na parte atacada; b) pela diminuição do peso dos corpos de prova, atribuível a ação destrutiva dos fungos sobre a substancia lenhosa e c) pela diminuição da resistência da madeira atacada, verificada nos ensaios de fendilhamento.

### Preparo dos corpos de prova

Para o estudo de preservativos adotamos exclusivamente madeira de Pinho do Paraná (*Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze), por ser ela, em condições naturais, facilmente atacavel pelos fungos destruidores, apresentando ainda a vantagem de se deixar impregnar facilmente pelos preservativos.

E' evidente que — se a madeira em estado natural não possue nenhuma resistência aos agentes do apodrecimento — os organismos inoculados atacarão os corpos de prova com maior ou menor intensidade, de acordo com a maior ou menor proteção conferida pelos preservativos aplicados.

Para o estudo escolhemos madeira perfeitamente sã, sem nós, fendas ou manchas que de qualquer maneira pudessem ter influencia nos resultados finais do ensaio. Todos os corpos de prova



foram retirados de uma mesma tora, sendo, sob esse ponto de vista, os resultados obtidos perfeitamente comparaveis entre si.

### Tratamento dos corpos de prova

Os corpos de prova foram tratados por imersão, a frio, durante o tempo necessario para absorverem uma quantidade de preservativo necessario à sua proteção.

Alem de testemunhas sem tratamento, foram tratados corpos de prova com os seguintes produtos:

- a — creosoto contendo 6% de fenol.
- b — creosoto depois de destilado até 250°C.
- c — *Gas oil* com o destilado do creosoto (8% de fenol)
- d — *Gas oil*.

O creosoto utilizado foi adquirido na praça e continha 6% de fenol (determinado segundo um método baseado no de Koppeschaar). O mesmo produto foi destilado até 250°C para eliminar os *ácidos de alcatrão*. O *gas oil* utilizado era o tipo comumente utilizado como combustível nos motores Diesel. O destilado do creosoto foi adicionado ao *gas oil* em proporção para dar-lhe um teor de 8% de fenol.

O controle da absorção dos preservativos pelos corpos de prova, foi feito por pesagem individual até atingirem eles os limites de impregnação previamente fixados.

Para os corpos de prova tratados com *gas oil* permitimos maior absorção por não ter, esse produto, ação tóxica aos organismos destruidores da madeira.

Apresentamos, a seguir, o quadro demonstrativo dos tratamentos dos corpos de prova.

PRESERVATIVO	Absorção média	
	por corpo de prova (volume 14,4 cm <sup>3</sup> )	equivalente em kg/m <sup>3</sup>
a) Creosoto com 6% de fenois .....	1,27	88,5
b) Creosoto privado dos <i>ácidos de alcatrão</i> .....	1,36	94,4
c) <i>Gas oil</i> com 8% de fenol .....	1,21	84,0
d) <i>Gas oil</i> .....	2,27	156,0



### **Intemperismo**

Depois do tratamento e antes de serem submetidos a ação dos fungos, sofreram os corpos de prova, uma lixiviação, afim de ser verificada a permanencia e a resistencia do produto à intemperie.

Esse intemperismo consistiu de 10 ciclos consecutivos, cada ciclo de:

- 3 horas de imersão em agua corrente, seguidas de
- 15 horas de exposição ao ar em ambiente de laboratorio e de
- 6 horas de permanencia em estufa a 50°C.

### **Exposição ao ataque dos fungos**

No método empregado o ataque dos organismos inoculados se processa em camaras húmidas, em ambiente altamente favoravel ao desenvolvimento dos fungos; a madeira de pinho desprotegida é, totalmente atacada e desintegrada no prazo de 25 semanas que é o período convencionado para a exposição da madeira ao fungo.

As câmaras úmidas são constituídas, como se vê na *fig. 1*, por um frasco pequeno cheio de agua, colocado no interior de um maior, que contem, tambem, agua até uma certa altura. Essa agua mantem um ambiente saturado e ótimo ao desenvolvimento dos fungos.

Sobre o pequeno frasco interno coloca-se uma tabuinha de alburno mantida por dois suportes, *fig. 2*, sendo todas essas peças de madeira facilmente atacaveis pelos fungos. Esterilizado o conjunto em autoclave, inocula-se a tabuinha, colocando-se sobre ela um pequeno fragmento de uma cultura pura do organismo escolhido e, em poucos dias, o fungo se desenvolve com grande vigor logo cobrindo toda a sua superfície. Nesse estado, estando o fungo bastante vigoroso sobre a tabuinha, coloca-se sobre ela o corpo de prova da madeira em estudo, fixando-o, por meio de dois suportes, em íntimo contato com a tabuinha já contaminada, que serve de verdadeiro meio de cultura, garantindo o substrato indispensavel à vida do organismo até ele estar em condições de atacar o corpo de prova. Quando este foi previamente tratado por um preservativo eficiente, o fungo permanece apenas nos suportes, sem afetar de forma alguma o corpo de prova.



### Agentes do apodrecimento

Para o ensaio empregamos quatro especies, tres das quais escolhidas entre os fungos que apresentaram maior vigor em laboratorio, e pela frequencia com que tem sido observados em dormentes, moirões, postes, etc.; a esses adicionamos o *Lenzites trabea* (Pers.) Fries, ainda não encontrado no Brasil, mas adotado na maioria dos laboratorios estrangeiros para estudos semelhantes. São eles: *Lenzites trabea* (Pers.) Fries,<sup>1</sup> *Lenzites striata* (Sw.) Fries,<sup>2</sup> *Fomes connatus* (Schm.) Fries<sup>3</sup> e *Polyporus fumosus* (Pers.) Fries<sup>4</sup>.

### Avaliação dos resultados

*Crescimento dos fungos* — Um dos elementos que nos permite avaliar a eficiencia dos preservativos é o alastramento dos fungos sobre os corpos de prova tratados e o seu vigor na parte atacada; em um corpo de prova protegido por um preservativo bastante tóxico, os fungos limitam o ataque à tabuinha, sendo que, em alguns casos, nas partes que ficam em contato direto com os corpos de prova, chegam a perecer.

Para maior facilidade na interpretação do crescimento dos fungos, foram convencioneados graus de avaliação, que variam de 0 a 4, para indicar o alastramento do fungo sobre o corpo de prova, o seu vigor na parte atacada e o alastramento do fungo na tabuinha de inoculação.

Assim, a um corpo de prova inteiramente revestido por um micélio muito vigoroso, correspondendo a *um alastramento e vigor máximos*, caberiam os graus 4-4-4; a anotação 2-3-4 indicaria *metade do corpo de prova atacado por um micélio muito vigoroso*, estando a tabuinha inteiramente recoberta; 1-1-4 seria o indicativo de um *ataque incipiente*, apesar do fungo ter atacado muito a tabuinha; 0-0-2 mostraria que a madeira do corpo de prova não foi atacada, sendo pequeno o desenvolvimento do fungo na tabuinha.

Nas tabelas apresentadas figuram apenas as médias gerais dos graus no fim do ensaio.

*Perda de peso* — Outro elemento de avaliação de resistência da madeira ao apodrecimento é a perda de peso dos corpos de prova,

(1) Cultura procedente do Centesalbureau voor schimmelcultures — Boarn Holanda.

(2, 3 e 4) Material identificado por Pe. João Rick. SJ.



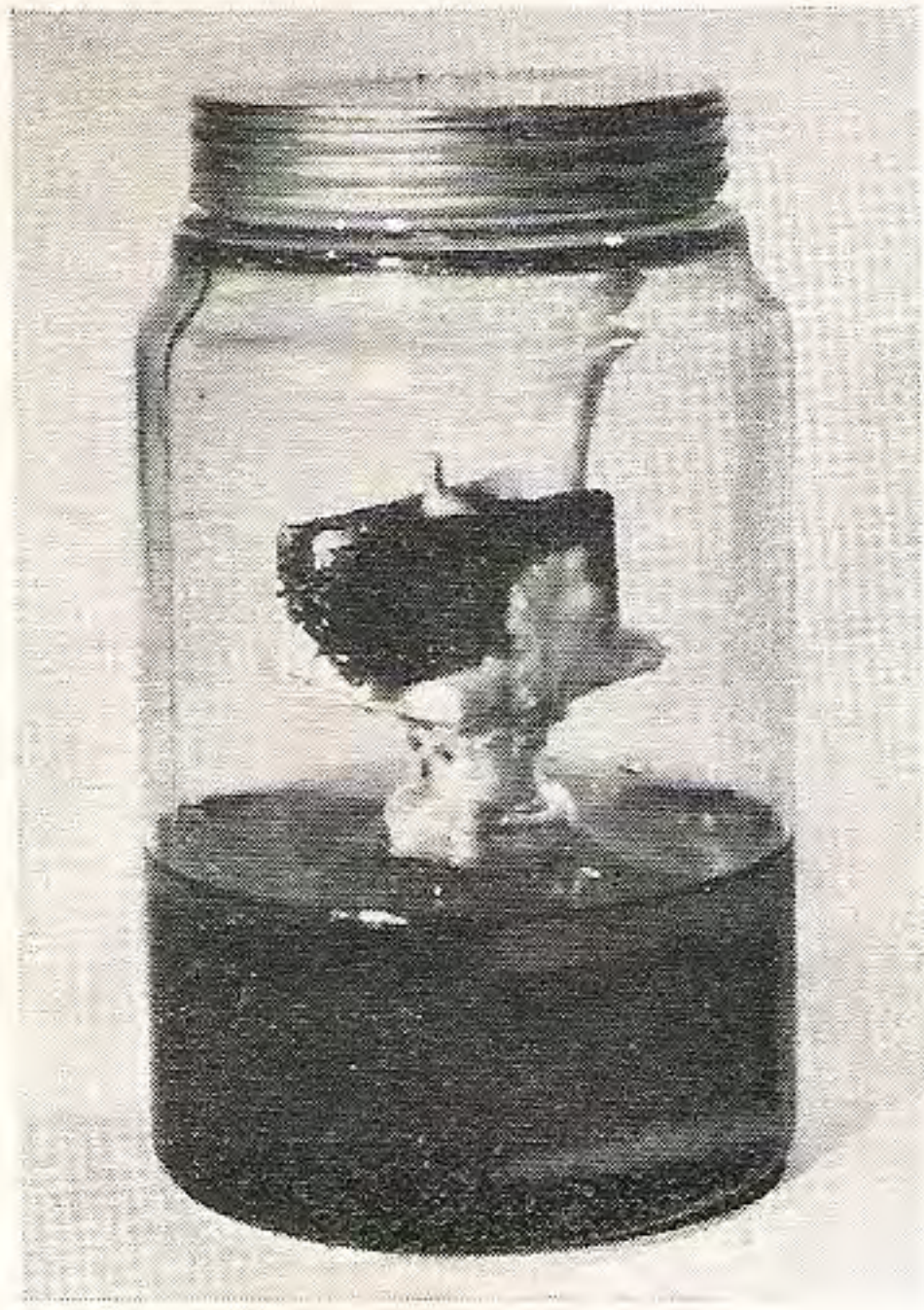


Fig. 1

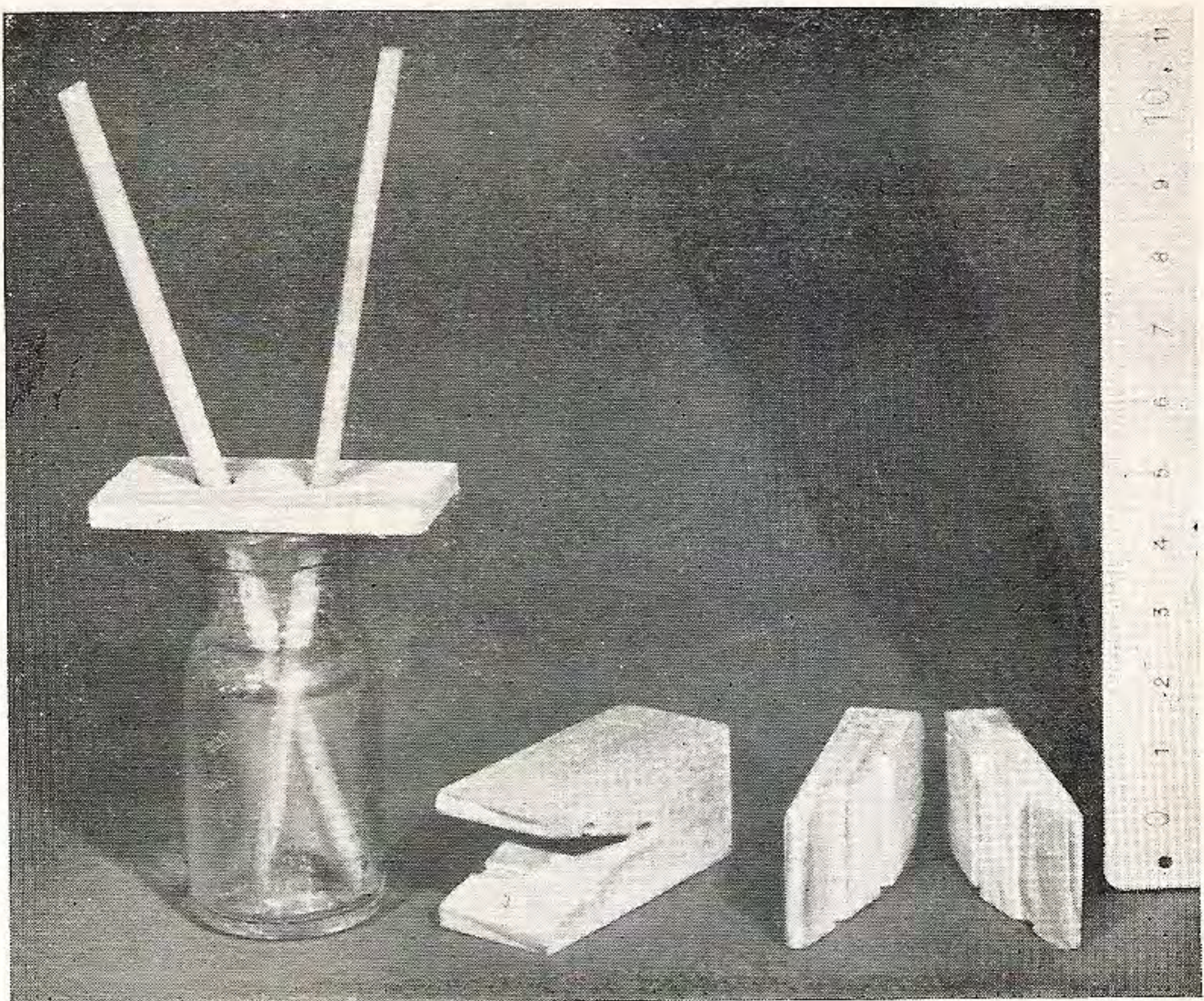
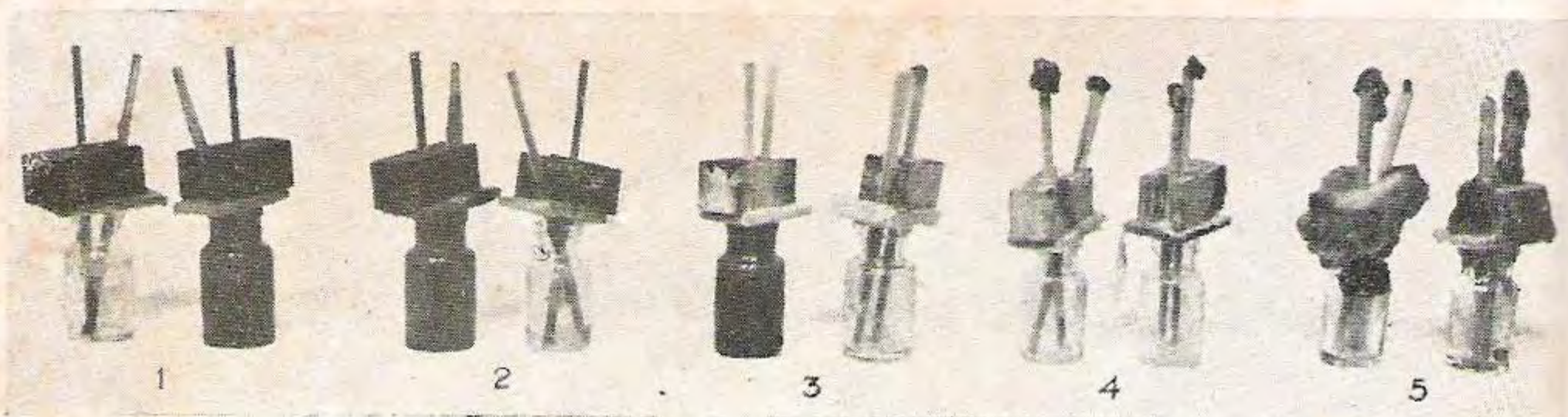
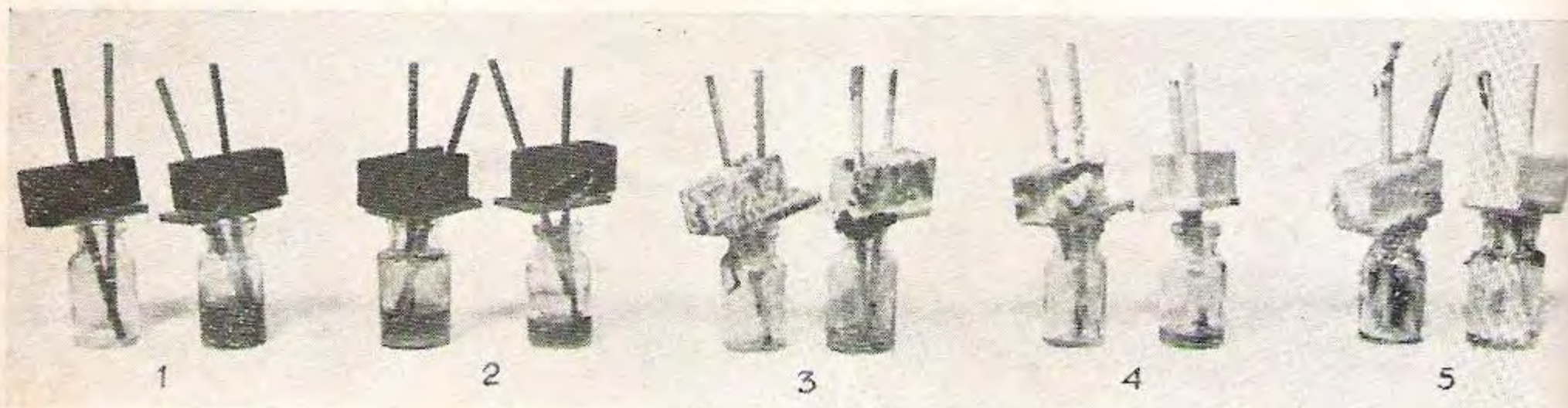


Fig. 2

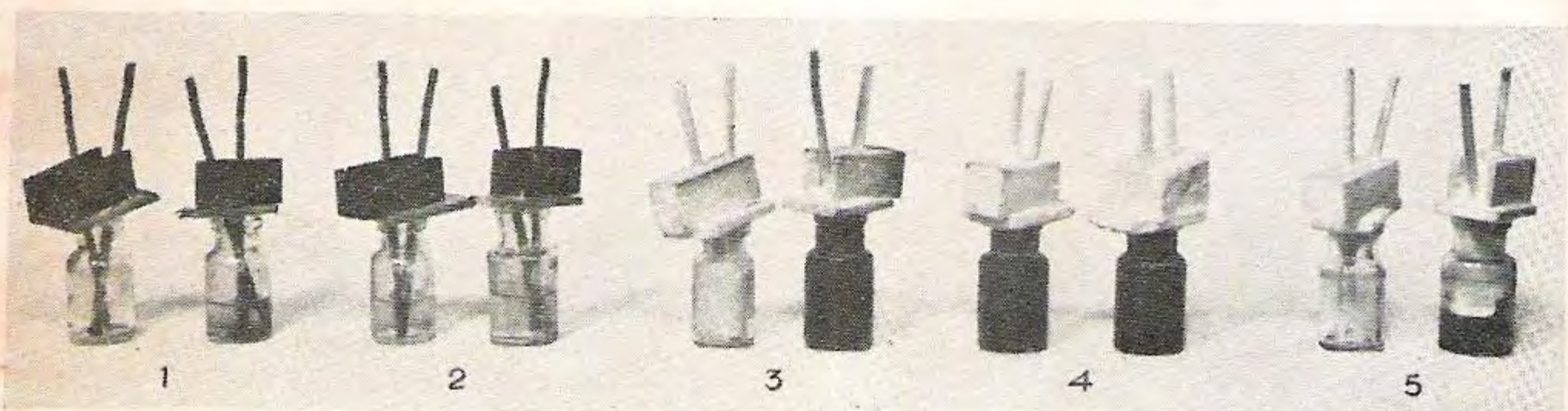




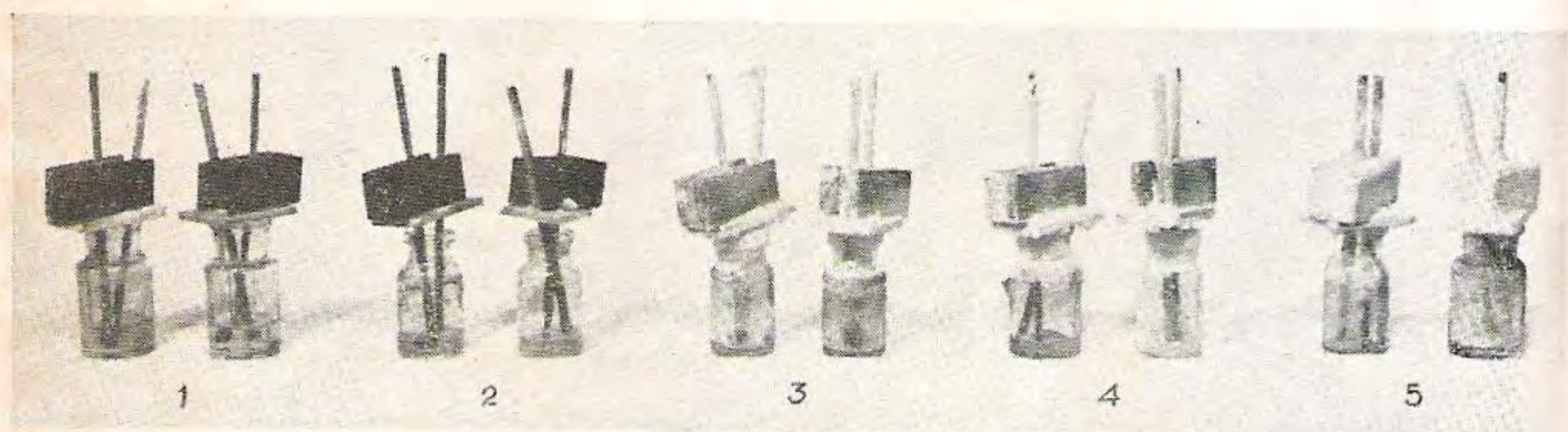
LENZITES STRIATA



LENZITES TRABEA



FOMES CONNATUS



POLYPORUS FUMOSUS

Fig. 3 — Aspectos finais do crescimento dos fungos.

- 1 — Creosoto com 6% de fenol.
- 2 — Creosoto privado dos acidos do alcatrão.
- 3 — Gas oil com 8% de fenol.
- 4 — Gas oil.
- 5 — Testemunhas, sem tratamento.



a qual nos revela, em percentagem, a substância lenhosa destruída pelo organismo inoculado.

O seu cálculo baseia-se na diferença entre a substância lenhosa contida no corpo de prova antes e depois do ataque dos fungos e é expressa em função da substância lenhosa seca, com 0% de humidade.

### Resultados gerais do ensaio

1 — Crescimento dos fungos sobre os corpos de prova.

(Compare-se com os aspetos de *fig. 3*)

Organismo inoculado	Tratamento	N.º de corpos de prova	Crescimento alastramento e vigor
<b>Lenzites trabea</b>	a .....	7	0 — 0 — 1
	b .....	7	0 — 0 — 2
	c .....	7	3 — 2 — 4
	d .....	6	4 — 2 — 4
	testemunhas ...	6	4 — 4 — 4
<b>Lenzites striata</b>	a .....	7	0 — 0 — 3
	b .....	7	0 — 0 — 4
	c .....	7	4 — 2 — 4
	d .....	7	4 — 3 — 4
	testemunhas ...	8	4 — 3 — 4
<b>Fomes connatus</b>	a .....	5	0 — 0 — 3
	b .....	5	0 — 0 — 2
	c .....	7	3 — 2 — 4
	d .....	6	4 — 3 — 4
	testemunhas ...	6	4 — 3 — 4
<b>Polyporus fumosus</b>	a .....	7	0 — 0 — 4
	b .....	7	0 — 0 — 4
	c .....	7	4 — 2 — 4
	d .....	6	4 — 3 — 4
	testemunhas ...	7	4 — 4 — 4



2 — Perda de peso (substância lenhosa seca)

Organismo inoculado	Tratamento	N.º de corpos de prova	Peso antes do ataque dos fungos g	Umidade inicial (média) %	Subs. lenhosa inicial (calculada) g	Peso final com 0 o/o de umidade (média) g	Perda de peso %
Lenzites trabea	a .....	7	10,560	31,2	8,050	8,060	0,0
	b .....	7	10,090	24,1	8,130	8,070	0,7
	c .....	7	10,610	30,7	8,120	7,410	8,5
	d .....	6	9,015	13,6	7,940	7,010	11,8
	Testemunhas	6	7,520	14,2	6,585	3,910	40,6
Lenzites striata	a .....	7	10,710	31,2	8,160	8,100	0,7
	b .....	7	10,110	24,1	8,150	8,050	1,2
	c .....	7	10,820	30,7	8,280	7,670	7,4
	d .....	7	8,930	13,6	7,860	7,245	7,7
	Testemunhas	8	7,560	14,2	6,620	5,765	12,9
Fomes connatus	a .....	5	10,810	31,2	8,240	8,220	0,2
	b .....	5	10,130	24,1	8,160	8,115	0,6
	c .....	7	10,470	30,7	8,010	7,430	7,2
	d .....	6	9,305	13,6	8,190	7,325	10,6
	Testemunhas	6	7,985	14,2	6,990	4,900	29,9
Polyporus fumosus	a .....	7	10,560	31,2	8,050	7,990	0,7
	b .....	7	10,330	24,1	8,320	8,230	1,8
	c .....	7	10,570	30,7	8,090	7,700	4,8
	d .....	6	9,250	13,6	8,140	7,600	6,6
	Testemunhas	7	7,870	14,2	6,890	5,260	23,6

NOTA — Uma perda de peso menor que 3% não deve ser considerada como índice real de apodrecimento, devendo ser atribuída a erros de observação.



3 — Ensaio de fendilhamento

Organismo inoculado	Tratamento	N.º de corpos de prova	Resistência média kg/cm <sup>2</sup>		Perda de resistência	
			Do corpo de prova original	Do corpo de prova inoculado	kg	%
<b>Lenzites trabea</b>	a .....	7		4,3	0,4	8,5
	b .....	7		4,6	0,1	2,2
	c .....	7	4,7	3,8	0,9	19,1
	d .....	6		2,5	2,2	46,8
	Testemunhas .	6		0,6	4,1	87,2
<b>Lenzites striata</b>	a .....	7		4,3	0,4	8,5
	b .....	7		4,7	0,0	0,0
	c .....	7	4,7	3,5	1,2	25,5
	d .....	7		3,1	1,6	51,6
	Testemunhas .	8		1,7	3,0	63,8
<b>Fomes connatus</b>	a .....	5		4,3	0,4	8,5
	b .....	5		4,9	0,0	0,0
	c .....	7	4,7	3,4	1,3	27,7
	d .....	6		2,0	2,7	57,4
	Testemunhas .	6		0,8	3,9	83,0
<b>Polyporus fumosus</b>	a .....	7		4,4	0,3	6,4
	b .....	7		4,6	0,1	2,1
	c .....	7	4,7	3,7	1,0	21,3
	d .....	6		2,4	2,3	48,9
	Testemunhas .	7		1,0	3,7	78,7

NOTA — Uma perda de resistência inferior a 10% não indica um estado de apodrecimento dos corpos de prova, admitindo-se que seja causada por erros de observação.

*Ensaio de fendilhamento* — Sendo os corpos de prova por nós utilizados, apropriados a este ensaio (2), foi determinado também este característico mecânico da madeira como meio de avaliação do ataque dos fungos em comparação com o dos corpos de prova originais. A comparação da resistência destes com a dos submetidos ao ataque indica a diminuição da resistência da madeira, causada pelo apodrecimento.

Na tabela referente a esse ensaio consignamos os valores médios obtidos para os corpos de prova tratados, para as respectivas testemunhas e para os corpos de prova originais.



### Apreciação dos resultados

As tabelas anexas resumem os resultados gerais do estudo. O exame dessas tabelas nos permite as seguintes apreciações sobre a ação preservativa dos produtos estudados:

- 1 — As amostras de creosoto, tanto o integral como o que foi privado dos fenóis, protegeram com igual eficiência os corpos de prova, do ataque de todos os organismos inoculados.
- 2 — O *gas oil*, ao qual foram adicionados os *ácidos do alcatrão* em proporção suficiente para conter 8% de fenol, ofereceu à madeira dos corpos de prova, uma proteção deficiente, acentuadamente inferior à dos creosotos.
- 3 — O *gas oil* somente, como era de se esperar, não preservou eficazmente a madeira, permitindo que os fungos a atacassem com vigor.
- 4 — A madeira sem tratamento preservativo não ofereceu nenhuma resistência aos agentes do apodrecimento, evidenciada pela grande perda de substancia lenhosa e de resistencia ao ensaio de fendilhamento, sofrida pelos corpos de prova.

### Conclusão

Essas constatações nos permitem afirmar que o creosoto, privado dos *ácidos de alcatrão*, em laboratório, protegeu a madeira com a mesma eficiência que o mesmo produto com aqueles componentes e que uma elevada percentagem de *ácidos* adicionada ao *gas oil* dando-lhe um teor de 8% de fenol, não proporcionou, à madeira, senão uma precaria proteção.

A vista desses resultados pode-se concluir que, para o creosoto ser um eficiente imunizador da madeira, não é necessário que contenha os *ácidos do alcatrão*.

### Bibliografia:

- (1) Waterman, R. E., Leutritz, J. e Hill, C.B. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **10**, 306 (1938).
- (2) Brotero, F. A., *Metodos de ensaio adotados no I.P.T. para o estudo das madeiras nacionais* — Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo — Boletim n.º 24 (1939).



[CONTRIBUIÇÃO DA DIVISÃO DE INDUSTRIAS QUÍMICAS ORGÂNICAS DO INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA — RIO DE JANEIRO]

### A GOMA DE ANGICO (\*)

Por José Luiz Rangel

A goma de angico é o produto da exsudação de certas espécies botânicas da família das Leguminosas — Mimosaceas (gênero *Piptadenia*), conhecidas pelo nome vulgar de *angico*. Encontra-se esta goma presa aos troncos ou galhos do angico e, por vezes, caída ao chão em volta da árvore.

O angico é árvore nativa no Brasil. Floresce em quasi todas as regiões, sendo reputada, devido às suas múltiplas aplicações, como uma espécie botânica de grande valor econômico. Fornece cascas ricas em taninos que encontram franca aceitação na industria de curtume; o lenho é utilizado como madeira ótima para construção; as fôlhas encontram emprego na medicina popular e, finalmente, a goma que exsuda tanto é remedio como adesivo, de propriedades semelhantes à goma arábica.

São varias as especies de angico que florescem em nosso país. Pio Corrêa (1) faz referência a diversas espécies, entre as quais destacamos:

“Angico Branco — *Piptadenia Colubrina* Bth. ou *Acacia Colubrina* M.-sin: Cambuí — *Angico*. Fornece madeira avermelhada ou pardo-escura, compacta, fibras grossas e revessas, bastante dura e pesada, própria para dormentes, construção civil, obras hidráulicas expostas e internas, taboado, carpintaria, lenha e carvão. A casca encerra 32% de tanino e tem emprego na industria de curtume. Dela exsuda goma sucedanea da “goma arábica”, empregada na industria e também contra as afecções pulmonares e das vias respiratórias”.

“Angico do Campo — *Piptadenia macrocarpa* Bth. ou *Acacia grata* Willd. — Sin: Arapiraca, Curupai. — Fornece ma-

---

(\*) Apresentado à Divisão de Química Tecnológica no 2.º Congresso da A.Q.B. realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



deira vermelho escura, compacta, etc. A casca é rica em tanino e uma das mais empregadas pelos nossos curtumes; dela exsuda abundantíssima goma-resina com aplicações industriais e mediciais, entre estas para combater as bronquites”.

“Angico Roxo — *Piptadenia cebil* Griseb — A casca do angico roxo, que contém 19 a 25% de tanino, é ótima para curtume e por isso os norte-americanos chamam-lhe impropriamente “Quebrachowood”, nome este que não deve confundir-se com as varias especies que assim são chamadas devido a circunstancia do proprio lenho ser tanifero; a dita casca exsuda uma goma-resina que encerra cerca de 80% de arabina. As fôlhas tambem contêm 6% de tanino.”

“Angico Verdadeiro — *Piptadenia rigida* Bth. ou *Acacia angico* M.-Sin: Angico amarelo, A. cedro, A. de banhado, A. de montes, A. vermelho, Brincos de saquim, Paricá. — Fornece madeira com veios escuros, etc. A casca é amarga, adstringente e rica em tanino e usada na industria do curtume. A goma-resina, que a casca exsuda em notavel quantidade (goma de angico), é bem conhecida como expectorante enérgico e tem varias aplicações medicinaes e industriais.”

O aparecimento da goma de angico no nosso mercado data de poucos anos; a principio foi utilizada somente pelas populações rurais que a empregavam como medicamento ou como produto auxiliar de suas industrias. Aos poucos foi sendo trazida para os grandes centros industriais pelos consumidores interessados em melhor conhecer suas propriedades. Hoje em dia já é possivel a aquisição de partidas regulares de goma de angico e, segundo informações de comerciantes desta capital, já existe um pequeno mercado consumindo normalmente esta materia prima.

A cifra a que atinge este comercio ainda é na verdade muito pequena, mas aumentará certamente desde que se conheçam melhor as propriedades do produto. Justifica-se, deste modo, o estudo desta materia prima nacional cuja abundancia nas florestas brasileiras é bem conhecida.

Do estudo referido, uma parte já se acha publicada; é a que diz respeito ao poder de colagem da goma de angico comparado ao da goma arábica estrangeira (2).

Divulgaremos agora os resultados a que chegamos no estudo da composição quimica.

**Generalidades sobre gomas** — Denominam-se “gomas” certas substâncias amórfas exsudadas por diversas especies botânicas e que se apresentam geralmente como massas translucidas, infusiveis, inodóras, com pouco ou nenhum gosto, não cris-



talizaveis e apresentando um caracter eminentemente coloidal. São insolúveis no álcool e no éter. Estes dissolventes precipitam mesmo as gomas de suas dissoluções.

Na agua, algumas gomas são dispersíveis; outras são incompletamente solúveis e outras afinal quasi indispersíveis, inchando-se na agua e dando uma geléia coloidal espessa.

Seu aspecto semelhante às resinas ocasiona muitas vezes confusões. Impropriamente muitas gomas são conhecidas no commercio como "resinas", desta e daquela árvore.

A infusibilidade e o fato de se dissolverem ou incharem em contacto com a agua, são características que distinguem perfeitamente as gomas das resinas.

No estado em que se encontram os conhecimentos sobre a constituição química das gomas, não é possível uma classificação química racional desses produtos. Para cataloga-las recorreremos geralmente aos seus caracteres de solubilidade e à natureza das substancias glucídicas que elas fornecem pelo desdobramento hidrolítico, distinguindo-se, assim, gomas de *arabina*, de *cerasina* e de *bassorina*.

Segundo Maurice de Keghel (3) confundia-se antigamente sob a denominação de *gomas*, um grande número de corpos dotados de propriedades químicas essencialmente diferentes e não tendo de comum senão os característicos seguintes: formar com a agua um liquido espesso mucilaginoso e ser precipitado desta dissolução pelo álcool.

Não devem, porem, ser consideradas como verdadeiras gomas senão as especies que são transformadas em ácido mucico pelo ácido nítrico. As gomas que satisfazem a esta condição, podem ser divididas em tres classes segundo a natureza da materia hidrocarbonada que predomina: *arabina*, *cerasina* e *bassorina*. As mucilagens, substancias visinhas das gomas, de composição muito complexa e ainda pouco conhecidas, embora tenham a propriedade de formar ácido mucico pela oxidação com ácido nítrico, além de outras propriedades semelhantes, não devem ser confundidas com as gomas.

No grupo das gomas de *arabina*, podemos tomar como tipo a conhecida universalmente como goma arábica.

Desde os tempos mais remotos, esta goma é conhecida e utilizada. Sob o nome de *Kami* os egipcios importavam-na da costa da Somalia, donde ainda hoje se exporta em grande quantidade e empregavam-na em pinturas artisticas. Da costa da Somalia a goma vinha para os países occidentais passando pela Arabia; daí veiu a denominação de *goma arábica*, nome hoje em dia vulgarizado e que serve para diversas especies de gomas de acacia.



A goma de angico exsudada por diversas especies do gênero *Acácia* ou *Piptadenia*, que vegetam abundantemente em todo o Brasil, classifica-se, como veremos mais adiante, entre as gomas de arabina.

**Composição** — O estudo da constiuição da goma de angico, foi considerado precisamente no estado em que se encontra no mercado, sem nenhuma purificação ou beneficiamento prévio.

Iniciamos os nossos trabalhos com duas amostras provenientes uma, do Estado do Ceará e, a outra, de Pirapora, Estado de Minas Gerais.

A amostra originaria do Ceará foi enviada pela firma Jayme Loureiro & Cia., desta capital, tendo sido tirada como representativa da média de diversas partidas; a de Pirapora, ofertada pelo Snr. Guilherme Steinemann, foi colhida por suas próprias mãos, constando de pedaços limpos e escolhidos.

Os ensaios preliminares mostraram os seguintes dados:

	Goma do Ceará	Goma de Pirapora
Úmidade (100-105°C) . . . . .	14,0%	12,6%
Insolúveis em agua . . . . .	4,2%	2,2%
Solúveis (por diferença) . . . . .	81,7%	85,2%

Vê-se que a goma de Pirapora apresenta menor percentagem de insolúveis. Isso decorre naturalmente do estado mais puro da amostra e do cuidado com que foi colhida.

Como o que interessa na goma é sobretudo a sua solubilidade, aliada evidentemente a outras propriedades, como colagem, compreende-se a vantagem que ha na colheita cuidadosa do material.

*Insolúveis* — A percentagem de insolúveis é quasi sempre consideravel como materia inutil. Acontece, porem, que não somente silica e detritos orgânicos compõem este insolúvel. Nota-se aí tambem a presença de goma cuja composição quimica é, por certo, diferente, merecendo assim ser identificada.

Executamos o trabalho de identificação desse material insolúvel de acordo com o método clássico de separação usado em casos semelhantes, isto é, pelo tratamento com soluções alcalinas (4).

Trabalhando segundo este método, fracionamos a identificamos os insolúveis; os componentes encontrados, com as per-



centagens calculadas em relação ao material bruto inicial são os seguintes:

	Goma do Ceará	Goma de Pirapora
Cerasina .....	3,75%	2,05%
Impurezas (detritos orgânicos, sílica, etc.) .....	0,50%	0,18%

*Material soluvel. Cor* — Lancemos agora a atenção para a parte soluvel do material em estudo. Como medida preliminar, verificamos a coloração das soluções. Assim se terá em números um ponto de referência para comparações. Utilizamos soluções preparadas com uma parte de goma e duas partes de água. A medição da cor foi feita no tintômetro de Lovibond em células de 25 mm, obtendo-se os seguintes resultados:

Goma de angico (Ceará) .....	{ Amarelo — 35
	{ Vermelho — 18
	{ Azul — 3
Goma de angico (Pirapora) .....	{ Amarelo — 35
	{ Vermelho — 18
	{ Azul — 3
Goma arábica de 1. <sup>a</sup> (estrangeira) ..	{ Amarelo — 2,5
	{ Vermelho — 0,8

Os números encontrados mostram comparativamente a grande intensidade de cor da goma de angico.

*Acidez e teor de cinza* — Foi determinada a acidez livre e a cinza total de um grande número de amostras de goma de angico; os valores medios obtidos são os seguintes:

Indice de acido .....	5
Cinza .....	1,2%

A pesquisa qualitativa da cinza acusou a presença dos seguintes elementos: K, Na, Ca, Mg, Al, Si e Fe.

*Poder rotatorio* — A goma de angico em solução desvia a luz polarizada para a direita enquanto que o produto da *Aca-cia arabica* é levógiro. Uma solução de goma, na proporção de 1 para 2 de agua, a 20°C, em tubo de 100 mm apresenta um poder rotatorio de + 19°.



*Teor de arabina* — Sendo a arabina o principal constituinte da parte solúvel da goma de angico, realizamos a sua determinação pelo processo de precipitação com álcool acidificado (5) obtendo-se um teor de 76,8%, calculado sobre a goma desecada a 100°C.

O restante da parte solúvel compõe-se de matérias orgânicas e matérias minerais, nas seguintes percentagens:

Substancias orgânicas .....	3,45 %
Materias minerais .....	1,16 %

A arabina resulta da combinação do ácido arábico com sais de cálcio ou de potássio, de um lado, e de outro lado com anidridos de peso molecular elevado, (arabanas, galactanas), fermentos, matérias corantes (4), etc. Pela hidrólise da arabina, obtem-se galatose e arabinose.

Realizando a hidrólise da substancia considerada como arabina (5) que foi separada da parte solúvel da goma de angico, trabalhando com ácido clorídrico diluído, obtivemos realmente galatose e arabinose. A formação destes açúcares foi confirmada por reações coloridas, usadas para identificação destes compostos, e pela obtenção de ozazonas, que ao microscópio revelam sistema de cristalização característica (4).

O que resultou da separação da arabinose e foi denominado “matérias orgânicas” compunha-se principalmente de tanino e de matéria corante não identificada.

Calcinação a fração solúvel, da qual se separou a arabina, obteve-se um residuo em que foi identificada a presença de cálcio, ferro e potássio.

Os diversos resultados analíticos que obtivemos, podem ser resumidos no seguinte quadro:

Solúveis:

Humidade (100-105°C) .....	14 %
Arabina .....	77 %
Materias corantes, taninos, sais minerais, etc.	4,5 %

Insolúveis:

Cerasina .....	4 %
Impurezas (silica, detritos orgânicos) .....	0,5 %

Sem dúvida as determinações acima não constituem a única marcha de análise para o exame de gomas de natureza semelhante à de angico. Outras normas podem ser seguidas no estudo destes produtos vegetais.



Seguindo o método recomendado por Pope (6) a análise da amostra proveniente do Ceará, apresentou os seguintes resultados:

Soluveis em agua . . . . .	81,7%
Insoluveis . . . . .	4,2%
Perda a 100-105°C . . . . .	14,0%
Cinza . . . . .	1,2%
Galatana (em galatose) ..	8,3%
Açúcar total . . . . .	—
Açúcares identificados . . . .	arabinose e galatose

*Reações características* — Da comparação entre os dados analíticos da goma de angico e os da goma arábica, verifica-se que é acentuada a semelhança entre estes dois produtos de exsudação. Naturalmente as reações qualitativas que caracterizam a goma estrangeira deveriam mostrar idênticos resultados com a goma nacional.

Entretanto isto não se dá. São realmente interessantes as divergencias que mostram estas gomas em face de certos reativos.

Seguindo, por exemplo, o quadro das reações para identificação de diversas gomas, apresentado por Jacobs and Jaffe (7) e ainda, as reações características da goma arábica citadas por Pope (6) e por Watiez e Sternon (4) apresentamos abaixo o seguinte quadro comparativo onde se encontram resultados que por vezes, diferem dos encontrados pelos autores citados:

Reativos	Goma de angico	Goma arabica
Acetato neutro de chumbo	turvação leve	turvação leve
Acetato básico de chumbo	turvação leve	precipita
Potassa cáustica	amarello pardacento	amarello esverdeado
Cloreto férrico	gelatiniza	gelatiniza
Alcool	precipita	precipita
Borax	negativa	gelatiniza
Acido tânico	turvação leve	opalescencia
Silicato de sodio	negativa	precipita e gelatiniza
Oxalato de amonio	precipita	precipita
Clorêto mercúrico	precipita	precipita

P. Heermann (8) referindo-se às oxidases das gomas arábicas cita duas reações típicas que caracterizam as referidas go-



mas; essas reações foram aplicadas a goma de angico, em solução de 1:2, com os seguintes resultados:

	Goma de angico	Goma arábica
Solução de piramidon	coloração azul esverdeada	coloração azul
Tintura de guaiaco	coloração azul violeta	coloração azul violeta

Verifica-se, desta maneira, que embora apresentando composições químicas praticamente idênticas, as gomas arábica e de angico se comportam diferentemente em face de certos reativos. Estas diferenças permitem ao químico distinguir uma goma de outra.

Tambem não são de extranhar as divergencias que se notam entre os resultados que encontramos e os citados pelos autores que mencionamos, pois existem diversas variedades de goma arábica que se distinguem umas das outras apenas por pequenas particularidades. Assim, verifica-se que as gomas arábicas do levante, do Senaar, das Indias Ocidentais e do Senegal se mostram levo-rotatorias ao polarímetro, enquanto que as da Australia ou *Wattle-Gum* são opticamente inativas; as de Gedda são dextro-rotatorias. Todas estas gomas são, entretanto, quimicamente análogas (6).

### Bibliografia:

- (1) M. Pio Correa, *Dicionario das Plantas Uteis do Brasil* (1926).
- (2) Instituto Nacional de Tecnologia, Rio de Janeiro, *Boletim de Informações* (1937).
- (3) Maurice de Keghel, *Traité Général de la Fabrication des Colles, des Gelatinants et Matières d'Apprets* (1926).
- (4) N. Watiez e F. Sternon, *Elements de Chimie Vététale* (1935).
- (5) H. C. Carrinton, W. N. Haworth e E. L. Hirst, *J. Chem. Soc.* 1653 (1934).  
*Chimie et Industrie* **33** n.º 5 (1935).
- (6) T. H. Pope, *Allen's Commercial Organic Analysis*, Vol. I.
- (7) Morris B. Jacobs e Leon Jaffe, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **3** 210 (1931).
- (8) Paul Heermann, *Faerberei und Chemische Untersuchungen* (1935).



[CONTRIBUIÇÃO DA SECÇÃO DE QUÍMICA DO INSTITUTO DE  
PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE S. PAULO]

## O APROVEITAMENTO DO FLUOR DO TOPAZIO DA MINA INHANDJARA (\*)

por Luciano Barzaghi e Frederico B. Angeleri

O presente trabalho é um complemento de um estudo de F. B. Angeleri (1) sobre o aproveitamento do topazio da mina Inhandjara, de Itupeva, como refratário. Nesse trabalho encontram-se as informações de caráter histórico geográfico e geológico, da mina e seus minérios.

A composição química do topazio, considerado como indivíduo mineralógico, varia entre as fórmulas  $(AlF)_2SiO_4$  e  $Al(FOH)_2SiO_4$ . O topazio de Itupeva tem uma composição bastante próxima à da primeira fórmula, com 18,0% de fluor (teoricamente 20,7%).

A calcinação a altas temperaturas, necessarias ao aproveitamento desse mineral como refratário, elimina quasi completamente o fluor e parcialmente o silicio, de modo que o material calcinado apresenta alto teor de alumina, ao redor de 70%.

Num eventual aproveitamento do topazio em produtos refratarios a calcinação causaria a formação de grandes quantidades de compostos volateis de fluor e, especialmente, de tetrafluoreto de silicio. Esses compostos prejudicariam de maneira sensivel a vida vegetal e animal, reproduzindo-se então, talvez em maior escala, os inconvenientes conhecidos de certas industrias, como a dos super-fosfatos.

Evidencia-se assim a necessidade da captação desses compostos de fluor, visando o seu aproveitamento.

O ácido fluossilícico e seus sais tem aplicação industrial assás importante. Soluções diluidas do ácido fluossilícico podem ser empregados como batericidas. Os fluossilicatos são batericidas e tambem inseticidas. Marcovitch (2) admite que o fluosi-

---

(\*) Apresentado à Divisão de Química Tecnológica no 2.º Congresso da A. Q. B., realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



licato de sódio pode, com vantagem, substituir o arsenito de sódio como inseticida.

Os fluossilicatos de magnésio ou de zinco entram na composição dos impermeabilizantes para o concreto. Devemos, por fim, mencionar a aplicação em esmaltes e como opacificantes dos vidros, dos fluossilicatos de sodio, calcio e magnésio.

As experiencias relatadas a seguir formam os elementos basicos que podem possibilitar a obtenção do ácido fluossilícico e dos fluossilicatos a partir do topazio nacional.

Já se tinha dado inicio ao presente estudo quando se teve conhecimento da publicação de B. C. Burgess, em que o autor estuda a industrialização do topazio de *Brewer Mine* nos Estados Unidos com o aproveitamento do fluor (3).

**Composição química.** — Foram feitas análises químicas de alguns lotes de topazio, antes e depois da calcinação. O teor de ferro é o que mostrou as variações mais sensiveis, nas diferentes amostras examinadas.

As determinações de fluor e sílica no material não calcinado foram realizadas segundo Hoffman e Lundell (4).

	Material crú		Material calcinado	
	A (*)	B	(a 1300°C)	(a 1450°C)
Fluor (F) . . . . .	18,1%	18,0%	não det.	não det.
Sílica (SiO <sub>2</sub> ) . . . . .	32,3%	32,9%	25,0%	25,2%
Óxido de alumínio (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) . .	54,5%	53,2%	72,7%	70,8%
Óxido de ferro (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) . . . .	4,4%	2,2%	2,1%	3,7%
Óxido de titanio (TiO <sub>2</sub> ) . . . .	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%

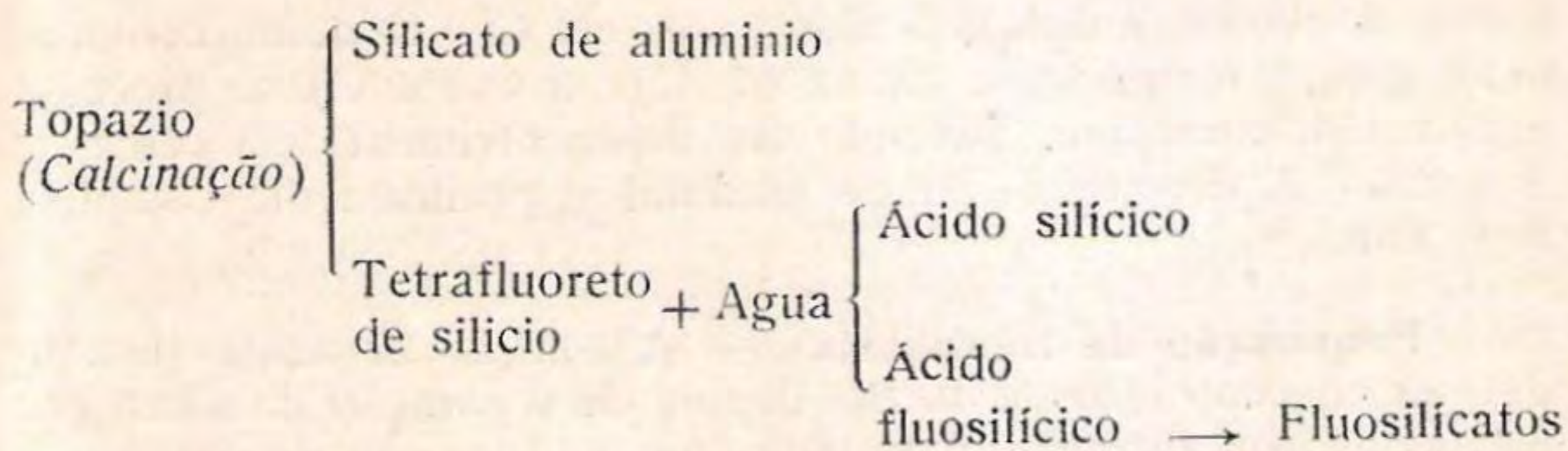
(\*) Análise efetuada no Instituto Geográfico e Geológico de S. Paulo.

Pelos resultados acima pode-se verificar que a perda de fluor e silicio na calcinação se realiza praticamente na proporção teórica de tetrafluoreto de sílcio (SiF<sub>4</sub>).

**Calcinação do topazio** — O processo de aproveitamento do gás formado na calcinação baseia-se na reação do tetrafluoreto de silicio com agua, formando ácido fluossilícico e sílica. Do ácido fluossilísico podem ser facilmente obtidos seus sais.

O esquema do processo póde ser representado da maneira seguinte:





Na calcinação do topazio, para a captação dos compostos voláteis, operou-se de maneira semelhante a de uma destilação seca, utilizando-se uma retorta de aço cujo aquecimento foi efetuado, por questões de facilidade de laboratório, em forno de indução (*Fig. 1*).

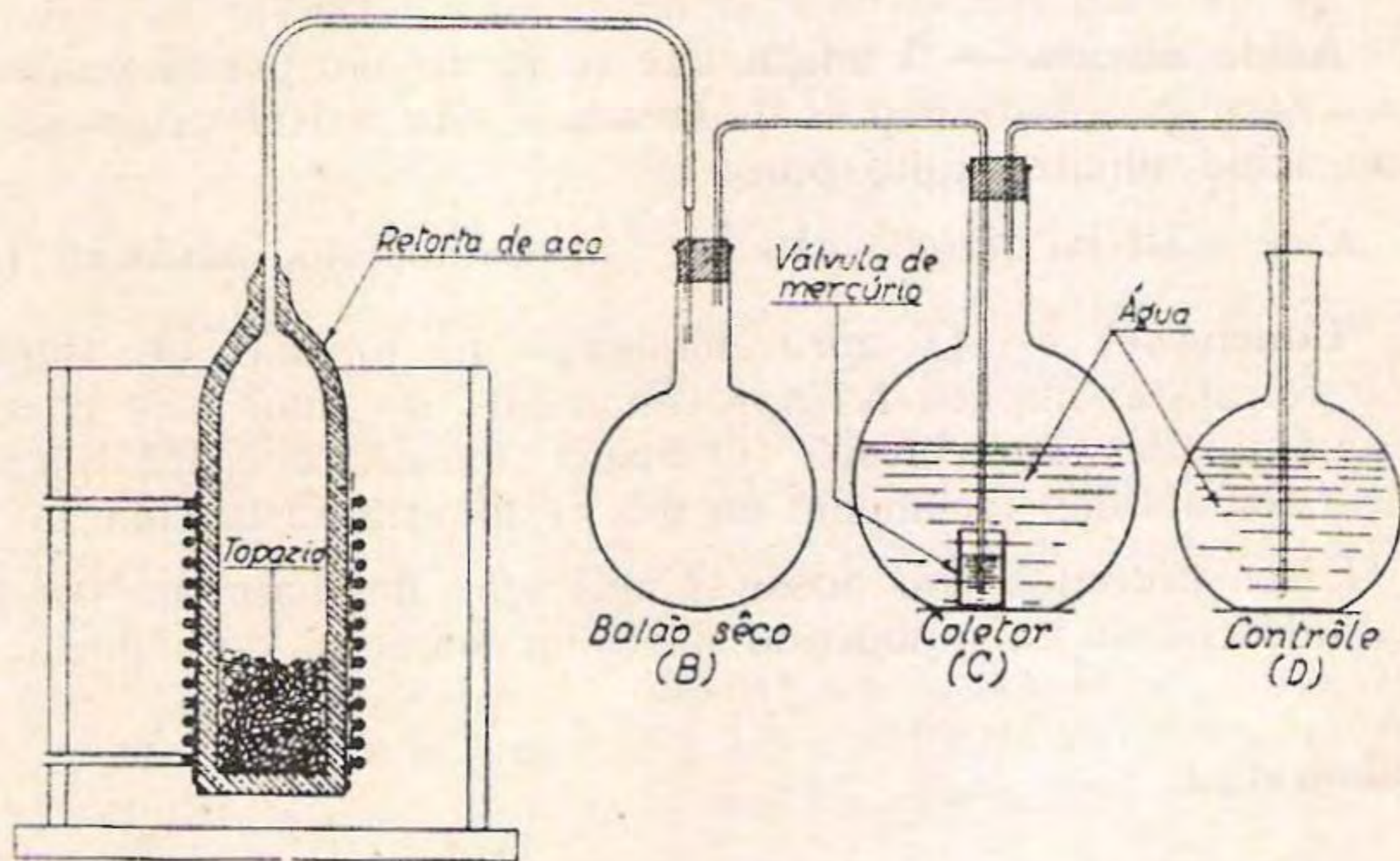


Fig. 1

O material, britado em pedaços de 2 a 10 mm foi colocado na retorta, de fôrma a ocupar uma quarta parte do espaço da mesma, e calcinado a temperatura de 1.150° a 1.250°. O gás destilado passa para um balão *B* que funciona como refrigerante e como intermediário de segurança; deste, através de uma válvula de mercúrio, para o balão *C*, contendo um litro de água.

Com esta quantidade de água obtem-se uma solução de aproximadamente 10°Bé. O último balão *D*, cheio de água, serve para controlar a absorção dos gases. Nas diversas experiências efetuadas, o líquido do balão *D* manteve-se neutro, eviden-



ciando a absorção completa dos gases em C. O desenvolvimento de gás, à temperatura citada (1.150° a 1.250°C) se processa de maneira constante, cessando seu desenvolvimento em cerca de 3 horas. A decomposição do material é praticamente completa a 1.300° (\*).

**Preparação de fluossilicatos.** — A solução de ácido fluossilícico na concentração de 10°Bé, depois da separação da sílica por decantação ou filtração, é tratada com um excesso de cloreto de sodio. Forma-se com isto um precipitado pesado e de aspecto gelatinoso de fluossilicato de sodio. Este é filtrado, lavado e seco pelos métodos usuais.

Outro fluossilicato importante é o de magnésio, que pôde ser obtido diretamente da solução de ácido fluossilícico, por tratamento com carbonato de magnésio na proporção equivalente, seguido de concentração e cristalização do sal formado.

**Ácido silícico.** — A sílica, que se forma em grandes quantidades neste processo, depois de lavada e seca a 100° apresenta-se como ácido silícico muito puro.

Este material parece não ter aproveitamento industrial (6).

**Conclusões** — O aproveitamento do topazio de Itupeva como refratário implica no aproveitamento do fluor nele contido em quantidades apreciáveis. O ácido fluossilícico e fluossilicatos podem ser obtidos facilmente do gás resultante da calcinação.

Esses produtos tem possível aplicação imediata, na lavoura e na indústria do país, podendo substituir materiais de importação.

### **Bibliografia:**

- (1) Angeleri, F. B. — *Estes Anais* **2** 42 (1943).
- (2) Marcovitch, S. — *C. A.* **22** 3255 (1928).
- (3) Burges, B. C. — *Bull. Am. Ceram. Soc.* **21** 135 (1942).
- (4) Hoffmann, J. I. e Lundell, G. E. F. — *J. Natl. Bur. Standards* **3** 581 (1929).
- (5) Ulmann — *Enciclopedia Química Industrial* (Madrid, 1931) vol. III, 493.

---

(\*) Veja-se a tabela n.º 1 do trabalho de F. B. Angeleri (1).



[CONTRIBUIÇÃO DA SECÇÃO DE QUÍMICA DO INSTITUTO DE  
PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE S. PAULO]

## O EMPREGO DA MADEIRA NA CONSTRUÇÃO DE COLUNAS DE RETIFICAÇÃO

Por Julio Rabin

Em uma publicação anterior por nós lançada a título de nota previa e enviada à Secção de Alcool do 1.º Congresso Nacional de Carburantes, foram examinadas as razões que nos levaram a experimentar o emprego da madeira na construção das colunas de retificação.

Os resultados das experiencias por nós relatados naquela ocasião não permitiam a formação de um julgamento definitivo sobre o comportamento desse material, uma vez que se limitavam a resultados de ordem qualitativa. Justificavam, porem, o interesse que a madeira poderia adquirir como elemento básico para a construção de colunas.

Um tubo de aduelas de madeira de juntas radiais lisas, com um metro de altura e uma polegada de diâmetro interno e cheio com fragmentos de tubos de vidro, foi por nós empregado.

O resultado então obtido, revelou um enriquecimento de concentração do elemento mais volátil da mistura inicial, recebida no topo da coluna, concentração essa que era da mesma ordem de grandeza que a obtida com uma coluna metálica, das mesmas dimensões e de idêntica superfície de retificação. As experiencias foram executadas sempre com a mistura binária álcool-agua. Os numeros que exprimiam a riqueza alcoólica do líquido recebido no topo da coluna de madeira eram ligeiramente inferiores aos obtidos com a de metal, sendo a concentração al-

---

(\*) Apresentado à Divisão de Açúcar e Alcool, no 2.º Congresso de Química da A.Q.B., realizado em Curitiba de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



coolica do residuo, sempre a mesma no fim das operações, após a destilação de iguais quantidades de mistura.

Aventamos então uma explicação para esse fato, lembrando que a madeira se comporta melhor quando seu teor de humidade não varia, e que operações realizadas em serie discreta poderiam ocasionar por variações de humidade fugas ou retenção até um estado de "saturação" do vapor que atravessava a coluna.

Para verificar se a diminuição dos intervalos entre duas operações consecutivas poderia de fato favorecer as condições da destilação, no sentido de recuperar todo o alcool contido na mistura inicial, empreendemos uma serie de destilações, partindo de misturas com a concentração alcoolica da aguardente e usando sucessivamente nas seguintes destilações, misturas com as concentrações alcoólicas anteriormente obtidas.

Essas operações foram assim empreendidas, no sentido de *determinar tambem o número de destilações que seria necessario efetuar para se obter uma mistura final a mais concentrada possivel em relação ao elemento mais volatil, compativel com a estrutura física do sistema alcool-agua.*

Os numeros indicados na tabela anexa representam valores medios de uma serie de experiencias realizadas. As concentrações alcoólicas são todas referidas a 15,5°C.

Nas primeiras destilações efetuadas, as perdas em alcool foram da ordem de 6%, havendo um vazamento atravez das juntas das aduelas, francamente perceptivel.

À medida que se sucediam as operações, a perda em alcool diminuia gradativamente, até estabilizar-se em torno de um valor medio da ordem de 1,5%.

Considerando os erros de leitura de volumes e temperatura, de medida de concentração etc., e especialmente o carater discontinuo da sequencia de operações, cremos não ser exagerado.

As condições em que foram efetuadas as experiencias com a coluna acima mencionada, em escala de laboratório, não permitiam fosse feito um ensaio continuo de destilação com alimentação de uma mistura de riqueza alcoolica constante.

Um fato logo observado durante as operações foi a menor diferença de temperatura entre a parede da coluna de madeira e o meio ambiente, comparada essa mesma diferença, com a de uma coluna metalica. Esse fato corresponde a um balanço térmico mais favoravel para as colunas construidas em madeira.

O balanço das quantidades de calor não pode ser efetuado. Mas já do fato apontado acima, indica menor irradiação de calor



através da superfície da parede da coluna e isto constitue índice seguro de um melhor aproveitamento do calor empregado.

Aliás era mesmo de se esperar isto acontecesse, conhecidas como são as qualidades isolantes da madeira.

Se bem que as condições de operação estabelecidas no laboratório não sejam comparáveis com as da industria, especialmente no que diz respeito à continuidade de funcionamento, uma serie de fatos de natureza intuitiva indicam que o emprego da coluna de madeira na industria não poderá dar resultados inferiores aos que se podem prever.

Muito pelo contrario, as condições de trabalho das instalações industriais, de funcionamento continuo, constituem justamente as condições em que o trabalho da madeira mais se recomenda.

Quanto à objeção que se possa formular em relação à vida de uma instalação para retificação de mistura alcoolicas, visto nenhuma experiencia ter sido empreendida para se ter uma ideia da sua duração, o que se conhece em relação ao comportamento da madeira, permite prever uma duração que não se deve afastar muito da de uma coluna de cobre, cuja duração não vai além de 8 anos, segundo informações obtidas de diversos industriais.

### BALANÇO MATERIAL DA DESTILAÇÃO

COLUNA DE MADEIRA				COLUNA DE METAL			
Concentração alcoólica (% volume)			Perda em alcool %	Concentração alcoólica (% volume)			Perda em alcool %
Inicial	Destilado	Resíduo		Inicial	Destilado	Resíduo	
43	85	5,5	2	44	82	6	1,5
81	86	52	1,5	82	86,5	56	1,5
86	92	76	1,4	86,5	92,5	74	1,2
92	94,5	83	1,5	92,5	94,5	84	1,5
95	95,5	90	1,5	94,5	95,5	89	1,5
95,5	96	94	1,5	95,5	96	94	1,5
96	96,5	95	1,5	96	96,5	94,5	1,5

**Nota:** Os números acima foram registrados quando as perdas se estabilizaram nos valores anotados.



Um fato merecedor de atenção é o dos pratos de retificação contidos na coluna. As condições ótimas de construção de colunas de aduelas de madeira são aquelas em que as aduelas são as mais longas possíveis (1), uma vez que as ligações do topo das aduelas constituem os locais mais difíceis para uma vedação estanque.

Assim sendo, o sistema de montagem por secções como é empregado para as colunas de cobre não pode ser adotado simplesmente para aquele material. Quer nos parecer que a colocação dos pratos, caso seja essa forma empregada como superfície de retificação, deva ser efetuada com a coluna já pronta, estando os pratos em ligação rígida com um eixo vertical que coincida com o eixo da coluna. A dilatação do prato de cobre, pelo calor, garantiria a vedação dos intervalos compreendidos entre os bordos dos pratos e a superfície interna da coluna.

Outra solução seria o emprego de anéis de porcelana (tipo anéis de Raschig) para enchimento das colunas, o que pode constituir superfícies com eficiência de retificação bastante grande.

Pode-se prever o emprego satisfatório da coluna de madeira na fabricação do álcool anidro. De fato, a eficiência da coluna de madeira, pelo que foi visto, é comparável à de metal. A obtenção de álcool anidro não é possível a partir da mistura binária álcool-agua. Esta, quando atinge determinada composição, tem um ponto de ebulição mínimo, formando uma solução azeotrópica. Este inconveniente é contornado pela adição de um terceiro elemento (benzeno, cloreto de etileno, etc.) e o sistema ternário, assim formado, apresenta para determinadas concentrações dessas substâncias um ponto de ebulição mínimo; dessa maneira tem-se durante a destilação o ternário azeotrópico no topo da coluna e o álcool anidro em baixo.

Uma instalação para fabricação de álcool anidro compreende, pois, três colunas: uma para retificação do mosto que entra com cerca de 8% e é enriquecido até cerca de 40% de álcool; outra, para a retificação até um máximo de 96,5% e uma terceira na qual é retificada a mistura ternária.

---

(1) Para detalhes construtivos das colunas cremos de grande utilidade consultar o trabalho de Frederico A. Brotero e Fernando Jorge Larabure, "Tubos de aduelas de madeira", publicado no *Boletim da Inspeção de Serviços Públicos*, n.º 6, Maio de 1941.



Do que foi dito é lícito concluir, ser possível a construção de instalações de madeira para fabricação de álcool anidro.

**Conclusão.** — As colunas de madeira para retificação de misturas alcoolicas apresentam as seguintes vantagens:

- a) — são economicas;
- b) — são de facil construção, não necessitam operarios especializados para a sua montagem e podem ser feitas "in loco";
- c) — são eficientes, uma vez que com ela se pode obter resultado igual ao obtido com as colunas metalicas.

**NOTA:** Enquanto estavam em curso as experiencias para a conclusão deste trabalho tivemos noticia da existencia de uma coluna de madeira, em um engenho no interior do Estado de São Paulo, cujo funcionamento tivemos ocasião de observar. É uma instalação com capacidade para cerca de 150 litros por hora e possui uma coluna de secção retangular de 9,8 metros de altura, contendo carvão de madeira. O proprietario obtem uma mistura com 92% de teor alcoolico.

---

**CORREÇÃO:** Na pag. 34 deste volume, foto n.º 2, onde se encontra "dose de 1 g", leia-se "dose de 1 γ".



[CONTRIBUIÇÃO DO DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DA FACULDADE  
DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DA UNIVERSIDADE DE  
SÃO PAULO]

### UM SIMPLES MICROEXTRATOR (\*)

Por Heinrich Hauptmann e Jandyra França

Durante as nossas pesquisas sobre o café e outros produtos de origem vegetal, frequentemente desejamos submeter à extração pequenas quantidades deles, seja para orientar-nos sobre o dissolvente mais apropriado, seja para determinar o conteúdo extraível. O mesmo aconteceu com sub-produtos obtidos por métodos de fracionamento que, contendo as substâncias de interesse, ainda não se prestavam à recristalização ou sublimações diretas. Nessas ocasiões, sempre sentimos falta de um micro ou semi-microextrator que fosse de construção simples, preço módico e manejo cômodo e que, especialmente, permitisse a verificação quantitativa da extração. Julgamos também interessante tal aparelho para as várias dosagens de extrato que se executam frequentemente na análise bromatológica e toxicológica e na de remédios, etc.

Na literatura ao nosso alcance encontramos a descrição de alguns microextratores (1). Pelo que pudemos verificar dos relatórios de *Chemisches Zentralblatt* e *Chemical Abstracts* (as revistas originais não nos foram acessíveis, em muitos casos, por

---

(\*) Apresetando à Divisão de Química Analítica, no 2.º Congresso da A.Q.B. realizado em Curitiba, de 26 a 31 de Janeiro de 1943.



causa da guerra), trata-se sempre de aparelhos que pelo emprego de esmeris normis, placas filtrantes, etc., não podem tão facilmente ser obtidos entre nós, e cujo preço não favorece a aquisição em grande número, para experiências em serie. A vista disso, resolvemos descrever o modelo de um simples aparelho (*fig. 1*), que trabalha como extrator de passagem de líquido, e que satisfaz os fins visados em muitas das nossas experiências.

Consiste em um tubo de vidro em U, de ramos desiguais, o maior alargado na sua parte superior, formando um pequeno funil *F*, o menor terminando num bico *B*, pelo qual gotreja o líquido. Seu peso é de cerca de 7 a 8 g e pode, facilmente ser pendurado na balança analítica, por um arame. Coloca-se o material a ser extraído na parte inferior do aparelho, até o nível indicado pela linha *A A'*; para fixar o material sobre ele se coloca um pouco de algodão de vidro, amianto ou mesmo algodão. Tanto vazio, como carregado, o extrator pode ser facilmente seco a temperatura constante.

As dificuldades que a princípio encontramos na extração provieram do fato de os vapores do dissolvente aquecerem o líquido condensado dentro do extrator, levando-o à ebulição. Conseguimos evitar esta dificuldade de duas maneiras:

A primeira, de aplicação geral para todos os dissolventes, é a demonstrada na *fig. 2*.

Consiste em um balão *B*, soldado lateralmente, por meio do tubo *T*, a um tubo *A*, e ligado ao fundo desse mesmo tubo *A* por um outro tubo *L*. No tubo *A* existem tres dentes *D*, que se destinam a segurar o extrator. No balão *B* coloca-se o dissolvente até a altura que ultrapasse a entrada *E* do tubo de ligação *L*. Depois de juntar uma pedra de ebulição pelo tubo lateral *T*, introduz-se o extrator no tubo *A*. Coloca-se, então, um refrigerante na sua parte superior. Usámos sempre um dedo frio, que segurámos acima do tubo por meio de um anel de cortiça cortado em um dos lados para evitar a super-pressão. Na-

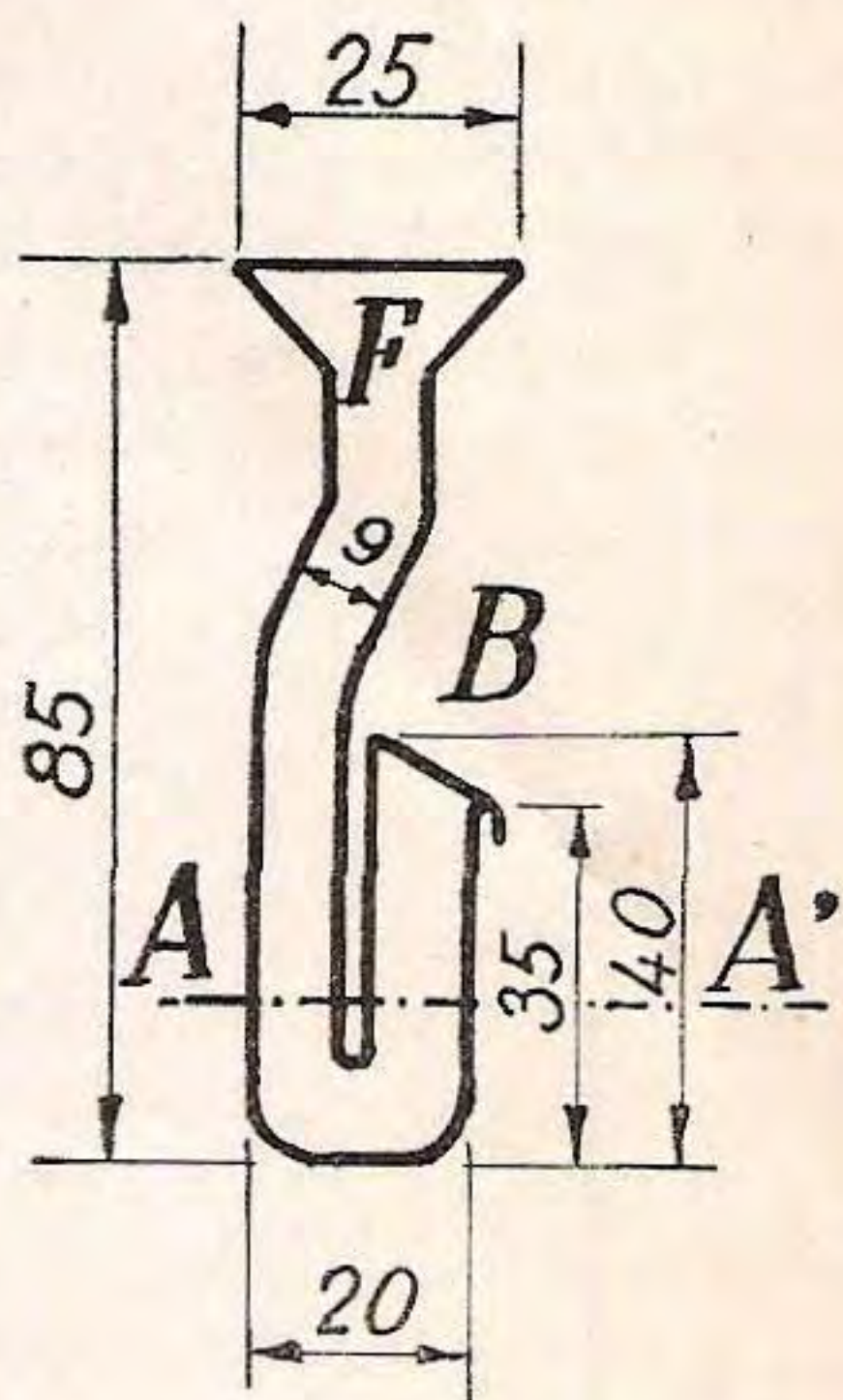


Fig. 1



turalmente, pode-se usar tambem qualquer outra forma de refrigerante, fixando-o com rolhas ou esmeris. Às vezes é recomendavel proteger a parte A contra o aquecimento por meio de uma placa de amianto, que se coloca entre A e T.

A segunda maneira que, às vezes, não se presta a extrações com eter de petroleo devido a grande faixa de ebulição deste liquido, mas que é especialmente adaptavel a recristalizações por meio de extração, é de construção mais simples, como se ve na *fig. 3*.

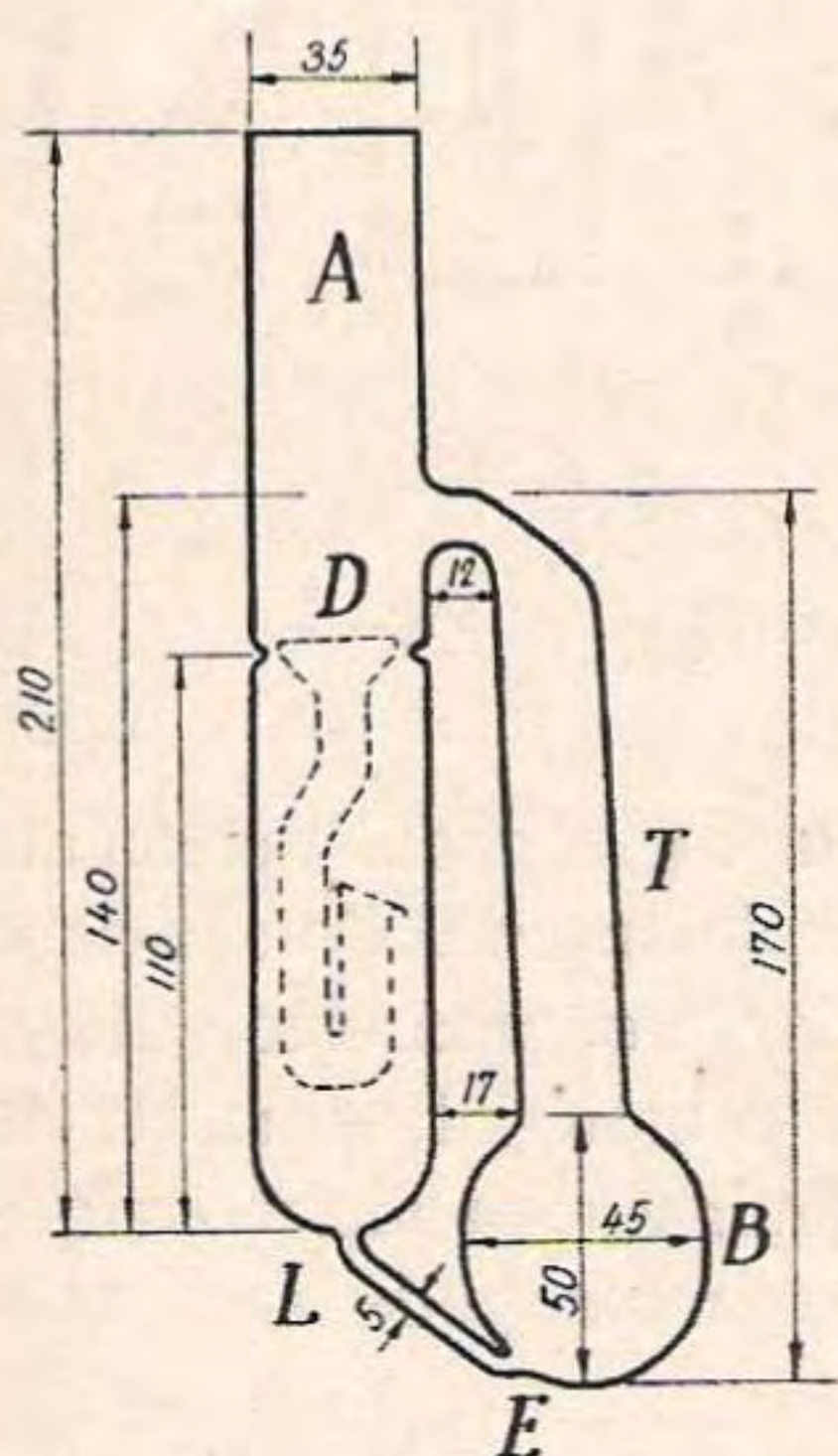


Fig. 2

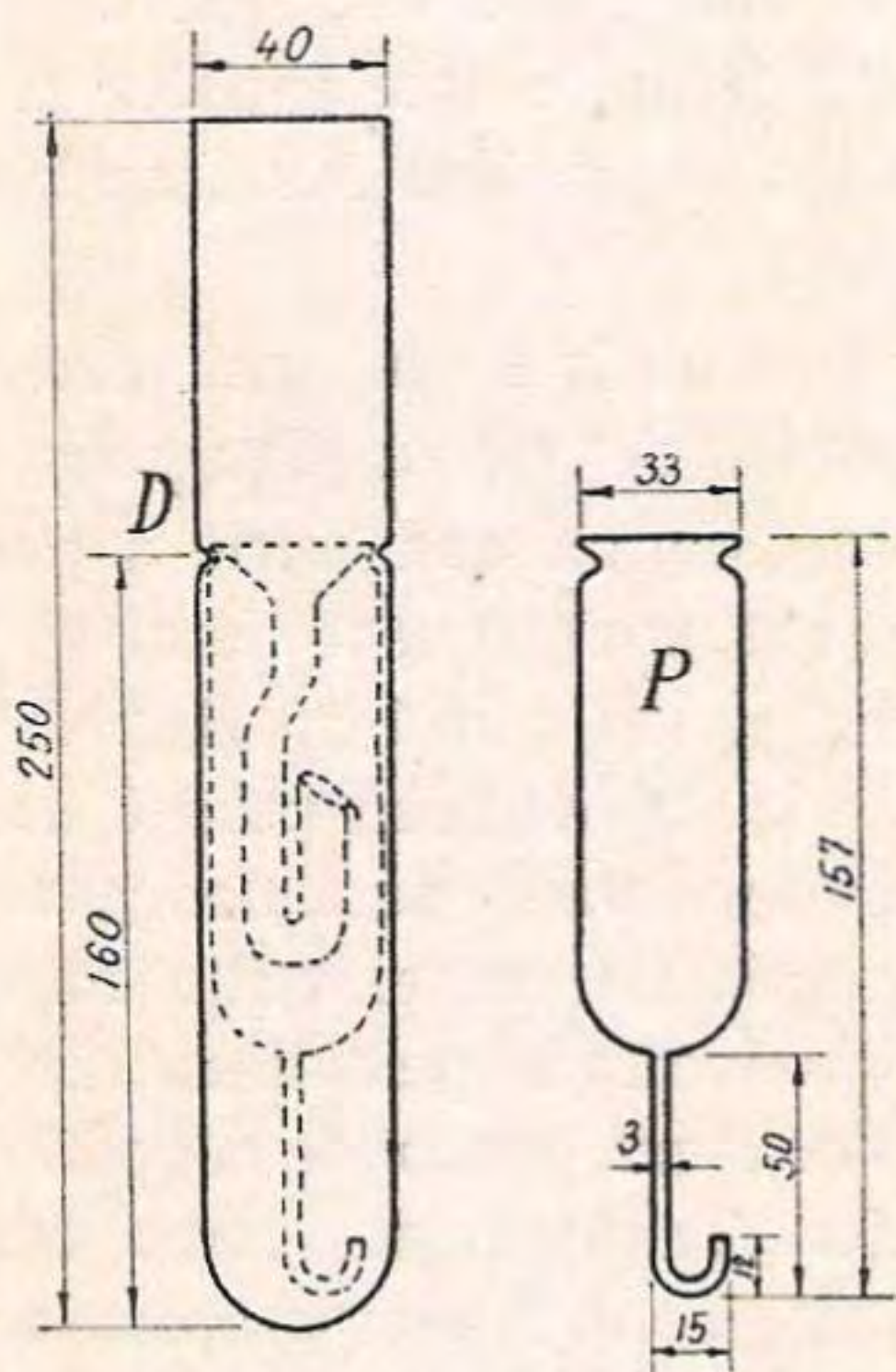


Fig. 3

Consiste em um tubo reto, em cujo fundo se coloca o líquido com uma pedra de ebulição. Na sua parte superior acham-se tres dentes *D*, que se destinam a segurar a peça protetora *P* que é um tubo largo e suficientemente comprido para abrigar um extrator, que termina num outro tubo mais fino, recurvado de modo a penetrar dentro do dissolvente. Assim se isola o extrator por uma camada de ar, evitando-se a ebulição.

**Modo de operar** — Antes de começar a extração, o extrator já carregado e seco a peso constante, é colocado dentro do aparelho de aquecimento e por meio de uma pipeta, enchido com dissolvente, para expulsar a maior parte do ar. Inicia-se, então, a extração que, em geral, se leva a efeito durante 20-30



minutos, com a velocidade de pelo menos uma gota por segundo. O extrator é, então, retirado, e decantada cuidadosamente a maior parte do líquido que nele permaneceu. Para completar a secagem é necessário remover o líquido antes de colocar o extrator na estufa, pois só assim se podem evitar as perdas de material que se dão quando o líquido remanescente, chegando à ebulição, sae repentinamente. Depois de varias experiencias, achamos mais facil a secagem por uma corrente de ar à temperatura do ambiente. Para esse fim utilizamo-nos de um capilar de vidro, introduzido pelo funil até meio centimetro acima da superfície da camada protetora, e que se liga a uma bomba de vácuo, fazendo-se passar uma corrente de ar. Essa mesma operação é repetida no outro ramo do extrator. Deve-se evitar um contato direto entre o capilar e a camada protetora, para que não se dê um efeito de filtragem, que poderia acarretar perdas de material. Assim se remove com grande rapidez o líquido remanescente. Então se pode terminar a secagem à temperatura indicada, na estufa ou no dessecador a vácuo. Pesa-se e repete-se a operação até conseguir-se peso constante.

Os dados seguintes se referem a alguns exemplos de dosagens de extratos, mencionando a quantidade de substancia e os tempo necessários:

Substancia	Quantidade mg.	Dissolvente	Extrato %	Tempo (horas)
Café . . . . .	105,6	Cloroformio . . . . .	14,7	3½
Amendoim . . . . .	130,2	Eter . . . . .	44,8	3½
Torta de algodão. . . . .	227,0	Eter . . . . .	7,8	4½
Castanha do Pará . . . . .	138,3	Eter de petroleo (50 - 70°) . . . . .	66,5	4½
Pimenta . . . . .	236,7	Alcool . . . . .	3,8	6
Chá preto . . . . .	144,7	Agua . . . . .	31,0	7

Como se vê, o uso do nosso aparelho, em comparação com os macro-métodos, traz uma grande economia de tempo, de quantidade de substancia e de líquido.

Alem disso, vemos uma vantagem especial no nosso extrator, no fato de as dosagens do extraivel poderem ser feitas indirétamente pela perda de peso do aparelho. Consegue-se, assim, um controle dos resultados obtidos pela evaporação a seco do extrato, o que é de especial valor, principalmente, quando se tratar de extratos, de substancias oxidaveis em contato com o ar ou sensiveis à humidade. Estamos empenhados num estudo



em escala mais larga, para obtenção de dados necessários afim de se compararem os resultados conseguidos com o nosso aparelho e os obtidos pelo emprego dos macro-métodos mais usados. Esperamos dentro em breve poder relatar os resultados deste estudo.

Outra vantagem é o baixo custo do aparelho. O nosso vidreiro Snr. Miguel Féher, ao qual agradecemos a valiosa colaboração, manufaturou-o com 2-3 tubos de ensaio *Pyrex*.

Agradecemos ao Snr. Tancredo Bizarro, preparador da cadeira de Química Orgânica e Biológica deste Departamento a inteligente e dedicada colaboração na parte experimental.

Ao Departamento Nacional de Café, na pessoa de seu digníssimo presidente Dr. Jayme F. Guedes, expressamos aqui os nossos agradecimentos pelo auxílio que possibilitou a construção do aparelho.

#### **Bibliografia:**

- (1) G. Gorbach, — *Mikrochemie*, **12** (N. F. 6), 189 (1933), *Chem. Zentr.* I. 971, (1933), *C. A.* **27**, 633 (1933).
  - E. Noyons, — *Chem. Weekbl.* **30**, 228 (1933), *Chem. Zentr.* I. 333, (1933), *C. A.* **27**, 4443 (1933).
  - R. Gagarin, — *Chem. Zentr.* **57**, 204 (1933) *Chem. Zentr.* I. 3105, (1933) *C. A.* **27**, 2603 (1933).
  - L. Titus e V. W. Meloche — *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **5**, 286 (1933).
  - E. B. Colegrave, *Analyst* **60**, 90 (1935), *Chem. Zentr.* I. 3571, (1935), *C. A.* **29** 2397 (1935).
  - J. Erdös & Pollak — *Mikrochemie* **19** (N. F. 13) 245 (1936), *Chem. Zentr.* II. 2582 (1936), *C. A.* **30**, 4887 (1936).
  - K. Schmalfuss — *Chem. Fabrik* **9**, 161 (1936).
  - B. L. Brownings, *Mikrochemie* **26**, 54 (1939), *Chem. Zentr.* II. 3151 (1939), *C. A.* **33**, 3210 (1939).
-