

QUÍMICA

ISSN 0870-1180

BOLETIM DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA



RMN: Como observar em tempo real metabolitos em células vivas

Será possível medir a Produção Científica?



MEDIDORES DE pH DE ALTA TECNOLOGIA FÁCEIS DE USAR E ECONÓMICOS

pH 300

Medidor de pH/mV/°C de bancada

pH 301

Medidor de pH/mV/iões/°C de bancada

pH 302

Medidor de pH/mV/°C de bancada
com impressora

De acordo com as GLP

From

HANNA
instruments
ISO 9000 CERTIFIED

... of course

Dos 700 funcionários do grupo Hanna,
130 estão ao seu serviço em Portugal.

**PARA MAIS INFORMAÇÕES CONTACTE O NOSSO REVENDEDOR HANNA OU
HANNAPRO EM VILA DO CONDE ATRAVÉS DO TEL. 052 637 184 / FAX 052 637 185**

BOLETIM DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA

QUIMICA
REVISTA DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICACapa: Fotomicrografia de
uma cultura de *Lactonoccus*
lactis (ver Prémio Gulbenkian
1998 neste número).RMN: Como observar em tempo
real metabolitos em células vivas
Será possível medir a Produção
Científica?**Propriedade de:**

Sociedade Portuguesa de Química

ISSN 0870-1180

Registo na DGCS n.º 101 240 de 28/9/72

Depósito Legal n.º 51 420/91

Publicação Trimestral

N.º 77 - Abril-Junho - 2000

Redacção e Administração

Avenida da República, 37 - 4.º 1050-187 LISBOA

Telefone: 21 793 46 37 - Telefax : 21 795 23 49

<http://www.spq.pt>**Directora**

Ana Maria Botelho do Rego

Directores-Adjuntos

Ana Margarida Martins, Ana Maria Freire,

Adelino Galvão, Nuno Simões

Direcção Gráfica e Paginação

Ana Cristina Pereira Coutinho

Secretária de Redacção

Cristina Campos

Comissão Editorial

Ana Maria Lobo (FCT-UNL)

Irene Montenegro (UM)

Maria Isabel Pinheiro Martins (UA)

Maria José Calhorda (FCUL)

Maria Luísa Sá e Melo (UC)

Mário Nuno Berberan e Santos (IST-UTL)

Colaboradores

António Amorim da Costa (UC)

João Paulo Leal (ITN)

João Luís Silva (IST-UTL)

Publicidade

DIRECÇÃO:

Nuno Simões

Execução Gráfica

FACSIMILE, Offset e Publicidade, Lda.

Rua Alexandre Sá Pinto, 177 - Tel. 21 364 99 95

1300-034 LISBOA

Tiragem: 2400 exemplares

Preço avulso: 2500\$00

Assinatura anual-quatro números:

15 000\$00 (Continente, Açores, Madeira e Macau)

Distribuição gratuita aos sócios da SPQ

As colaborações assinadas são da exclusiva responsabilidade dos seus autores, não vinculando de forma alguma a SPQ, nem a Direcção de «Química». São autorizadas e estimuladas todas as citações e transcrições, desde que seja indicada a fonte, sem prejuízo da necessária autorização por parte do(s) autor(es) quando se trate de colaborações assinadas.

A Orientação Editorial e as Normas de Colaboração são publicadas anualmente no número de Janeiro.

Publicação subsidiada pela
Fundação para a Ciência e Tecnologia

2 notícias spq

5 noticiário geral

6 congressos

artigo

8 Ressonância Magnética Nuclear:
uma técnica não-invasiva para
observar em tempo real
metabolitos em células vivas

ANA RAMOS, ANA RUTE NEVES, JONAS ALMEIDA,
e HELENA SANTOS

18 Novas Dimensões
em Electroquímica

M.F. BENTO, M.D. GERALDO, M.J. MEDEIROS,
e M.I. MONTENEGRO

ensino

28 Utilização Racional de Recursos
- Um projecto CTS na área
da Química

ANTÓNIO JOSÉ M. A. FERREIRA

31 Sobre o Ensino da Química
a Estudantes das outras Licenciaturas
no Instituto Superior Técnico

LUÍS FILIPE V. FERREIRA e ANA MARIA B. REGO

técnicas experimentais

35 Como utilizar a espectroscopia
de Mössbauer para desvendar
estruturas e segredos catalíticos
de enzimas que contêm ferro

ALICE S. PEREIRA e PEDRO TAVARES

opinião

44 Será Possível Medir a Produção
Científica?

WERNER KUTZELNIGG

50 publicações

52 novos produtos

Editorial

Após uma longa ausência - essencialmente motivada pela publicação de "... a Cor" - retomamos neste número a habitual rubrica dos Métodos Experimentais e esperamos que mantenha a sua continuidade. Na rubrica Artigos, temos apenas duas contribuições mas ambas de peso (em volume e em qualidade). Num deles, divulga-se um trabalho distinguido com o prémio Gulbenkian 1998 na área de (Bio)Química (no número anterior havíamos já publicado o outro). Parabéns aos autores. No segundo divulga-se o trabalho de um grupo português na área dos microelctrodos na electroquímica. Um assunto na ordem do dia, em particular no Ensino Superior onde o curriculum científico tem extrema(da) importância para a carreira dos docentes, é a avaliação quantitativa da produção

científica. No artigo de opinião aqui publicado (tradução de um outro publicado em língua alemã) discute-se a problemática dessa avaliação. Mais do que dar respostas, o artigo levanta questões que devem fazer pensar quer avaliadores quer avaliados...

Finalmente, chamamos a atenção para a rubrica de Publicações onde são divulgadas e analisadas criticamente duas obras interessantes no domínio da Química.

Esperamos que a leitura deste número do "Química" vos dê tanto prazer como nos deu a nós a sua preparação.

A Direcção

notícias spq

Olimpíadas de Química 2000

A direcção da SPQ decidiu relançar as Olimpíadas de Química, tão do agrado de alunos e professores. Tiveram uma boa afluência de escolas e os vencedores das semi-finais que decorreram em Aveiro, Porto e Lisboa, no dia 1 de Abril de 2000 foram os seguintes:

Semi-Final, Aveiro:

1º - Escola Secundária José Falcão, Coimbra: João Gouveia, Luís Matos, Sílvia Silva; Profs: Maria Nunes, Elisabete Pessoa

2º - Escola Secundária Marques de Castilho, Águeda: Hugo Lima, Nuno Rocha, Paulo Martins; Prof: Teresa Pinheiro/Elga Rodrigues

3º - Escola Secundária de José Estêvão, Aveiro: Emanuel Santos, Joana Tomás, José Ramos; Prof: Graciete Paiva

Semi-Final, Porto

1º - Escola Secundária com 3º Ciclo de Latino Coelho, Lamego: Carla Rafaela Magalhães, Celine Margarida Ambrósio, Helena Isabel Pereira; Profs. Alzira Teixeira, Maria Amélia Ramalho Pereira Nunes

2º - Escola Secundária de

Augusto Gomes, Matosinhos: Ana Filipa Ponte, Diogo Oliveira e Silva, Rita Henriques Pinto Barros; Prof. Maria de Fátima Sousa

3º - Escola Secundária da Maia

Filipe Rocha Maia, Rui Barbosa Martins, Ana Carolina Oliveira; Prof. José Carlos Lopes

Semi-Final, Lisboa

1º - Escola Secundária de Peniche: Márcia Ivone Neves João, Nuno Miguel Rocha, Sara Simões Lino; Prof. Maria Leonor Chagas Marques

2º - Escola Secundária com 3º Ciclo Dr. Manuel Fernandes, Abrantes

Daniel Jana, José João Castilho, Ricardo Matos; Prof. Eduardo Gomes

3º - Escola Secundária Leal da Câmara, Rio de Mouro

Ana Rocha, Rui Carvalho, Lillian Barbosa; Prof. Isabel Peres

A Final, que decorreu em Aveiro no dia 13 de Maio, teve como vencedores:

Alunos:

1 - Joana Tomás (E. S. José

Estêvão, Aveiro)

2 - João Gouveia (E. S. José Falcão, Coimbra)

3 - Helena Pereira (E. S. Latino Coelho, Lamego)

4 - Diogo Silva (E. S. Augusto Gomes, Matosinhos)

Escolas

1 - E. S. José Falcão, Coimbra

2 - E. S. José Estêvão, Aveiro

3 - E. S. Augusto Gomes, Matosinhos

Patrocinaram esta iniciativa: Petrogal, S.A. CIRES, Companhia Industrial de Resinas Sintéticas, SA

Hovione SA Principia, Publicações Universitárias e Científicas

Editorial Verbo, SA Porto Editora Texto Editora Instituto Português da Juventude

Agradece-se ainda a colaboração de:

Universidade de Aveiro: Reitoria e Departamento de Química; Centro de Química Inorgânica e Materiais.

Universidade do Porto: Departamento de Química, Fac. Ciências da U.P.; Reitoria da U. Porto

Reitoria da Universidade Técnica de Lisboa; Instituto Superior Técnico e Departamento de Engenharia Química do IST.

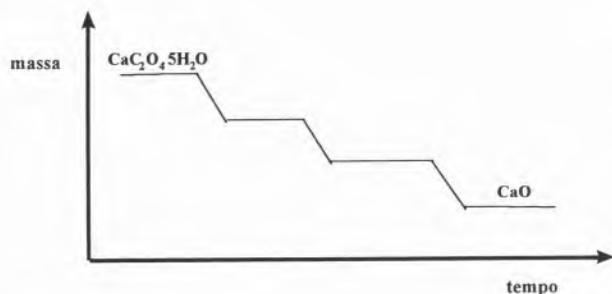
Mais informação (por exemplo, a resolução dos testes teóricos com as respostas dos próprios alunos) pode ser encontrada na página internet da SPQ (<http://www.spq.pt>)

Os enunciados das provas finais (teórica e prática) foram os seguintes:

Prova Teórica

13.4.2000 (Duração 1 h)

1) Uma amostra de 15,4 g de $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ foi aquecida numa balança termogravimétrica, um aparelho que regista as variações de massa que ocorrem durante o processo de aquecimento. Durante o aquecimento, a amostra sofreu decomposição acabando por formar-se CaO . Nesta experiência obteve-se a seguinte curva:



Determine:

- a) A massa de CaO.
- b) A massa de CaCO₃, produto intermediário do processo de decomposição térmica.

c) A massa das substâncias gasosas que se formaram no decurso da experiência.

2) O ião Cu²⁺(aq) oxida o estanho sólido a Sn²⁺(aq) reduzindo-se a Cu⁺(aq). O valor da constante de equilíbrio para esta reacção a 25 °C é $K = 6 \times 10^9$. Preparou-se 1,0 dm³ de solução de Cu²⁺, dissolvendo uma certa quantidade de sulfato de cobre, e nesta solução foi mergulhada uma placa de estanho. Quando a reacção atingiu o equilíbrio a concentração de Sn²⁺ era 1,0 mol dm⁻³. Qual foi a massa de sulfato de cobre utilizada para preparar a solução inicial?

3a) O trifluoreto de boro (BF₃) é uma molécula apolar enquanto a de amoníaco (NH₃) é polar. O que pode concluir quanto às respectivas geometrias moleculares?

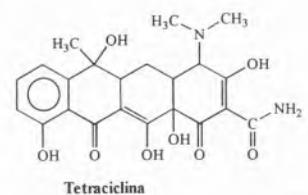
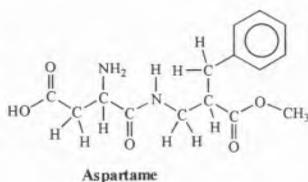
b) O comprimento da ligação oxigénio-oxigénio nas moléculas O₂, O₃ e H₂O₂ é de cerca de 121 pm, 128 pm e 148 pm, respectivamente. Interprete as diferenças no comprimento da ligação oxigénio-oxigénio a partir das fórmulas de estrutura baseadas na regra do octeto.

4) O progresso da química orgânica permitiu desenvolver um grande número de importantes substâncias, como sejam os antibióticos (por exemplo a tetraciclina), a "aspirina" (ácido acetilsalicílico) ou os adoçantes sintéticos (por exemplo o aspartame).

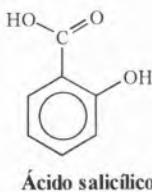
a) Identifique nas estruturas do aspartame e da tetraciclina todos os grupos (eventualmente presentes) do tipo:

- A. Amina B. Amida C. Ácido carboxílico D. Éster E. Álcool
- F. Éter G. Aldeído H. Cetona.

Nota: Assinale cada grupo com um círculo e identifique-o com a respectiva letra.



b) Identifique a reacção química que ocorre quando se transforma o ácido salicílico em ácido acetilsalicílico e complete a equação química indicando que outros reagentes teria de usar e que outros produtos de reacção se formariam.



c) Proponha um nome IUPAC para o ácido salicílico.

5) Indique três métodos para retirar a cor azul a uma solução de sulfato de cobre. Justifique devidamente a sua escolha.

Prova Laboratorial 13.4.2000 (Duração 2 h) Introdução

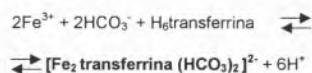
O ferro desempenha um papel essencial nos sistemas biológicos, especialmente no metabolismo celular. Pensa-se que a sua selecção, entre os elementos disponíveis na Natureza, terá sido feita durante a evolução biológica aeróbica não apenas devido à sua abundância mas, principalmente, devido à capacidade que apresenta de desempenhar uma série de funções biológicas vitais, como o transporte de oxigénio e a participação em reacções de transferência de electrões. O ferro não é capaz de desempenhar estas funções biológicas no estado elementar. De facto, em condições biológicas o ferro encontra-se frequentemente na forma de Fe(III). Este forma precipitados muito insolúveis; por exemplo, a 25 °C a constante de equilíbrio da reacção seguinte é 2×10^{-39} :



Em comparação, apesar do sólido Fe(OH)₂ ser também pouco solúvel, a 25 °C a constante de equilíbrio da reacção seguinte é $1,6 \times 10^{-14}$:



Durante a evolução biológica os organismos desenvolveram certas moléculas com grande capacidade de formarem compostos com o Fe(III). Uma destas moléculas, a proteína sorotransferrina, tem um papel vital no transporte do ferro nos fluidos do corpo, desde os locais de absorção e armazenamento até aos locais de assimilação celular do metal. Foram descobertas duas outras proteínas quase idênticas à sorotransferrina em fluidos biológicos bastante diferentes: a ovotransferrina, na clara do ovo, e a lactoferrina no leite. Estas proteínas não estão, contudo, envolvidas no transporte biológico do ferro funcionando, antes, como agentes microbianos e antibacterianos, sequestrando o Fe(III) necessário ao crescimento destes organismos. A reacção do Fe(III) com a ovotransferrina pode traduzir-se, de forma simplificada, pela **equação 1** (constante de equilíbrio cerca de 10²⁴):



A solução aquosa do composto de Fe(III) e ovotransferrina tem uma cor alaranjada.

Método Experimental

1) Preparação de uma solução contendo ovotransferrina.

Parta um ovo de galinha e separe cuidadosamente a clara da gema. Adicione directamente a clara separada a 30 cm³ de uma solução de soro fisiológico (solução aquosa de cloreto de sódio 0,15 mol dm⁻³). Agite.

2) Prepare 20 cm³ de uma solução aquosa de sulfato de ferro(II) (FeSO₄·7H₂O) 0,036 mol dm⁻³. Mantenha esta solução rolhada.

3) Preparação de uma solução contendo o composto de Fe(III) e ovotransferrina. Adicione, com agitação, cinco gotas da solução aquosa de sulfato de ferro(II) a 10 cm³ da solução preparada em 1). Agite durante cerca de 2 minutos. **Registe o que observa.**

4) Prepare um branco por adição de cinco gotas da solução de sulfato de ferro(II) a 10 cm³ de solução de soro fisiológico. Agite durante cerca de 2 minutos. **Registe o que observa.**

5) Acidifique 5 cm³ da solução obtida em 3) com uma solução aquosa de HCl 0,1 mol dm⁻³ até o pH ser cerca de 3. **Registe o que observa.**

6) Em dois tubos de ensaio, aqueça (banho de água) 5 cm³ das soluções obtidas em 1) e em 3). **Registe** as temperaturas a que começam a coagular a ovotransferrina e o composto de Fe(III) e ovotransferrina.

Responda às Seguintes Questões

a) Considere a equação 1. Como surge o ião HCO₃⁻ entre os reagentes (qual é a sua proveniência)?

b) Como interpreta o que observou em 5)? Justifique.

c) Qual foi o objectivo da experiência descrita em 6)? Que concluiu?

d) Para que serviu a preparação de um branco em 4)?

e) Por que razão se utilizou um composto de **Fe(II)** e não um composto de **Fe(III)** para preparar a solução aquosa contendo o composto de **Fe(III)** e ovotransferrina? Justifique.

Sugestão: note que em 3) se aconselha a agitar durante algum tempo (2 minutos).

XVII Simpósio Iberoamericano de Catálise

A SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA através da Delegação do Porto e da Divisão de Catálise, em colaboração com a FACULDADE DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO organiza o XVII SIMPÓSIO IBEROAMERICANO DE CATÁLISE, que terá lugar na cidade PORTO, nas instalações da CASA DIOCESANA DO SEMINÁRIO DE VILAR, de 16-21 DE JULHO, 2000.

O evento tem o apoio das seguintes entidades cujo envolvimento se reconhece: Reitoria da Universidade do Porto, Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Fundação Calouste Gulbenkian, IAPMEI, Embaixada de França, Sociedade Brasileira de Catálise, Associação Comercial do Porto, Câmara Municipal do Porto e Ordem dos Engenheiros - Colégio Nacional de Engenharia Química.

O patrocinador principal do evento é a PETROGAL, S.A., tendo também contribuído de forma generosa as empresas a seguir designadas: Degussa-Hüls (Brasil), Finibanco, Micromeritics, Nestlé Portugal S.A., OPP-Petroquímica S.A. (Brasil), OXITENO (Brasil), PACI Material Científico e Tecnológico S.A., Parabol - Equipamentos Industriais e de Laboratório S.A., PETROBRAS (Brasil), PQU - Petroquímica União S.A. (Brasil), Quimigal S.A.

Preside à COMISSÃO DE HONRA do Simpósio Sua Excelência o Presidente da República, Dr. Jorge Sampaio, participando na constituição da mesma, Sua Excelência o Ministro da Educação, Dr. Guilherme d'Oliveira Martins; Sua Excelência o Ministro da Ciência e da Tecnologia, Prof. Doutor José Mariano Gago; Sua Excelência o Ministro das Finanças e da Economia, Dr. Joaquim Pina Moura; S.E. o Secretário de Estado do Ensino Superior, Prof. Doutor José Reis; S.E. o Secretário de Estado da Indústria e Energia, Prof. Doutor Vitor Silva Santos; Presidente da Câmara Municipal do Porto, Eng^o Nuno Cardoso; Magnífico Reitor da Universidade do Porto, Prof. Doutor José Novais Barbosa; Administrador da Fundação Calouste Gulbenkian, Dr. Rui Vilar; Bastonário da Ordem dos Engenheiros, Eng^o Francisco Sousa Soares; Presidente do IAPMEI, Prof. Doutor Henrique Machado Jorge; Presidente da Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Prof. Doutor Luís Magalhães; Presidente da Associação Comercial do Porto, Eng^o Vergílio Fohlada Moreira; Presidente da Associação Empresarial de Portugal, Eng^o Ludgero Marques.

A COMISSÃO CIENTÍFICA é constituída por: Alberto Romão Dias (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), Alírio Rodrigues (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), António Pires de Matos (Instituto Tecnológico e Nuclear - ITN), Baltazar de Castro (Faculdade de Ciências, Universidade do Porto), Bárbara Gigante (Inst. Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial - INETI, Lisboa), Carlos Sá (Centro de Materiais da Universidade do Porto), Fernando Ramôa Ribeiro (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), Filipa Ribeiro, (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), Francisco Lemos (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), Isabel Santos Silva (Universidade Nova de Lisboa), João Pires da Silva (Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa), João Rocha, Joaquim Luís Faria (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), Joaquim Sampaio Cabral (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), José Dias Lopes da Silva (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), José Luís Figueiredo (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), José Ferreira Gomes (Faculdade de Ciências, Universidade do Porto), José Melo Orfão (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), José Miguel Loureiro (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), Júlio Maggiolli Novais (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), Luís Sousa Lobo (Universidade Nova de Lisboa), Manuela Brotas de Carvalho (Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa), Peter Carrott (Universidade de Évora).

A COMISSÃO ORGANIZADORA é constituída por José

Luís Figueiredo (Presidente, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), e inclui Joaquim Luís Faria (Presidente da Comissão executiva, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), João Rocha (Presidente da Comissão Científica, Universidade de Aveiro), Isabel Santos Silva (Universidade Nova de Lisboa), José Melo Orfão (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), José Miguel Loureiro (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), Francisco Lemos (Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa), Jaime Villate (Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto), Helder Gomes, (Laboratório de Catálise e Materiais, LCM - Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto).

O PROGRAMA CIENTIFICO inclui 5 Conferências Plenárias, 6 Conferências Oraís Convidadas, 150 Comunicações Oraís e 270 Comunicações em Painel.

CONFERÊNCIAS PLENÁRIAS

1. Challenges to Industrial Catalysis

Jens Rostrup-Nielsen
Haldor Topsøe A/S, Denmark.

2. Mechanisms of xylene isomerization over zeolites and mesoporous aluminosilicates

Michel Guisnet
Laboratoire de Catalyse en Chimie Organique, Université de Poitiers, France.

3. Carbon-supported Catalysts and Electrocatalysts: An Update and a Commentary

Ljubisa R. Radovic
Department of Energy and Environmental Engineering, The Pennsylvania State University, USA.

4. The potential of monoliths in multiphase catalytic processes

J.A. Moulijn
Industrial Catalysis, Delft University of Technology, The Netherlands.

5. Understanding and Utilising Novel Microporous and Mesoporous Catalysts

Michael W. Anderson
UMIST Centre for Microporous Materials, UK.

CONFERÊNCIAS ORAIS CONVIDADAS

1. Cinética y mecanismo de la

migración de metales y óxidos en la superficie de catalizadores heterogéneos: ¿Qué hay de nuevo?

Gustavo A. Fuentes
Universidad A. Metropolitana - Iztapalapa, México.

2. Hidrogenación Regioselectiva para la Obtención de Productos Químicos Finos

Carlos R. Apesteguía
Instituto de Investigaciones en Catálisis y Petroquímica (INCAPE), Argentina.

3. Uso de Perovskitas en la reformación de CH₄ con CO₂.

Mireya R. Goldwasser
Universidad Central de Venezuela, Venezuela.

4. Fotoquímica en el Interior de Zeolitas. Hacia el Control Supramolecular de Reacciones Fotoquímicas

Mercedes Alvaro
Instituto de Tecnología Química, Universidad Politécnica de Valencia, Espanha.

5. O papel da matriz nas reações de transferência de hidrogênio sobre catalisadores zeolíticos de craqueamento

Eduardo Falabella Sousa-Aguiar
CENPES / PETROBRAS, Brasil.

6. A Evolução da Catálise na Óptica da Refinação

José Soares Mota
PETROGAL, Portugal

As sessões de apresentação de trabalhos repartem-se por 12 ÁREAS TEMÁTICAS a saber, Catalisadores Metálicos e Hidrogenação, Catalisadores Óxidos e Oxidação, Processos de Hidrotreatamento, Catálise Ácido-Base, Zeólitos e Argilas, Catálise em Química Fina, Catálise Ambiental, Catálise Computacional, Catálise Homogénea, Biocatálise, Desactivação e Regeneração, Engenharia das Reações Catalíticas.

O PROGRAMA SOCIAL do Simpósio inclui os seguintes eventos:

Domingo, 16 de Julho às 19:30 - Recepção de Boas-Vindas na Casa Diocesana do Seminário de Vilar (local do Simpósio).

Quarta-feira, 19 de Julho às 11:30 - Excursão com barbecue-party a Ponte de Lima.

Quinta-feira, 20 de Julho às 20:00 - Jantar do Simpósio no Palácio da Bolsa.

ECTN – um fórum criado para os químicos das Universidades europeias

Actualmente a maioria das pessoas envolvidas na educação universitária sabem o que é o ECTS, mas o mesmo não se passa com a ECTN. A origem dos acrónimos é diferente: ECTS é o Sistema Europeu de Transferência de Créditos (European Credit Transfer System) enquanto que ECTN é a Rede Temática Europeia de Química (European Chemistry Thematic Network). Ambos os projectos estão intimamente ligados. A Química foi uma das áreas pioneiras no sistema ECTS e quando o programa SOCRATES foi introduzido, a Comissão Europeia decidiu promover o estabelecimento de Redes Temáticas como fóruns onde os educadores poderiam discutir os seus problemas e procurar maneiras possíveis de os resolver e disseminar as melhores práticas num contexto Europeu. Deste modo, os membros do “círculo interno” original* (o qual incluía já a Universidade de

Aveiro) decidiram formar uma rede de químicos com a finalidade de atrair universidades representantes de todos os países da União Europeia, bem com as sociedades nacionais de química de cada país. Até ao momento só a Sociedade Real de Química (Reino Unido) e a Sociedade Checa de Química aderiram ao projecto.

Hoje, a ECTN atingiu uma dimensão considerável envolvendo cerca de 90 membros de 24 países diferentes e durante os seus três anos de existência produziu uma grande quantidade de trabalho útil. Alguns grupos de trabalho foram estabelecidos visando diversas áreas tais como: Conhecimentos Básicos de Química (Core Chemistry), Segurança em Química, Capacidades Práticas (Practical Skills), Imagem da Química, Química e o Ambiente, entre outros. Estes grupos têm elaborado relatórios que podem ser consultados na

internet (www.cpe.fr/ectn). Entretanto, estabeleceram-se já contactos com a FECS (Federação Europeia das Sociedades de Química) e o Conselho de Química da Comunidade Europeia (ECCC).

O grupo de trabalho que se debruçou sobre o tema “Conhecimentos Básicos de Química” fez um levantamento em toda a Europa sobre o que os países membros consideravam como os fundamentos comuns para a educação universitária. O resultado tangível deste trabalho foi um relatório publicado num livro. Com base nesse levantamento, a ECTN projectou uma série de testes para serem realizados em computador com a finalidade de permitir aos estudantes determinarem, eles próprios, se dominam estes conhecimentos básicos. Realizaram-se também testes que permitem aos estudantes verificar os seus conhecimentos pré-universitários.

Estes testes estão disponíveis em 12 línguas diferentes, incluindo o português. A fase inicial deste projecto está quase concluída e um CDrom está a ser distribuído e testado através da Europa.

Os membros da ECTN (que são universidades e não departamentos de química) estão cientes que a função deste organismo não é almejar a uniformização da educação de nível superior na Europa mas que ele actua como um fórum para a discussão de ideias que possam encontrar uma aceitação alargada dentro da comunidade dos químicos. Esperam ter o apoio de organizações importantes dos respectivos países bem como das sociedades de química nacionais, e expandir os seus participantes conforme a Europa se alargar. Estão certos de que, mesmo que não recebam assistência financeira de Bruxelas poderão continuar para benefício dos próprios assuntos.

* Os membros do “círculo interno” original eram: Alemanha – Uni. Heidelberg, TU Berlin, Uni Jena; Áustria – TU Wien; Bélgica – Université de Liège; Dinamarca – Aarhus Uni.; Espanha – Uni. Complutense Madrid, Uni. del País Vasco, Uni. de Santiago de Compostela; França – INP Toulouse, ENSC Montpellier, Uni. de Paris XI, CPE Lyon, Uni. Paul Sabatier Toulouse III; Finlândia – Uni. Oulu; Grécia – Uni. Patras, Uni. Ioannina; Holanda – Rijkuniversiteit Utrecht, Uni. van Amsterdam; Irlanda – Trinity College Dublin, Dublin City Uni.; Itália – Uni. de Calábria, Rende, Uni. di Pavia, Uni. di Padova; Noruega – Uni. Bergen; Portugal – Uni. Aveiro; Reino Unido – Uni. of Kent at Canterbury, Uni. of Greenwich, Uni. of Strathclyde, Uni. of Northumbria at Newcastle; Suécia – Uni. Lund; Suíça – ETH Zurich.

Texto escrito pelo Prof. Anthony Smith do CPE de Lyon, França e um dos coordenadores da ECTN e traduzido para português por Fernando Magalhães.

“Chemistry Education: Research and Practice in Europe”

CERAPIE é uma publicação electrónica, grátis, acessível através da morada http://www.uoi.gr/conf_sem/cerapie que contém comunicações apresentadas na 5th European Confe-

rence in Chemical Education (5th ECRICE) que se realizou em Setembro de 1999 na Universidade de Ioannina, na Grécia. O primeiro volume foi publicado em Janeiro de 2000 e

prevê-se a publicação de um segundo a publicação de um segundo volume em Março/Abril de 2000 que incluirá ainda documentação relativa à 5th ECRICE.

Aceitam-se contribuições para publicação em próximos números. Editor: Georgios Tsaparlis, Universidade de Ioannina, Grécia.

Oficina de Formação: Métodos Espectroscópicos e suas Aplicações

Decorreu na Escola Secundária de Leal da Câmara em Rio de Mouro uma acção de formação subordinada ao tema “Métodos Espectroscópicos e suas Aplicações” que envolveu um grupo

de professores do 4^o Grupo A e teve a colaboração de um professor Universitário que deu apoio pedagógico/científico. A escolha do tema resultou do facto de fazer parte dos progra-

mas leccionados e de haver na Escola material adequado à realização de trabalhos experimentais. A Oficina teve componentes teórica e prática e revelou-se muito enriquecedora para os in-

tervenientes pela possibilidade que ofereceu de troca de “ideias, saberes e experiências”.

As coordenadoras deste projecto foram Marília Peres e Rosália Vicente.

Congressos, Conferências e Reuniões Científicas

FECS

7th Conference on Chemistry @ the Environment "Trace Metal Speciation in Aquatic Environment"

Agosto, 27-30, 2000
Porto, Portugal
Prof. M. T. Vasconcelos
Departamento de Química,
Faculdade de Ciências
Universidade do Porto
Rua do Campo Alegre, 687
4169-007 Porto
Tel.: +351-22-6082897
Fax: +351-22-6082959
E-mail: fecc-conf@fc.up.pt
Website:
www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/8007/feccs2000.htm

Chemical Reactions in Foods IV
Setembro, 20-22, 2000
Praga, República Checa
Prof. Dr. Jirí Davidek
Department of Food Chemistry
and Analysis
Institute of Chemical Technology
Technická 1905
166 28 Prague 6
Czech Republic

SPQ

XVII Simpósio Ibero-Americano de Catálise

Julho, 16-21, 2000
Prof. José Luis Figueiredo
Departamento de Engenharia
Química
Faculdade de Engenharia da
Universidade do Porto
R. dos Bragas
4050-123 Porto
Tel.: +351-22-2040662
Fax: +351-22-2000808
E-mail: sic17@fe.up.pt

XXV European Congress on Molecular Spectroscopy
Agosto, 27- Setembro, 1, 2000
Coimbra, Portugal

EUCMOS XXV Secretariat
Departamento de Química,
Universidade de Coimbra
P-3049 Coimbra
Tel.: +351-239-852080; +351-931-9236971
Fax: +351-239-827703
E-mail: rfausto@gemini.ci.uc.pt
Website:
<http://qui.uc.pt/~rfausto/eucmos-xxv>

EUROANALYSIS XI

Setembro, 3-9, 2000
Lisboa, Portugal
Dra. Cristina Oliveira
Departamento de Química e
Bioquímica
Faculdade de Ciências de Lisboa
Edifício C1-Piso
P-1700 Lisboa
Tel.: +351-21-3906138
Fax: +351-21-3909352; 7500088
E-mail: euroanalysisxi@fc.ul.pt
Website:
<http://elixir.cc.fc.ul.pt/euroanalysisxi>

XIV Encontro Luso-Galego de Química
Novembro, 22-24, 2000

Lisboa, Portugal
Secretariado do XIV Encontro Luso
Galego de Química
Departamento de Química,
Universidade do Minho
Largo do Paço
4700-320 Braga, Portugal
Tel: +351-253-604386/70
Fax: +351-253-678983
Website:
<http://www.quimica.uminho.pt>

Geral

20th ICS - International Carbohydrate Symposium

Agosto, 27- Setembro, 1, 2000
Hamburg, Alemanha
ICS 2000 Symposium Secretariat
Institut für Organische Chemie
Universität Hamburg
Martin-Luther-King-Platz 6
D-20146 Hamburg, Germany
Tel./Fax: +49-40-4123-4325
E-mail: ics2000@chemie.uni-hamburg.de
Website: www.ics2000.uni-hamburg.de

European Conference on Nutritional Enhancement of Plant Foods

Setembro, 6-9, 2000
Norwich, Inglaterra
Conference Secretariat
C/o Institute of Food Research
Norwich Research Park,
Colney, Norwich
NR4 7UA, UK

Congresso da Sociedade Francesa de Química, SFC 2000

Setembro, 18-22, 2000
Université de Rennes I
Congrès Scientifiques Services
- SFC 2000
Chantal Iannarelli
2, rue des Villarmains -BP 124
92210 Saint-Cloud
France
E-mail: c2s@club-internet.fr
Website: <http://www.sfc.fr>

EPS2000: European Conference on Macromolecular Physics

Development upon Polymer Processing
Setembro, 24-28, 2000
Guimarães, Portugal
Secretariado da EPS2000
Dep. Engenharia de Polímeros
Universidade do Minho
Campus de AZURÉM
4800-058 Guimarães
Tel: +351-253-510245
Fax: +351-253-510249/514400
E-mail: HYPERLINK
Mailto: euroresidue@rivm.nl
Eps2000@u300.eng.uminho.pt
Website:
<http://www.dep.uminho.pt/eps2000>

5th International Conference on Magnetic Resonance in Food Science
Setembro, 18-20, 2000

Dra. A. Gil
Fundação João Jacinto Magalhães,
Edif. 1
Campus Universitário de Santiago
3810-193 Aveiro, Portugal
Tel.: +351 234 380 901
Fax: +351 234 370 084
E-mail: mrfood2000@dq.ua.pt
Website:
<http://www.dq.ua.pt/icmrafs>

KONIK - TECH[®]

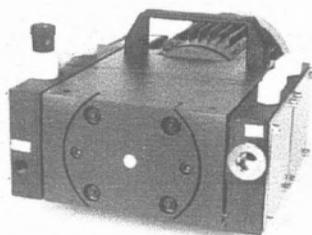
Kromatografia + Espektroscopia

**CROMATOGRAFIA: HRGC / HPLC
ESPECTROSCOPIA/ESPECTROMETRIA
ENGENHARIA
EQUIPAMENTOS DE LABORATÓRIO
PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS
CIÊNCIA DE MATERIAIS/VÁCUO**

**Konik-Tech, S.A.
Rua Prof. Veiga Ferreira, 6B
1600 Lisboa
Telef. 21757 35 47
Fax. 21757 34 85
E-mail: lisboa@konik-group.com**

**Vendas: sales@konik-group.com
Marketing: marketing@konik-group.com
Serviço Técnico: SAT@konik-group.com
www.konik-group.com**

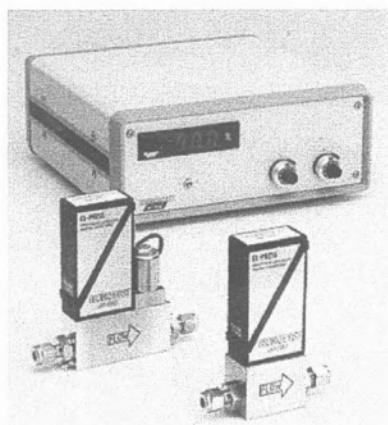
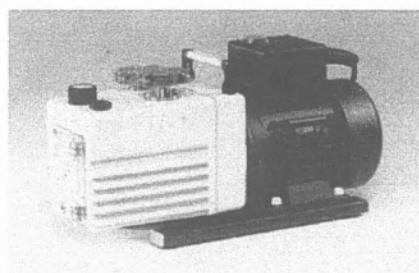
EQUIPAMENTO DE VÁCUO



Bombas de membrana
Bombas rotativas a óleo
Bombas difusoras
Bombas Turbomoleculares
Bombas Roots
Bombas químicas secas
Bombas iónicas

Válvulas, vedantes, flanges, óleos e "greases" .

Sistemas de deposição térmica e de Sputtering
Detectores de fugas
Manipuladores de amostras



Medidores/controladores de vácuo:
- Piezoeléctricos, Piranis, Pennings,
Capacitivos (Baratron) e Ion gauges.
Medidores/controladores de Fluxo e Massa.

LIOFILIZADORES

OUTROS EQUIPAMENTOS

Balanças Analíticas. Banhos de Ultrasons. Banhos Termostáticos. Recirculadores. Geradores de Gases. Manoredutores. Fluxímetros. Manoredutores e Reguladores de Pressão. Compressores Silenciosos. Compressores Secos. Válvulas, Tubos e Conexões para Fluidos.

Ressonância Magnética Nuclear: uma técnica não-invasiva para observar em tempo real metabolitos em células vivas†

ANA RAMOS¹, ANA RUTE NEVES¹, JONAS ALMEIDA^{1,2}, HELENA SANTOS*¹

ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR – UMA FERRAMENTA NÃO-AGRESSIVA PARA ESTUDAR FISIOLOGIA CELULAR

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR) baseia-se na resposta a um campo magnético externo de núcleos que possuem momento magnético intrínseco (¹H, ¹³C, ¹⁵N, ¹⁹F, ³¹P, ²³Na, etc). Esta metodologia foi reconhecida, desde o início da década de 50, como uma técnica poderosa para a elucidação da estrutura de moléculas em solução, tendo encontrado grande utilidade nas áreas da Química e da Bioquímica. As primeiras aplicações de NMR ao estudo de sistemas vivos estavam seriamente limitadas pela baixa resolução conseguida com a instrumentação então disponível, mas o desenvolvimento de magnetos supercondutores, no final da década de 60, revolucionou a utilização de NMR, abrindo perspectivas para a sua aplicação generalizada [1]. Em 1973, Moon e Richards demonstraram a utilidade da técnica para determinação de pH intracelular em eritrócitos intactos, tirando partido da dependência com o pH da frequência de ressonância de ³¹P do fosfato inorgânico intracelular [2]. Sensivelmente na mesma altura, foi provado que a detecção dos núcleos de ¹³C podia ser utilizada para monitorizar os produtos finais do metabolismo [3]. Um dos aspectos mais atractivos da aplicação da espectroscopia de NMR para estudar fisiologia celular deriva das suas características não-invasivas e não-destrutivas, evidenciadas pelo elevado número de aplicações clínicas desta técnica, nomeadamente pela possibilidade de obter imagens anatómicas de órgãos humanos em condições não-invasivas.

Embora as aplicações médicas liderem, pelo menos a nível financeiro, os campos de utilização de NMR *in vivo*, a aplicação a sistemas microbianos forneceu contribuições valiosas para a compreensão de processos metabólicos, possibilitando pela primeira vez a determinação de parâmetros fi-

siológicos importantes em células intactas e metabolicamente activas. Permite obter informação sobre a concentração e distribuição de metabolitos e detectar variações nas concentrações intracelulares de metabolitos sem interferir com os processos biológicos, assim como monitorizar simultaneamente o consumo de substratos e a formação de produtos finais. A variedade de nuclídeos acessíveis a detecção por esta técnica permite a investigação de diversas facetas complementares nos processos biológicos. A detecção de ³¹P, único isótopo natural do fósforo, permite avaliar os níveis de energização (níveis de ATP, ADP, fosfocreatina) nos sistemas em estudo, determinar o valor de pH intracelular, gradientes protónicos transmembranares e ainda, em casos particulares, determinar velocidades de reacções enzimáticas *in vivo*. A detecção de ²³Na ou ³⁹K possibilita a determinação de gradientes catiónicos, assim como a medição do transporte destes iões através das membranas celulares. A NMR de ¹³C (ou ¹⁵N) permite determinar o percurso de átomos individuais de carbono (ou de azoto), fornecidos em substratos especificamente enriquecidos nestes isótopos, ao longo de diferentes vias metabólicas; de facto, dadas as propriedades analíticas únicas desta técnica, é possível obter informação sobre a distribuição da marcação nos vários átomos da mesma molécula.

No final da década de 70, o trabalho de Shulman e colaboradores, demonstrou a utilidade da técnica de NMR de carbono para estudar fisiologia celular em condições não-invasivas, nomeadamente para elucidar a cinética de formação de intermediários da via glicolítica em suspensões celulares de *Escherichia coli* [4]. Estes autores determinaram a taxa de consumo de glucose enriquecida com carbono 13 na posição 1, observaram a produção de lactato marcado na posição 3 como produto final maioritário e a acumulação do intermediário glicolítico 1,6-bisfosfo-frutose. Surpreendentemente, este metabolito encontrava-se marcado não apenas na posição 1, mas também na posição 6,

resultado interpretado pela ocorrência de redistribuição de marca devida à reversibilidade dos passos reaccionais catalizados pela isomerase dos fosfatos de triose e pela aldolase (Figura 1). O enriquecimento no carbono 6 é tanto maior quanto maior o refluxo de carbono a nível da aldolase, e portanto estes dados permitiram retirar informação sobre fluxos metabólicos *in vivo*. Depois destes estudos pioneiros, a utilização de substratos enriquecidos com ¹³C revelou-se uma técnica muito útil para a determinação de fluxos metabólicos e de metabolitos intracelulares em sistemas tão diferentes como bactérias lácticas, bactérias envolvidas no tratamento de águas residuais, leveduras e células animais [5, 6, 7, 8, 9].

A principal limitação da espectroscopia de NMR deriva da sua baixa sensibilidade intrínseca, o que impõe a utilização de suspensões celulares densas, com o objectivo de aumentar o espaço intracelular na zona de detecção do espectrómetro. Por outro lado, a baixa sensibilidade também pode ser olhada como vantagem, visto que em sistemas tão complexos como as células vivas, a detecção de um número muito elevado de compostos inviabilizaria a análise dos espectros devido à extensa sobreposição de sinais. Moléculas de grande peso molecular, tais como proteínas ou ácidos nucleicos, também não são detectáveis devido ao alargamento dos sinais provocado pela baixa mobilidade destes compostos. Em suma, são susceptíveis de ser detectados metabolitos livres de baixa massa molecular, desde que presentes em concentração intracelular na gama dos mM.

Em muitos casos, as limitações são largamente ultrapassadas pela vantagem única proporcionada por esta técnica de permitir monitorizar vários parâmetros bioquímicos sem perturbar a estrutura e organização celulares [10]. Para melhor ilustrar as potencialidades da técnica, este artigo foca a aplicação de NMR para estudar o metabolismo de glucose em bactérias lácticas. O objectivo a longo prazo destes estudos é obter informa-

Fig. 1

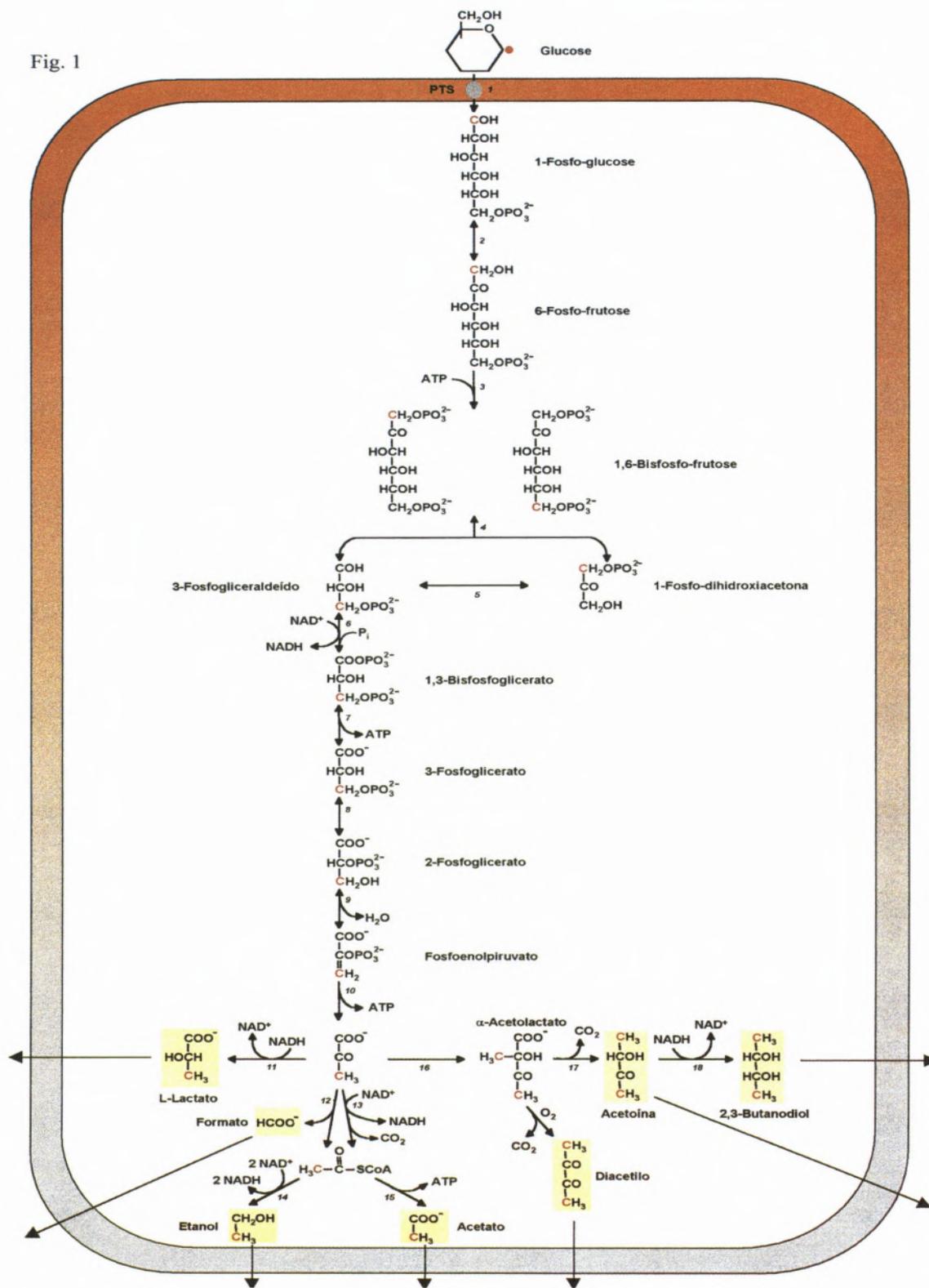


Fig. 1 - Metabolismo de glucose e de piruvato em *Lactococcus lactis*. As reações representadas são catalizadas pelas seguintes enzimas: 1. sistema fosfoenolpiruvato: fosfotransferase (PEP:PTS); 2. isomerase da 6-fosfo-glucose; 3. cinase da 6-fosfo-frutose; 4. aldolase da 1,6-bisfosfo-frutose; 5. isomerase dos fosfatos de trioses; 6. desidrogenase do 3-fosfogliceraldeído; 7. cinase do 3-fosfoglicerato; 8. mutase do fosfoglicerato; 9. enolase; 10. cinase do piruvato; 11. desidrogenase do lactato; 12. liase do piruvato-formato; 13. desidrogenase do piruvato; 14. desidrogenase do acetaldeído e desidrogenase do etanol; 15. cinase do acetato; 16. sintetase do α-acetilactato; 17. descarboxilase do α-acetilactato; 18. desidrogenase do 2,3-butanodiol.

ção bioquímica de confiança que permita servir de directiva para as intervenções genéticas tendentes a desviar o fluxo metabólico nestes organismos para a produção de compostos com interesse na indústria dos lacticínios, nomeadamente de diacetilo. Este é o objectivo de uma área de grande actualidade, geralmente designada por Engenharia Metabólica.

BACTÉRIAS LÁCTICAS: APLICAÇÕES INDUSTRIAIS E ESTRATÉGIAS DE ENGENHARIA METABÓLICA

As bactérias lácticas desempenham um papel fundamental na produção de alimentos e bebidas fermentados. Em todos os processos que envolvem fermentações com estes organismos, a qualidade dos produtos finais depende da existência de estirpes adequadas, denominadas culturas de arranque, que conferem aos alimentos as características desejadas, nomeadamente, de aroma e textura. No entanto, é comum verificar comportamento irregular no desempenho das culturas de arranque lácticas, além de instabilidade de propriedades importantes do ponto de vista industrial [11]. A solução para estes problemas exige uma abordagem multidisciplinar e integrada da fisiologia, bioquímica e genética das bactérias lácticas. *Lactococcus lactis* (Figura 2) tem um papel muito importante em todas as fermentações lácteas (produção de queijo, iogurte e manteiga), uma vez que o lactato (o produto final predominante do metabolismo de glucose ou lactose) provoca uma descida acentuada de pH, impedindo o crescimento de microrganismos indesejáveis que poderiam tornar o alimento impróprio para consumo. *Lactococcus lactis* metaboliza a glucose pela via apresentada na Figura 1. A glucose é fosforilada concomitantemente com o processo de transporte para dentro da célula; uma vez na forma de 6-fosfo-glucose, este composto é convertido em 1,6-bisfosfo-frutose pela acção sequencial de duas enzimas, a isomerase da 6-fosfo-glucose e a cinase da



Fig. 2. Fotomicrografia de uma cultura de *Lactococcus lactis*.

6-fosfo-frutose. No passo seguinte a 1,6-bisfosfo-frutose é clivada, originando dois metabolitos com três átomos de carbono, o fosfato de dihidroxiacetona e o 3-fosfogliceraldeído, sendo este último convertido em 1,3-bisfosfoglicerato numa reacção redox em que o aceitador de electrões é a coenzima NAD^+ . O intermediário 1,3-bisfosfoglicerato é finalmente transformado em piruvato pela acção sucessiva de várias enzimas. Para que esta via metabólica, designada glicólise, funcione tem que haver regeneração do NAD^+ consumido no passo redox. Esta regeneração dá-se preferencialmente através da redução de piruvato a lactato, catalisada pela desidrogenase do lactato, em que o dador de electrões é a forma reduzida de NAD^+ , isto é, NADH . Portanto, em condições anaeróbias, *L. lactis* transforma hidratos de carbono em lactato, através de um processo metabólico designado homofermentativo. No entanto, o perfil de produtos finais pode ser influenciado por diversos parâmetros ambientais, nomeadamente, pressão parcial de oxigénio na atmosfera, pH do meio e acessibilidade de nutrientes. Estes parâmetros determinam o destino do produto final da glicólise, piruvato, que pode ser convertido em vários compostos nomeadamente, formato, acetato, etanol, acetoina, diacetilo e 2,3-butanodiol. Por exemplo, quando a concentração de

hidratos de carbono é limitada, observa-se um desvio metabólico no sentido da produção de acetato, formato e etanol; a enzima-chave deste tipo de fermentação é a liase do piruvato-formato que converte o piruvato em formato e acetyl-Coenzima A. O grupo acetilo é subsequentemente reduzido, formando-se etanol, em duas reacções que envolvem regeneração de NAD^+ , podendo assim contribuir para a manutenção do balanço redox celular.

Em condições de aerobiose e pH ácido, o piruvato pode ser processado por uma via alternativa originando acetoína, diacetilo e 2,3-butanodiol como produtos finais. O diacetilo contribui de forma positiva para as características organolépticas dos produtos lácteos; este composto deriva do piruvato através de duas reacções [12]; a primeira, catalizada pela enzima sintetase do α -acetolactato, consiste na condensação de duas moléculas de piruvato, originando α -acetolactato; a segunda consiste na descarboxilação química deste composto na presença de oxigénio, da qual resulta a formação de diacetilo (Figura 1).

Em condições aeróbias, a oxidação de NADH (e conseqüente regeneração de NAD^+) pode fazer-se por transferência de electrões para o oxigénio, numa reacção catalizada pela enzima oxidase do NADH . Esta possibilidade tem conseqüências no per-

fil de produtos finais, conduzindo a uma diminuição nas proporções de lactato e etanol, cuja produção está directamente acoplada à regeneração de NAD⁺, e a um aumento nas proporções de acetoína e acetato.

O metabolismo relativamente simples de *L. lactis* e a existência de numerosas ferramentas genéticas para a sua manipulação torna-o, à partida, um sistema adequado para a implementação de estratégias de engenharia metabólica visando a construção de estirpes com desempenho industrial eficaz. Com o objectivo de direccionar o metabolismo de hidratos de carbono para a produção de diacetilo, foi construída uma estirpe de *L. lactis* em que o gene que codifica para a desidrogenase do lactato foi inactivado e em que, simultaneamente, se estimulou a expressão do gene que codifica a sintetase do α -acetolactato [13]. Esta estratégia baseava-se na previsão de que a diminuição da actividade da enzima responsável pela formação de lactato e o estímulo simultâneo da actividade que cataliza o primeiro passo na conversão de piruvato em diacetilo, conduziria a um desvio do fluxo de carbono para produzir diacetilo em vez de lactato; no entanto, na prática não se verificou um aumento apreciável da produção de diacetilo. Numa outra estirpe em que a actividade da desidrogenase do lactato foi suprimida por manipulação genética, verificou-se um desvio para a produção de 1-fosfo-manitol e manitol, em resposta à elevada pressão para regenerar NAD⁺ criada pela deficiência na enzima cuja actividade é a principal responsável por essa regeneração. Também neste caso o fluxo de carbono para a produção de diacetilo foi diminuído [14]. Estes insucessos mostram bem que o direccionamento do metabolismo para a síntese de produtos desejados, e/ou diminuição da produção de compostos prejudiciais, só será possível através de um conhecimento detalhado das redes metabólicas e dos processos regulatórios envolvidos [15]. Devido à complexidade destas redes e à forte interdependência existente entre os vários pas-

sos metabólicos, é irrealista pensar que a optimização de estirpes microbianas possa ser alcançada apenas por uma abordagem eurística. De facto, existe um número crescente de dados indicando que a única estratégia eficiente para conseguir o melhoramento de estirpes passa pelo desenvolvimento de modelos matemáticos que permitam uma análise integrada dos dados experimentais relativos a fluxos metabólicos e a concentrações intracelulares de metabolitos [16]. Uma vez que a fiabilidade dos modelos metabólicos depende crucialmente da quantidade e qualidade dos dados experimentais em que se baseiam, torna-se essencial desenvolver metodologias que permitam a determinação precisa de parâmetros intracelulares *in vivo*, e em particular, que forneçam informação sobre as concentrações intracelulares de intermediários metabólicos relevantes.

SISTEMA PARA DETECÇÃO DIRECTA DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS POR NMR

Para tirar cabalmente partido das características de não-invasividade da técnica de NMR torna-se imperioso desenvolver estratégias que permitam manter as suspensões ce-

lulares em condições fisiológicas, assim como assegurar um fornecimento adequado de substratos e de gases. Para atingir este objectivo têm sido desenvolvidos e optimizados diversos sistemas de circulação [17, 18] e biorreactores que se adaptam às sondas de NMR [19]; sistemas estes que têm sido utilizados especialmente em experiências acopladas à detecção de ³¹P para a determinação de metabolitos fosforilados. Todavia, a utilidade desta abordagem para a determinação da concentração de metabolitos fosforilados *in vivo* é altamente limitada pela sobreposição de ressonâncias, sobretudo na região dos fosfomonoésteres, onde se detecta a maioria dos intermediários da glicólise. Como o núcleo de ¹³C tem uma gama mais alargada de desvios químicos, esta é a técnica ideal para a determinação directa de metabolitos, desde que o custo do substrato marcado não seja proibitivo.

Esta metodologia foi utilizada para obter informação sobre parâmetros intracelulares *in vivo*, durante o metabolismo de glucose por suspensões celulares de *L. lactis* em condições controladas de pH, temperatura e atmosfera gasosa. Para tal, utilizámos o sistema de circulação representado esquematicamente na Figura 3 e que consiste num mini-fermentador

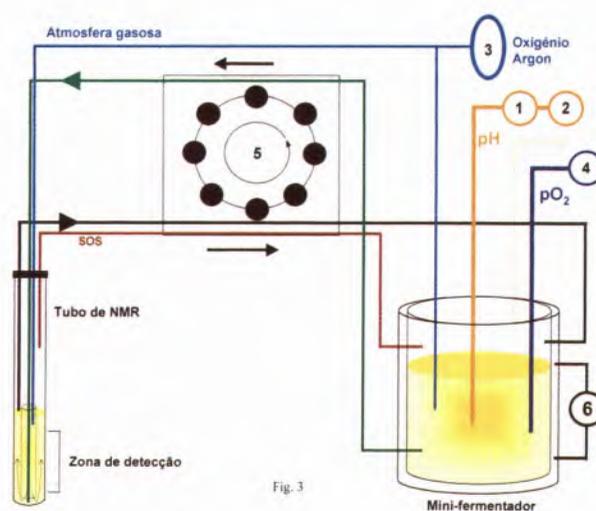


Fig. 3

Fig. 3 - Diagrama do dispositivo experimental usado nas experiências de NMR *in vivo*. 1, eléctrodo de pH; 2, controlador de pH; 3, linhas para fornecimento de gases; 4, eléctrodo de oxigénio; 5, bomba peristáltica; 6, banho de água; SOS, linha de segurança.

com capacidade de 50 ml, acoplado ao espectrómetro de NMR por um sistema de tubagem por onde é bombeada a suspensão celular [20]. O valor do pH é continuamente controlado e o nível de oxigénio monitorizado. Estes são dois parâmetros com grande impacto no metabolismo de *L. lactis*.

ESTUDO DO METABOLISMO DE GLUCOSE EM *L. LACTIS* POR NMR DE CARBONO 13 *IN VIVO*

Na Figura 4 mostra-se uma sequência de espectros adquiridos durante o metabolismo de $[1-^{13}\text{C}]$ glucose em condições anaeróbias. A resolução temporal é de 30 segundos nas condições experimentais utilizadas. Imediatamente após a adição de glucose foi detectada a ressonância do lactato marcado no grupo metilo ($\delta = 20.4$ ppm), cuja intensidade aumentou ao longo do tempo até ao esgotamento da glucose. O metabolismo de glucose originou, além de lactato, pequenas quantidades de acetato e 2,3-butanodiol. As ressonâncias de menor intensidade detectadas a 65.0 e 66.4 ppm foram identificadas como devidas a 1,6-bisfosfofrutose (FBP), um metabolito intermediário da via glicolítica (Figura 1); a ressonância a 66.4 ppm é devida à FBP enriquecida com carbono 13 na posição 1 (derivada directamente da glucose marcada no carbono 1), enquanto o pico a 65.0 ppm é devido ao isotópomo do mesmo composto em que a marcação se encontra no carbono 6. A partir do momento em que a glucose se esgotou, foram detectadas as ressonâncias dos átomos de carbono na posição 3 do 3-fosfoglicerato (3-PGA) a 67.4 ppm e do fosfoenolpiruvato (PEP) a 101.2 ppm.

A cinética de consumo de glucose e a formação de produtos finais e de metabolitos intracelulares obtida a partir da sequência de espectros da Figura 4 está representada na Figura 5. A concentração intracelular de FBP atingiu um máximo de 40 mM e começou a diminuir no momento do esgotamento da glucose,

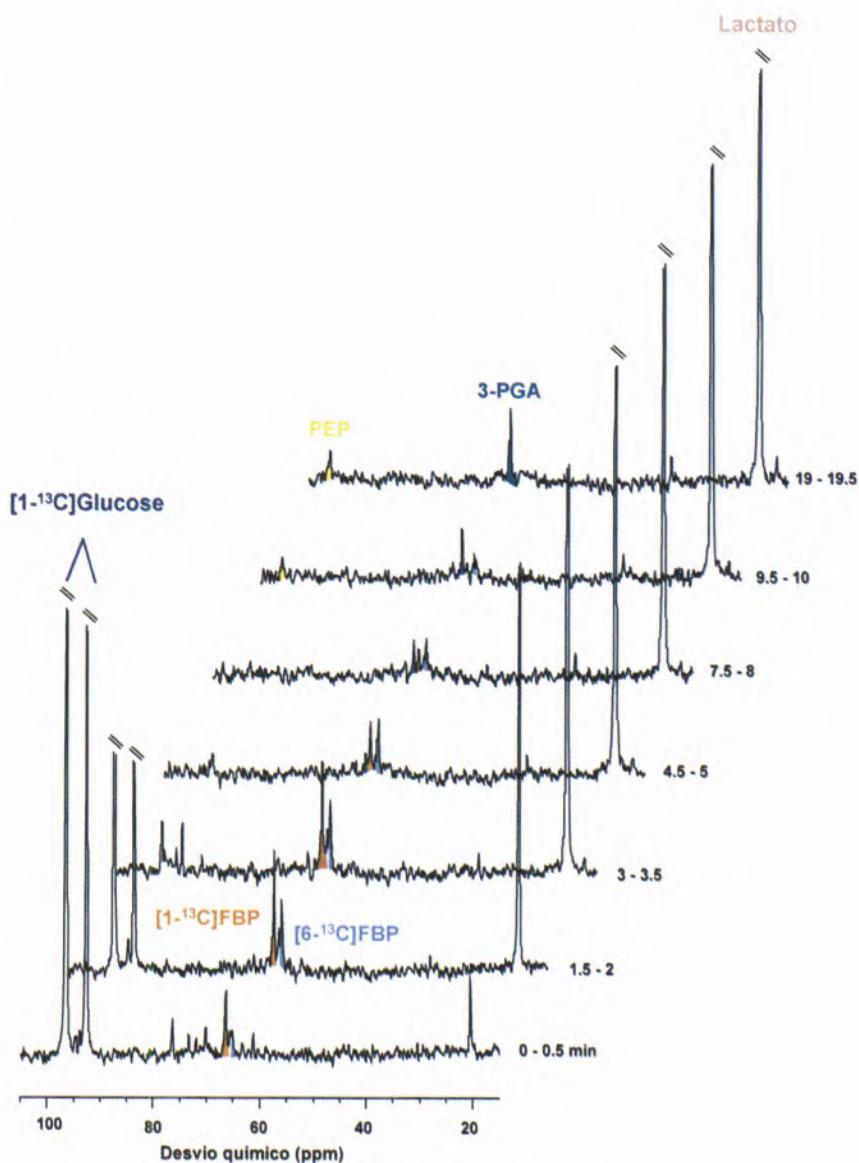


Fig. 4 - Metabolismo de $[1-^{13}\text{C}]$ glucose (20 mM) por uma suspensão celular de *L. lactis* MG5267 em anaerobiose, estudado *in vivo* por NMR de carbono 13. Cada espectro representa 30 segundos de acumulação. A glucose foi adicionada ao tempo zero e os espectros foram adquiridos durante os intervalos de tempo indicados. (*) aspartato; (●) 2,3-butanodiol.

se, ainda que a uma velocidade consideravelmente inferior à observada para o consumo deste hidrato de carbono. Na literatura encontram-se descritos valores muito discrepantes no que diz respeito aos níveis de intermediários glicolíticos em *L. lactis*, possivelmente porque estes dados foram obtidos *in vitro*, em extractos celulares. A acumulação de 3-PGA

na ausência de nutriente foi interpretada como sendo devida à inactivação da cinase do piruvato, causada pela acumulação de fosfato inorgânico (ver evolução mais adiante), assim como pela ausência de activadores da mesma enzima, nomeadamente a 6-fosfo-glucose e a FBP [21, 22].

Sob atmosfera de oxigénio o

metabolismo de glucose originou também lactato como produto final maioritário e quantidades vestigiais de acetato e 2,3-butanodiol. Não foram detectadas diferenças significativas nas concentrações máximas dos metabolitos intracelulares; no

entanto, a velocidade à qual a FBP foi consumida após o desaparecimento da glucose aumentou de forma significativa quando comparada com o perfil observado em anaerobiose (comparar dados nas Figuras 5 e 6).

MONITORIZAÇÃO DO pH INTRACELULAR E DO NÍVEL DE ENERGIZAÇÃO POR ^{31}P -NMR *IN VIVO*

A detecção de ^{31}P por NMR permitiu obter informação complemen-

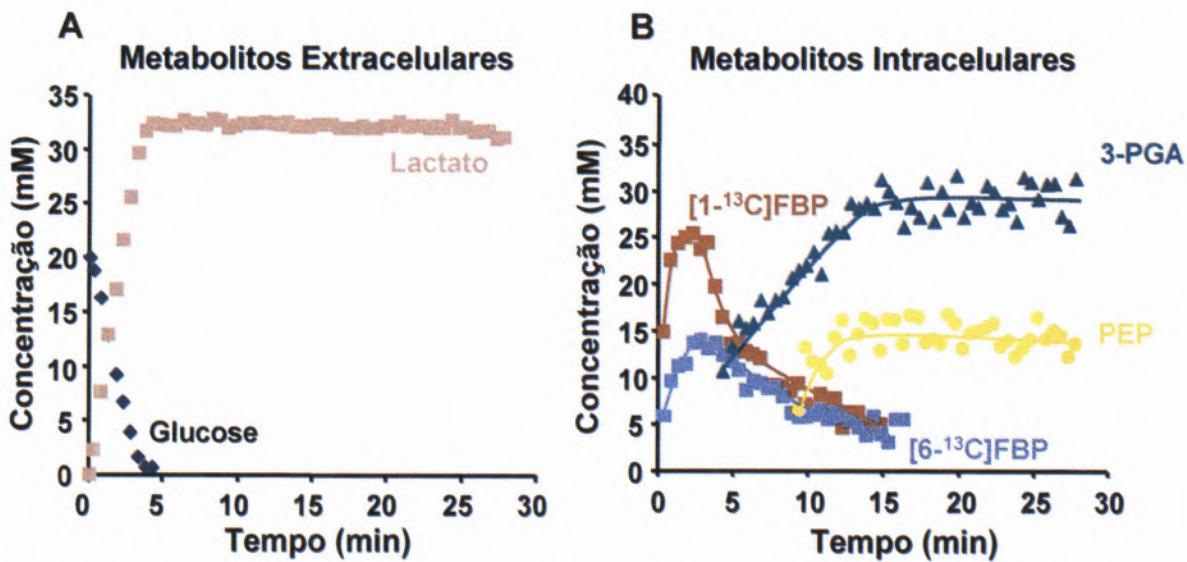


Fig. 5 - Cinética do consumo de $[1-^{13}\text{C}]$ glucose e formação de produtos (A); cinética dos metabolitos intracelulares (B), em anaerobiose. As concentrações dos intermediários metabólicos foram obtidas a partir das experiências de NMR *in vivo*. Símbolos: (◆), glucose; (■), lactato; (■), $[1-^{13}\text{C}]$ FBP; (■), $[6-^{13}\text{C}]$ FBP; (▲), 3-PGA; (●), PEP.

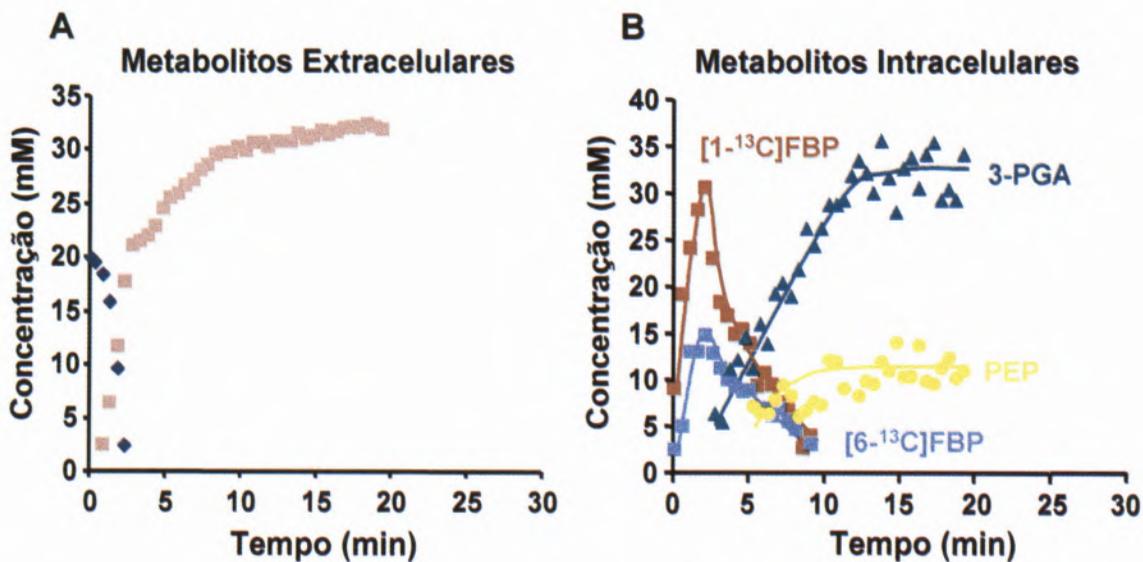


Fig. 6 - Cinética do consumo de $[1-^{13}\text{C}]$ glucose e formação de produtos (A); cinética dos metabolitos intracelulares (B), em aerobiose. Símbolos: (◆), glucose; (■), lactato; (■), $[1-^{13}\text{C}]$ FBP; (■), $[6-^{13}\text{C}]$ FBP; (▲), 3-PGA; (●), PEP.

tar à conseguida por NMR de ^{13}C , nomeadamente monitorização do valor de pH intracelular, nível de energização celular (conteúdo em ATP) e concentração de fosfato inorgânico ao longo do metabolismo da glucose. No espectro adquirido imediatamente antes da adição de glucose, observa-se uma ressonância larga a 2.6 ppm, na região dos fosfomonoésteres, que corresponde principalmente ao 3-PGA (Figura 7); o fosfato inorgânico dá origem a uma ressonância intensa aproximadamente a 1 ppm. Após a

adição de glucose a ressonância do fosfato inorgânico diminuiu em intensidade de forma drástica, e desviou-se para a esquerda, denunciando o consumo de fosfato e um aumento do valor de pH interno. Detectou-se uma ressonância de grande intensidade na região dos fosfomonoésteres, cujo componente principal se confirmou ser FBP. A concentração de NTP (componente maioritário é ATP) aumentou de níveis não-detectáveis para um máximo de 8 mM, mantendo-se constante por um período de

tempo prolongado após o desaparecimento completo de glucose. O desvio químico da ressonância do fosfato inorgânico depende do pH, o que permitiu a determinação do pH interno, utilizando uma curva de calibração adequada. Nas condições experimentais usadas (pH extracelular controlado a 6.5) o pH intracelular determinado na ausência de glucose foi 6.3, tendo aumentado para 7.1 imediatamente após a adição do nutriente, valor este que se manteve constante durante um período de tempo considerável mesmo após o esgotamento da glucose (Figura 8).

MODELIZAÇÃO MATEMÁTICA DA GLICÓLISE

A modelização matemática da glicólise efectuada teve como objectivo a interpretação dos resultados experimentais obtidos de forma a desenvolver uma descrição mecanística unificadora. Os dados de partida foram a evolução temporal das concentrações de glucose, FBP, 3-PGA, PEP e lactato obtidas por NMR *in vivo*. A formulação da cinética glicolítica foi simplificada de forma a incluir apenas os metabolitos observados *in vivo*, não tendo sido considerados quaisquer processos de activação/inibição enzimática. O modelo obtido, cuja simulação para condições de ausência de oxigénio está representada na Figura 9 (linhas a cheio), sugere que é a limitação de NAD^+ que justifica a acumulação de FBP. De forma a confirmar a validade do modelo, este foi usado para antever o efeito da presença de oxigénio, duplicando a actividade da oxidase do NADH no modelo obtido em anaerobiose. A simulação obtida nestas condições (linhas a tracejado) sugere que o oxigénio não deverá ter um efeito acentuado no perfil de NADH desde que a concentração de glucose não seja limitante. Esta previsão é, de facto, confirmada pelos resultados experimentais (ver Figura 6); como previsto, a taxa de consumo de glucose não é significativamente afectada pelo arejamento mas o consumo de FBP é significati-

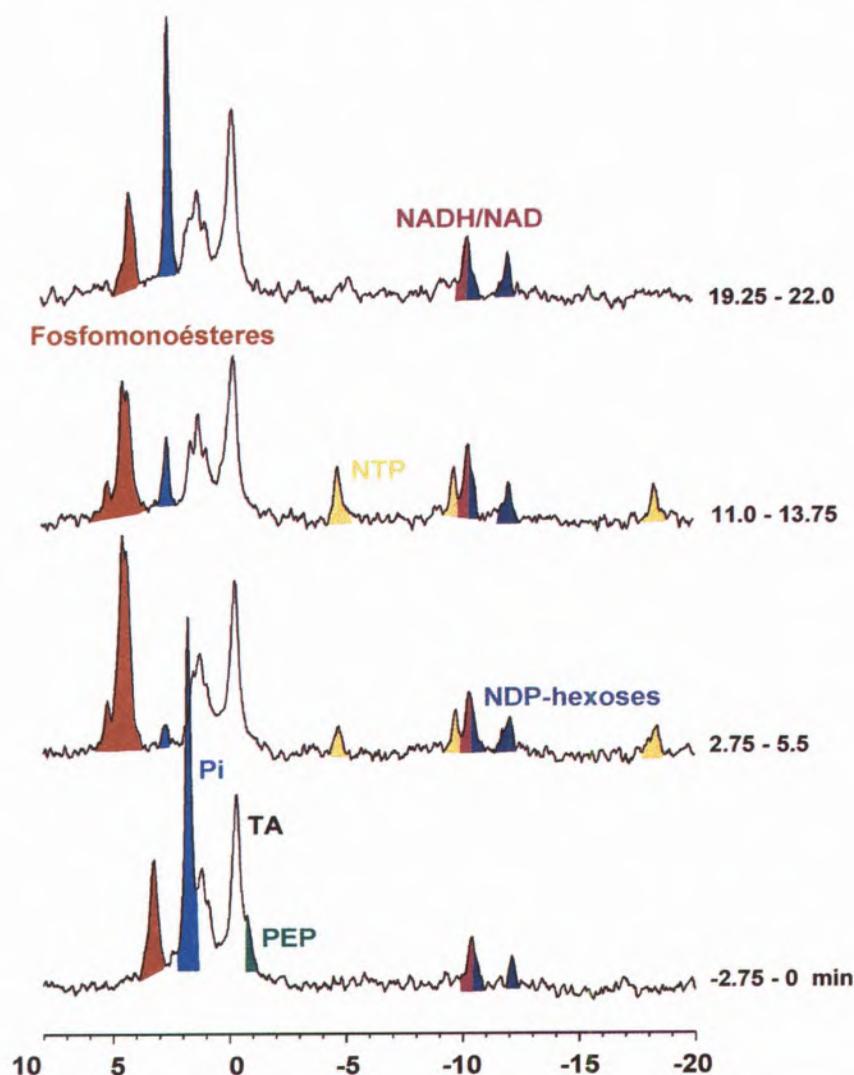


Fig. 7 - Sequência de espectros de NMR de ^{31}P obtidos durante o metabolismo de glucose (50 mM) em condições de anaerobiose e pH controlado a 6.5. Abreviaturas: NTP, trifosfatos de nucleósidos; PME, fosfomonoésteres; TA, ácido teicóico; $\text{P}_{i\text{cit}}$, fosfato inorgânico citoplasmático; PEP, fosfoenolpiruvato. Cada espectro representa 2.75 min de aquisição. A glucose foi fornecida ao tempo zero; os espectros seleccionados para esta figura foram adquiridos aos intervalos de tempo indicados e processados com uma exponencial de 20 Hz.

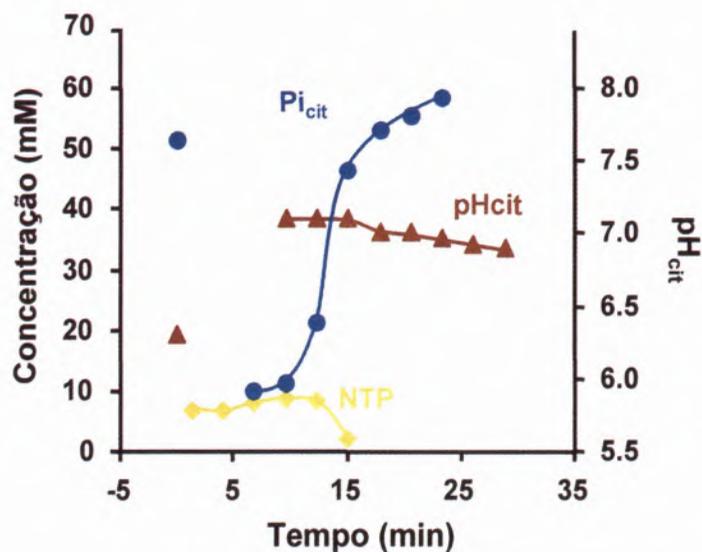


Fig. 8 – Evolução do pH intracelular, carga energética e concentração de fosfato inorgânico intracelular durante o metabolismo de glucose. Os valores de concentração de trifosfatos de nucleósidos (NTP) e de fosfato inorgânico intracelular (Pi_{cit}) foram obtidos a partir dos dados da experiência representada na Fig. 7. O pH intracelular foi determinado a partir da variação do desvio químico da ressonância do fosfato inorgânico intracelular, utilizando uma curva de calibração adequada.

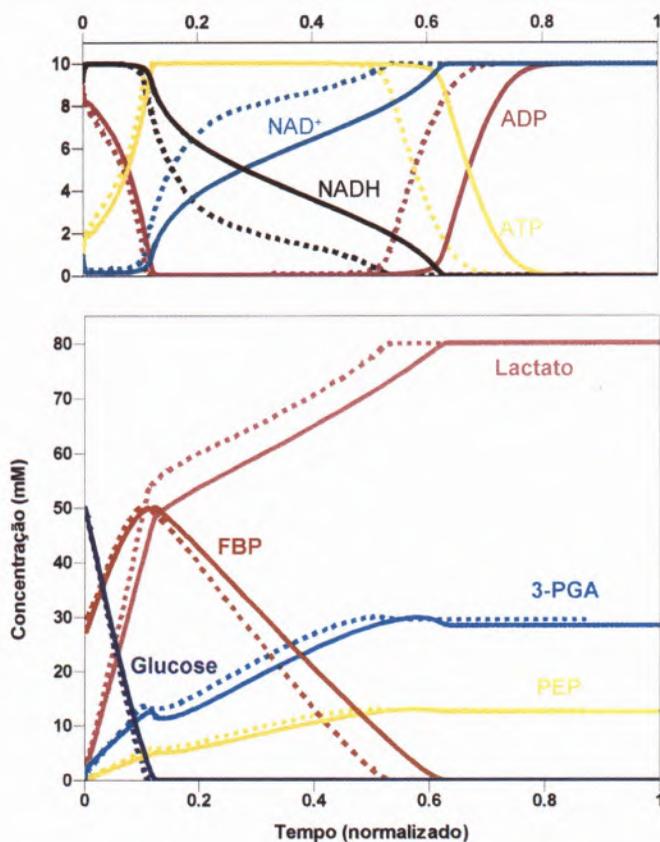


Fig. 9 – Modelo metabólico da glicólise em *Lactococcus lactis*. O modelo foi construído utilizando os dados obtidos nas experiências de NMR *in vivo* e otimizado para condições de anaerobiose (linhas a cheio). A simulação do efeito do oxigênio, obtido pela duplicação da actividade da oxidase do NADH está também representada (linhas a tracejado).

vamente mais rápido. A aceleração da taxa de consumo de FBP é justificada pelo modelo como sendo consequência dos níveis mais elevados de NAD^+ previstos pelo modelo e causados pela limitação por glucose. No que respeita aos níveis de ATP, a simulação do modelo sugere que estes atinjam os valores mais elevados logo após o consumo total da glucose, o que é de facto confirmado pelos resultados obtidos por NMR de fósforo 31. A previsão correcta dos níveis de ATP sugere que o modelo desenvolvido reproduz correctamente a cinética glicolítica em *L. lactis*. Assim, podemos concluir que o direccionamento do metabolismo de glucose para a produção de compostos com interesse industrial requer uma estratégia que acelere a oxidação de NADH, por exemplo por aumento da actividade da enzima oxidase do NADH.

NOTA FINAL

A utilidade da técnica de NMR para a monitorização directa de vários parâmetros bioquímicos em suspensões celulares ficou patente nos resultados apresentados relativos ao metabolismo da glucose em *Lactococcus lactis*. O modelo metabólico desenvolvido com os dados de NMR sugere que as coenzimas $NAD^+/NADH$ têm um papel central na regulação metabólica deste organismo. Esta hipótese será testada com o desenvolvimento em curso de um procedimento que permite marcar com carbono 13 estas coenzimas de modo a viabilizar a sua quantificação *in vivo* por NMR de carbono 13.

A complexidade inerente às redes metabólicas representa um obstáculo sério à sua racionalização mecanística. Desta forma, o desenvolvimento de modelos preditivos estará dependente da capacidade de identificar interdependências directamente a partir dos dados experimentais. A abordagem futura para alcançar este objectivo passa pelo recurso a técnicas de aprendizagem artificial, nomeadamente redes neuronais.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi parcialmente financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, Projectos PRAXIS/PCNA/P/BIO/39/96 e PRAXIS/P/BIA/11072/98.

- ¹ Instituto de Tecnologia Química e Biológica/Universidade Nova de Lisboa e Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Rua da Quinta Grande, 6, Apartado 127, 2780-156 Oeiras, Portugal
- ² Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Quinta da Torre, 2825 Monte de Caparica, Portugal.
- * Este trabalho foi um dos dois distinguidos com o Prémio Gulbenkian 1998 na área da Química. Outro, da autoria do Prof. Fernando Pina, FCTUNL, foi já publicado no "Química" nº 76

† Endereço electrónico: santos@itqb.unl.pt

REFERÊNCIAS

1. Gadian, D. G. Nuclear magnetic resonance and its applications to living systems. Clarendon Press, Oxford, 1982.
2. Moon, R. B., Richards, J. H. Determination of intracellular pH by ³¹P magnetic resonance. *J. Biol. Chem.* **248** (1973) 7276.
3. Séquin, U., Scott A. I. Carbon 13 as a label in biosynthetic studies. *Science* **186** (1974) 101.
4. Ugurbil, K., Brown, T. R., den Hollander, J. A., Glynn, P., Schulman, R. G. High-resolution ¹³C nuclear magnetic resonance studies of glucose metabolism in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75** (1978) 3742.
5. Marx, A., de Graaf, A. A., Wiechert, W., Eggeling, L., Sahm, H. Determination of the fluxes in the central metabolism of *Corynebacterium glutamicum* by nuclear magnetic resonance spectroscopy combined with metabolite balancing. *Biotechnol. Bioeng.* **49** (1996) 111.
6. Ramos, A., Santos, H. Citrate and sugar cofermentation in *Leuconostoc oenos*, a ¹³C nuclear magnetic resonance study. *Appl. Environ. Microbiol.* **62** (1996) 2577.
7. Sauer, U., Hatzimanikatis, V., Bailey, J. E., Hochuli, M., Szyperski, T., Wutrich, K. Metabolic fluxes in riboflavin-producing *Bacillus subtilis*. *Nature Biotechnol.* **15** (1997) 448.
8. Veiga-da-Cunha, M., Firme, P., San Romão, M.V., Santos, H. Application of ¹³C nuclear magnetic resonance to elucidate the unexpected biosynthesis of erythritol by *Leuconostoc oenos*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58** (1992) 2271.
9. Pereira, H., Lemos, P. C., Reis, M. A. M., Crespo, J. P. S. G., Carrondo, M. J. T., Santos, H. Model for carbon metabolism in biological phosphorous removal processes based on *in vivo* ¹³C-labelling NMR experiments. *Water Res.* **9** (1996) 2128.
10. Santos, H., Fareleira, P., Ramos, A., Pereira H., Miranda, M. Nuclear magnetic resonance: a noninvasive technique in the study of life processes *in situ*. *Rev. Port. Quím.* **2** (1995) 3.
11. de Vos, W. M. Metabolic engineering of sugar catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* **70** (1996) 223.
12. Ramos, A., Jordan, K. N., Cogan, T. M., Santos, H. Carbon 13 Nuclear Magnetic Resonance studies of citrate and glucose cometabolism by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **60** (1994) 1739.
13. Platteeuw, C., Hugenholtz, J., Starrenburg, M., van Alen-Boerrigter, I., de Vos, W. M. Metabolic engineering of *Lactococcus lactis*: influence of the overproduction of α -acetolactate synthase in strains deficient in lactate dehydrogenase as a function of culture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **61** (1995) 3967.
14. Neves, A. R., Ramos, A., Shearman C., Gasson, M. J., Santos, H. Metabolic characterization of *Lactococcus lactis* deficient in lactate dehydrogenase using ¹³C-NMR. Submetido ao *Eur. J. Biochem.*
15. Bailey, J. Toward a science of metabolic engineering. *Science* **252** (1991) 1668.
16. Mendes, P., Kell, D. Making cells work - metabolic engineering for everyone. *TIBTECH* **15** (1997) 6.
17. Chen, R., Bailey, J. E. Observations of aerobic, growing *Escherichia coli* using an on-line nuclear magnetic resonance spectroscopy system. *Biotechnol. Bioeng.* **42** (1993) 215.
18. Sijbesma, W. F. H., Almeida, J. S., Reis, M. A. M., Santos, H. Uncoupling effect of nitrite during denitrification by *Pseudomonas fluorescens*: an *in vivo* ³¹P-NMR study. *Biotechnol. Bioeng.* **52** (1996) 176.
19. Hartbrich, A., Schmitz, G., Weuster-Botz, D., de Graaf, A. A., Wandrey, C. Development and application of a membrane cyclone reactor for *in vivo* NMR spectroscopy with high microbial densities. *Biotechnol. Bioeng.* **51** (1996) 624.
20. Neves, A. R., Ramos, A., Nunes, M. C., Kleerebezem, M., Hugenholtz, J., de Vos, W. M., Almeida, J., Santos, H. Modelling glycolytic kinetics in *Lactococcus lactis* using *in vivo* NMR data. *Biotechnol. Bioeng.* **64** (1999) 200.
21. Mason, P. W., Carbon, D. P., Cushman, R. A. and Waggoner, A. S. The importance of inorganic phosphate in regulation of energy metabolism of *Streptococcus lactis*. *J. Biol. Chem.* **256** (1981) 1861.
22. Thompson, J., Torchia, D. A. Use of ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy and ¹⁴C fluorography in studies of glycolysis and regulation of pyruvate kinase in *Streptococcus lactis*. *J. Bacteriol.* **158** (1984) 791.



Equipamento de Laboratório
 Balanças - Centrífugas - Aparelhos de pH - Tituladores
 Condutímetros - Agitadores - Espectrofotômetros
 Microscópios - etc.

Vidros e Plásticos de Laboratório
 Distribuidores NORMAX

Material Didático
 Ensino Secundário e Superior
 Representantes exclusivos SISTEDUC - Sistemas Educativos S.A.

Rua Soeiro Pereira Gomes, 15 r/c Frente
 Bom Sucesso - 2615 Alverca
 Telef. (01) 957 04 20/1/2 - Fax (351-1-957 04 23) - Portugal

➤ Ensaio físicos de materiais:

- Tracção
- Compressão
- Flexão

➤ Extensometria



Outros equipamentos que representamos EXCLUSIVAMENTE:



(Japão) – Balanças de precisão



(Alemanha) – Moinhos, análise granulométrica (peneiros)



(Alemanha) – Estufas (universais, incubação, vazio, baixa temperatura)



(Alemanha) – Equipamento básico de laboratórios, nomeadamente:
Agitadores (mecânicos/magnéticos/hélice), dispersor (UltraTurrax)...



EQUIPAMENTOS DE ANÁLISE E ENSAIO, LDA.

LISBOA

PORTO

Campo Mártires da Pátria, 110

R. de Real, 1210 - A/B - Moreira

Tels. (01) 352 85 41 · 356 04 54 · 352 72 93 · Fax (01) 352 87 52

Tels. (02) 948 69 05 · 948 68 88 · 948 68 47 · Fax (02) 948 61 32

Telem. 0931 60 67 25 · 1150 LISBOA · PORTUGAL

Telem. 0931 53 16 98 · 4470 MAIA · PORTUGAL

Novas Dimensões em Electroquímica

M.F. BENTO, M.D. GERALDO, M.J. MEDEIROS, E M.I. MONTENEGRO*

1. INTRODUÇÃO

A Electroquímica constitui uma parte vital da ciência e tecnologia modernas. De facto, encontram-se na literatura numerosos exemplos de interacções mútuas envolvendo métodos electroquímicos, química orgânica, bioquímica e biologia.

É hoje largamente reconhecido que quando as dimensões dum eléctrodo, em experiências electroquímicas, diminuem da escala milimétrica para a escala micrométrica, ocorrem grandes alterações no seu comportamento voltamétrico que determinam as propriedades vantajosas de eléctrodos muito pequenos. Contudo, até finais da década de 70 não teve lugar uma investigação apreciável nesta área. Embora o termo "microeléctrodo" tenha vindo a ser aplicado desde há muito tempo para designar eléctrodos com dimensões milimétricas ou superiores, mais recentemente esse termo tem sido apenas destinado a eléctrodos muito pequenos que serão abordados no presente artigo.

Assim, um microeléctrodo (também chamado ultramicroeléctrodo) é um eléctrodo com pelo menos uma dimensão micro ou submicrométrica. Isto não significa necessariamente que um microeléctrodo tenha uma área muito reduzida. Por exemplo, um fio muito fino e longo pode funcionar como um microeléctrodo e, apesar disso, ter uma área de um milímetro quadrado. Este artigo, contudo, tratará apenas de eléctrodos com todas as suas dimensões reduzidas e que, portanto, têm áreas na região dos micrómetros quadrados. Deve salientar-se que o progresso na Electroquímica tem beneficiado consideravelmente da aplicação de microeléctrodos, visto que eles oferecem melhorias dramáticas na qualidade dos métodos electroquímicos.

Desde o trabalho pioneiro de Fleischmann e colaboradores [1], surgiram dois livros [2,3] e vários artigos de revisão [4-13] descrevendo as propriedades e aplicações destes pequenos eléctrodos. A existência de numerosos exemplos na literatura sobre a sua teoria e aplicações de-

monstra que os microeléctrodos se tornaram instrumentos cruciais em Electroquímica.

Os primeiros eléctrodos com diâmetros de 25 μm foram usados em investigação biológica para determinar a concentração de oxigénio e de neurotransmissores em tecidos vivos [14]. O seu uso foi então justificado devido às suas dimensões reduzidas, não sendo na altura ainda conhecidas as propriedades únicas que eles apresentavam. Os electroquímicos, por outro lado, interessaram-se por eles, por permitirem a abertura de novos horizontes no estudo das reacções de eléctrodo.

A geometria mais comum de microeléctrodos é o disco mas outras geometrias são usadas nomeadamente cilindros, bandas, linhas, esferas, anéis e conjuntos de microeléctrodos, dependendo da aplicação específica. Os materiais utilizados incluem Hg, C, Pt, Au, Ir, Cu, Ni e materiais cerâmicos supercondutores.

As propriedades dos microeléctrodos que os tornam particularmente atractivos são a queda óhmica reduzida, elevada densidade de corrente (apesar das baixas intensidades de corrente) e discriminação em relação a correntes capacitivas. A queda óhmica diminuta é o elemento chave na aplicação com sucesso de microeléctrodos em meios muito resistivos tais como soluções de baixas concentrações de electrólito, solventes não polares, vidros, gases, e electrólitos poliméricos. A sua capacidade para responder rapidamente a variações no potencial aplicado permite-lhes monitorizar reacções electroquímicas em escalas de tempo de sub-microsegundos para investigar transferências electrónicas e reacções químicas acopladas rápidas. Outros domínios que podem ser explorados com microeléctrodos incluem estudos electroquímicos em soluções muito concentradas e também determinações analíticas com melhoria da sensibilidade e dos limites de detecção.

O Grupo de Electroquímica da Universidade do Minho tem desenvolvido trabalhos com microeléctrodos desde inícios da década de 80 e

os principais resultados obtidos serão descritos nas secções seguintes. Estas investigações tiveram como objectivo explorar o comportamento de sistemas electroquímicos em condições em que a resistência óhmica em eléctrodos milimétricos põe completamente de parte a possibilidade de realização de estudos electroquímicos. Esta situação surge em meios em que, ou a resistência da solução ou a intensidade da corrente da célula têm valores elevados. O primeiro caso ocorre quando o electrólito suporte está presente em baixas concentrações ou quando o solvente tem uma constante dieléctrica muito baixa. O segundo ocorre quando a concentração da espécie electroactiva é muito elevada ou quando as medições da corrente são realizadas em escalas de tempo muito curtas.

Assim, as próximas secções apresentarão estudos de reacções de eléctrodo rápidas, de cinética e mecanismos de reacções em soluções concentradas da espécie electroactiva, em meios de baixa concentração de electrólito e aplicações analíticas em meios resistivos. Serão, contudo, primeiramente apresentadas numa forma breve as propriedades mais importantes dos microeléctrodos.

2. PROPRIEDADES DOS MICROELÉCTRODOS

2.1. Transporte de massa

As experiências com microeléctrodos são realizadas dum modo semelhante às realizadas com eléctrodos de maior área. O microeléctrodo é imerso na solução da célula e aplica-se-lhe um perfil de potencial de acordo com a técnica a ser usada. Como resultado ocorre uma reacção de oxidação ou de redução à sua superfície e a concentração superficial da espécie electroactiva vai variando, estabelecendo-se um transporte de massa difusivo do e para o eléctrodo.

Para uma reacção de eléctrodo simples, por exemplo,



podem considerar-se três casos limites de difusão dependendo da dimensão do eléctrodo e do volume da solução. O caso mais simples consiste num eléctrodo inserido numa célula de camada fina onde a razão entre a área do eléctrodo e o volume da solução é muito elevada. Neste caso não se desenvolve um gradiente de concentrações. À medida que esta razão diminui ocorre a conhecida situação duma experiência voltamétrica com difusão planar semi-infinita e para eléctrodos extremamente pequenos desenvolve-se um campo de difusão convergente que depende das dimensões e geometria do eléctrodo.

A descrição do transporte de massa para um microdisco é complexa visto que o fluxo da espécie electroactiva não é uniforme à superfície, pois a sua concentração aumenta do centro para a periferia. Como resultado a matemática torna-se complicada visto que a segunda lei de Fick apresenta-se na sua forma bidimensional,

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial r^2} + \frac{D}{r} \frac{\partial c}{\partial r} + D \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \quad (2)$$

onde r é a distância ao centro do disco, z é a distância perpendicular à superfície do eléctrodo, t é o tempo, D o coeficiente de difusão e c a concentração.

A solução desta equação diferencial fornece a intensidade de corrente de difusão em estado estacionário, I_d , dada por [15],

$$I_d = 4nFDca \quad (3)$$

onde a é o raio do microdisco, n o número de electrões envolvidos por molécula e F a constante de Faraday.

A resposta dum microeléctrodo a um varrimento linear de potencial lento é uma curva corrente-potencial análoga a um polarograma obtido com o eléctrodo gotejante de mercúrio. Este comportamento é observado quando domina a difusão convergente, ou seja, para valores elevados do parâmetro Dt/a^2 ; para valores baixos deste parâmetro, domina a di-

fusão planar, resultando um voltamograma idêntico ao obtido com eléctrodos de maior área. Assim, o mesmo microeléctrodo pode originar um voltamograma de forma sigmoideal ou um voltamograma em forma de pico dependendo da velocidade de varrimento, ou seja, da escala de tempo da experiência. A diferença em comportamento é ilustrada na figura 1 [16].

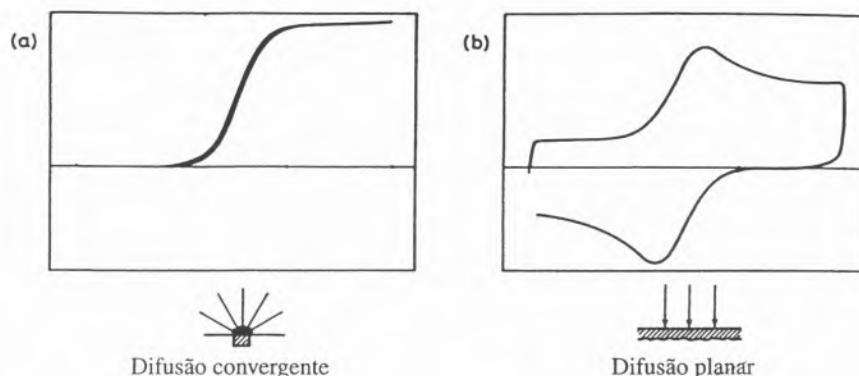


Fig. 1 - Voltamogramas cíclicos obtidos num microeléctrodo. a) valor elevado de Dt/a^2 (difusão convergente); b) valor baixo de Dt/a^2 (difusão planar).

Deve também salientar-se que a intensidade de corrente de difusão em estado estacionário dada pela equação (3) pode ser atingida quer através dum varrimento linear de potencial ou duma experiência cronamperométrica. A capacidade dos microeléctrodos para aumentar o transporte de massa da espécie electroactiva e alcançar o estado estacionário rapidamente, constitui uma das suas propriedades mais relevantes.

2.2. Características eléctricas

2.2.1. Queda óhmica

A queda óhmica resulta do facto de qualquer corrente que flui numa célula utilizar uma fracção IR do potencial aplicado, em que I é a intensidade total de corrente e R a resistência da célula. Como resultado as respostas experimentais são normalmente distorcidas e torna-se assim importante usar condições em que o factor IR seja inferior a 1 mV. Isto significa que experiências realizadas

em escalas de tempo muito curtas ou que empregam concentrações elevadas de espécie electroactiva (que conduzem a intensidades de corrente elevadas) ou ainda que utilizam meios resistivos (valores de R elevados) originam necessariamente respostas distorcidas, não permitindo uma análise correcta dos resultados.

Quando são usados microeléctrodos, contudo, as distorções óhmicas

são consideravelmente diminuídas porque as correntes que os atravessam são várias ordens de grandeza inferiores às dos eléctrodos convencionais. Assim, mesmo em meios muito resistivos, o produto IR ainda é suficientemente baixo para permitir respostas bem definidas.

Com microeléctrodos é comum usar uma célula de dois eléctrodos. Se considerarmos um eléctrodo de disco de raio a , a resistência da célula é dada por [17],

$$R = \frac{1}{4\kappa} \left(\frac{1}{a} - \frac{1}{d} \right) \quad (4)$$

onde κ é a condutividade específica da solução e d a distância ao eléctrodo auxiliar. Como a maior parte da queda óhmica ocorre a distâncias ao microeléctrodo da ordem de grandeza da sua dimensão, a distância entre o microeléctrodo e o eléctrodo auxiliar não influencia a resistência da célula.

Em condições de estado não estacionário a intensidade de corrente varia com o quadrado do raio; como a resistência é inversamente proporcional ao raio do eléctrodo o produto IR diminui com a . Por outro lado, em condições de estado estacionário, a intensidade de corrente é directamente proporcional ao raio e , portanto, o produto IR é independente de a . No entanto, experimentalmente verifica-se que a queda óhmica é também mais baixa quando os eléctrodos apresentam menores dimensões.

2.2.2. Capacidade da dupla camada

A interface metal-solução comporta-se como um condensador e, portanto, uma variação no potencial do eléctrodo produz uma corrente de carga ou capacitiva. Esta corrente pode constituir uma importante interferência, visto que a sua intensidade pode exceder o valor da intensidade de corrente faradaiça para tempos muito curtos ou para pequenas concentrações da espécie electroactiva. Contudo, a capacidade da dupla camada é proporcional à área do eléctrodo e, portanto, é muito reduzida em microeléctrodos.

Quando a experiência é realizada em condições de estado estacionário a intensidade da corrente de difusão é proporcional ao raio do eléctrodo (equação (3)) enquanto que a intensidade de corrente capacitiva é proporcional à área. Portanto, a razão I_t/I_c é proporcional a $1/a$, e, assim, ela aumenta à medida que o raio decresce.

Em condições de estado não estacionário, o uso de microeléctrodos também é vantajoso. A intensidade de corrente necessária para carregar a dupla camada eléctrica de capacidade C , I_c , numa experiência de salto de potencial de amplitude ΔE diminui exponencialmente com o tempo e é dada por [18],

$$I_c = \frac{\Delta E}{R} \exp(-t/RC) \quad (5)$$

onde R é a resistência da célula. Como C é proporcional à área do eléctrodo e R inversamente proporcional ao raio, então para um eléctrodo esférico o produto RC é proporcional ao raio. O resultado é que quanto mais pequeno for o eléctrodo mais rápida é a resposta da célula.

3. CINÉTICA DE REACÇÕES RÁPIDAS

A determinação de constantes de velocidade de reacções de transferência electrónica superiores a 10^{-2} cm/s constitui uma dificuldade encontrada pelos electroquímicos visto que a utilização de diferentes técnicas usadas pelos diversos laboratórios, conduz em geral, a valores que diferem por vezes mais de uma ordem de grandeza. A causa mais frequente destes desvios é de natureza experimental e prende-se com problemas de queda óhmica e efeitos capacitivos que distorcem as respostas electroquímicas e, portanto, é fundamental a procura de soluções para este problema.

Wightman e colaboradores [19] mostraram a vantagem de usar microeléctrodos em voltametria cíclica de varrimento rápido (superiores a 10^2 V/s). A diminuição dos efeitos óhmicos e capacitivos permite o registo de voltamogramas bem definidos mesmo a velocidades de varrimento que podem atingir 10^6 V/s [20]. Para tempos muito curtos a difusão planar é dominante, sendo, portanto, possível usar sem modificação as equações e traçados adimensionais de Nicholson e Shain [21,22] para a obtenção de parâmetros cinéticos a partir de dados experimentais.

A figura 2 apresenta um voltamograma cíclico para a oxidação do ferroceno em acetonitrilo num microeléctrodo de platina registado à velocidade de 10^3 V/s [23].

A qualidade da resposta assemelha-se à que se obtém para velocidades de varrimento baixas, observando-se claramente que a contribuição da corrente capacitiva é diminuta. A

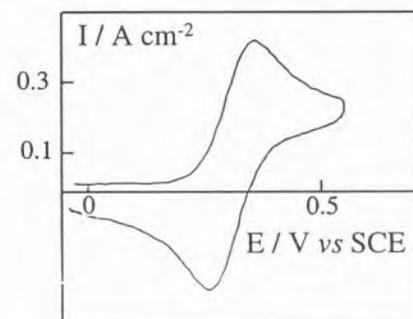


Fig. 2 - Voltamograma cíclico registado num microeléctrodo de platina ($a = 5 \mu\text{m}$) para o ferroceno 10 mmol dm^{-3} em acetonitrilo contendo $0.5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Bu}_4\text{NClO}_4$ à velocidade de varrimento de 1000 V/s [23].

queda óhmica é também desprezável, o que se confirmou realizando experiências para diferentes concentrações de ferroceno e verificando que os valores de ΔE_p (diferença entre os potenciais dos picos anódico e catódico) eram independentes da concentração, ou seja, da intensidade de corrente que atravessa a célula. A tabela 1 apresenta valores de constantes de velocidade padrão de transferência electrónica para vários pares electroquímicos em acetonitrilo e num microeléctrodo de platina [23].

Encontra-se na literatura um número considerável de exemplos do uso de microeléctrodos para investigar reacções de eléctrodo, em condições de estado não estacionário [12]. A voltametria cíclica a velocidades de varrimento elevadas continua a ser a técnica mais popular, embora técnicas de degrau de potencial duplo sejam preferíveis por fornecerem dados mais precisos.

4. ESTUDOS MECANÍSTICOS E CINÉTICOS EM SOLUÇÕES CONCENTRADAS

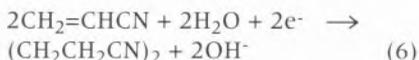
Dum modo geral o estudo do comportamento electroquímico de uma dada espécie electroactiva é realizado com baixas concentrações do substrato (tipicamente entre 0.1 e 10 mM) e na presença dum excesso de electrólito suporte. A baixa con-

Tabela 1 - Constantes de velocidade para os pares A / A⁻ em acetonitrilo. Microeléctrodo de platina [23].

A	K ^o / cm s ⁻¹
Benzoquinona	0.14
Antraquinona	1.45
Antraceno	2.6
Ferroceno	1.1
p-NO ₂ -C ₆ H ₄ CH ₂ OCONHC ₆ H ₅	0.21
p-NO ₂ -C ₆ H ₄ CH ₂ OCON 	0.26

centração de material electroactivo assegura que as intensidades de corrente que atravessam a célula sejam suficientemente pequenas para não causarem efeitos óhmicos significativos. Contudo, nos sistemas reais, isto é, nos reactores electroquímicos as concentrações são elevadas, tornando-se, assim, difícil fazer extrapolações mecanísticas para os processos industriais a partir do que se passa ao nível de células laboratoriais. Sendo assim, seria desejável realizar estudos em condições tão próximas quanto possível das utilizadas na indústria, em termos de concentração de espécie electroactiva. Embora, estas experiências não possam ser realizadas com eléctrodos de dimensões convencionais, o advento dos microeléctrodos permitiu estudos com concentrações elevadas de substrato e existem alguns exemplos de sucesso na literatura em que as respostas voltamétricas não são afectadas pela queda óhmica [24].

Um processo industrial bem conhecido é a produção de adiponitrilo a partir da hidrodimerização catódica do acrilonitrilo [25],



a qual envolve 1 electrão por molécula do substrato.

Esta reacção é realizada em meio aquoso com concentrações elevadas de acrilonitrilo, cerca de 1 mol dm⁻³. De facto, se forem usadas concentrações baixas, o produto obtido é o propionitrilo e a reacção envolve 2 electrões por molécula.

A figura 3 apresenta um voltamograma de varrimento linear de potencial numa solução concentrada de acrilonitrilo num microeléctrodo de mercúrio, obtido por electrodeposição de iões mercúrio num substrato de ouro [26].

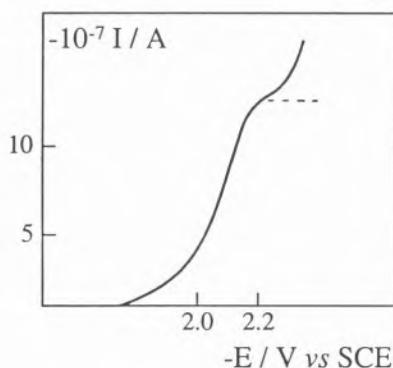


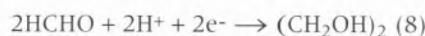
Fig. 3 - Curva I-E num microdisco de mercúrio (área = 8x10⁻⁷ cm²) para a redução de acrilonitrilo (1.5 mol dm⁻³) em solução aquosa de Na₂HPO₄ (15%) + Bu₄NHSO₄ (0.4%), pH 7. Velocidade de varrimento: 50 mV/s [26].

Apesar da elevada concentração de espécie electroactiva, o voltamograma apresenta uma forma sigmoideal bem definida, permitindo uma análise cuidada da intensidade de corrente limite, apesar da proximidade do potencial de redução do meio. Contudo, as intensidades de corrente limite não são proporcionais à concentração de acrilonitrilo, c, e a variação de I_d/c com c não é constante como se mostra na figura 4.

A variação observada traduz a transição dum processo de dois electrões, para concentrações baixas de acrilonitrilo, para um processo de um electrão para concentrações elevadas.

Este exemplo demonstra que a análise das intensidades de corrente limite pode constituir um método simples para seleccionar as condições de operação de reactores electroquímicos.

Outro processo que foi desenvolvido pela Electrosynthesis Co. consiste na redução do formaldeído para produzir etilenoglicol [27],



Este é um exemplo dum mecanismo CE, isto é, uma reacção química precede a reacção de transferência electrónica, sendo o passo determinante do processo. De facto, em soluções aquosas o formaldeído está em equilíbrio com a sua forma hidratada, formalina, CH₂(OH)₂, e a reacção de desidratação, equação 7, determina a velocidade da redução. Por esta razão, a reacção é conduzida a uma temperatura elevada (363 K), à qual a intensidade de corrente limite se aproxima da intensidade de corrente de difusão.

Uma das condições experimentais para a redução é o uso numa concentração elevada de formaldeído, pois as concentrações baixas é privilegiada a formação de metanol, num processo que envolve dois electrões por molécula. Experiências com microeléctrodos demonstraram

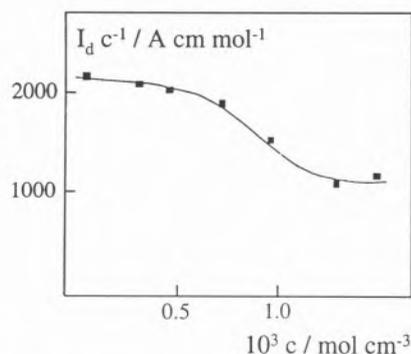


Fig. 4 - I_d/c vs c para a redução do acrilonitrilo em solução aquosa de Na₂HPO₄ (15%) + Bu₄NHSO₄ (0.4%), pH 7. Voltamogramas registados a 50 mV/s. Microeléctrodo de mercúrio, área 8x10⁻⁷ cm² [26].

a necessidade das condições experimentais referidas, nomeadamente a vantagem em usar-se uma temperatura elevada [28]. A figura 5 mostra o efeito da temperatura na densidade da corrente limite. Os resultados obtidos a 363 K originaram um traçado de I_d/c vs c que demonstra claramente a mudança de $n = 2$ para $n = 1$, à medida que a concentração em formaldeído aumenta.

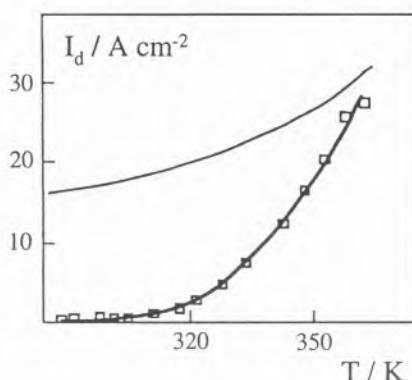


Fig. 5 - Variação da densidade de corrente limite para a redução do formaldeído a 40% com a temperatura, numa solução contendo formiato de sódio 1 mol dm^{-3} , pH 7. Microdisco de mercúrio, raio $10 \text{ }\mu\text{m}$. A linha mais fina indica a intensidade de corrente limite de difusão calculada [28].

Outro exemplo de um processo aplicado à escala industrial consiste na metoxilação do furano por oxidação electroquímica indirecta com bromo em metanol [29]. A reacção dá-se com uma concentração de bromo superior a 0.1 mol dm^{-3} e pode ser esquematizada por,



onde Z, neste caso o furano, está presente num excesso suficiente de modo que a reacção traduzida pela equação 10 pode ser considerada de pseudo-primeira ordem.

Fleischmann e colaboradores [30] mostraram que nestas condições a análise das intensidades de corrente limite em função do raio dos microelectrodos de disco permite determinar a cinética de reacções de electrodo mediadas, de acordo com a

equação,

$$\frac{I_c}{I_d} = 1 + \left(\frac{k'}{D}\right)^{1/2} \frac{\pi a}{4} \quad (11)$$

onde I_d e I_c são respectivamente as intensidades de corrente limite da reacção (9) na ausência e na presença de Z e k' é a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem.

Se, contudo, a reacção for levada a cabo em condições de segunda ordem, como acontece na metoxilação do furano nas condições usadas na indústria, a equação a ser usada é [31]:

$$\frac{I_c}{I_d} = 1 - \frac{\pi^2 k a^2 c_R}{32D} + \left[\frac{\pi^4 k^2 a^2 (c_R)^2}{1024D^2} + \frac{\pi^2 k a^2 c_Z}{8D} \right]^{1/2} \quad (12)$$

em que c_R e c_Z são as concentrações de bromo e de furano, respectivamente.

A cinética da reacção do Br_2 /furano foi estudada em condições de pseudo-primeira ordem e em condições de segunda ordem através de gráficos de I_c/I_d vs a [32]. Em qualquer dos casos o valor obtido para k foi de $68 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Estas experiências com microelectrodos, confirmaram que a metoxilação do furano ocorre, de facto, de acordo com o mecanismo descrito em (9) e (10) e que a velocidade da reacção Br_2 /furano é, bastante lenta.

Os exemplos acima descritos, perspectivam as enormes potencialidades dos estudos com microelectrodos em procedimentos sintéticos.

5. ELECTROQUÍMICA EM MEIOS RESISTIVOS

A pequena sensibilidade que os microelectrodos apresentam aos efeitos da resistência do meio levou um grande número de investigadores a desenvolver estudos em condições consideradas pouco convencionais em Electroquímica. A utilização de solventes de baixa constante dieléctrica e a não adição de um electrolito constituem alterações marcantes em termos experimentais que, por sua vez, têm consequências profundas ao

nível dos fundamentos e análise dos sinais electroquímicos. Os voltamogramas obtidos nestas "novas" condições experimentais não podem ser analisados com base nas teorias existentes, desenvolvidas assumindo a difusão como único meio de transporte de massa (no caso de técnicas estacionárias). Por outro lado, as distorções óhmicas, ainda que sejam menores com microelectrodos, quando comparadas com as observadas em electrodos de maiores dimensões em condições idênticas, impossibilitam a extracção de informação cinética ou termodinâmica das curvas I-E.

O trabalho desenvolvido pelo nosso grupo nesta área teve como principal objectivo a análise das respostas dos microelectrodos, em estado estacionário, e a avaliação das alterações destes sinais, associadas à diminuição da concentração de electrolito [33-37] e utilização de solventes de baixa constante dieléctrica [38-40], de modo a possibilitar a sua aplicação com fins analíticos.

5.1 Meios de força iónica reduzida

Nos estudos electroquímicos convencionais, a adição de um electrolito suporte com uma concentração elevada tem como principal função o aumento da condutividade do meio e a eliminação de gradientes de potencial na solução junto ao electrodo, associados ao processo de electrolise. Quando se reduz a concentração de electrolito as respostas electroquímicas são diferentemente afectadas, de acordo com a natureza das espécies (carga) e dos processos electroquímicos (número de electrões transferidos e mecanismo da reacção), conforme está ilustrado na figura 6.

Os dois conjuntos de voltamogramas apresentados referem-se à redução de uma espécie neutra, diciano(fluoreno-9-ilideno)metano, DCN, e do dicatão metilviologénio, MV^{2+} , envolvendo dois processos monoelectrónicos reversíveis e foram obtidos na presença de diferentes concentrações relativas de electrolito ($\gamma = [\text{electrolito}] / [\text{substrato}]$).

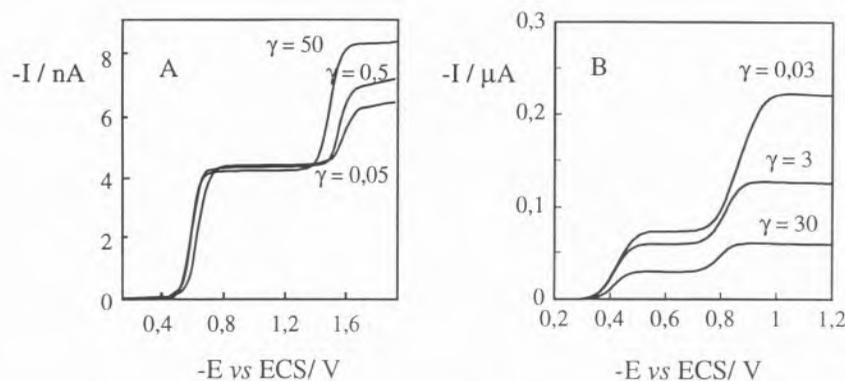


Fig. 6 - Redução electroquímica em DMF de: A) DCN, [DCN] = 2.0 mM, microdisco de ouro, $a = 14.5 \mu\text{m}$, concentrações variáveis de electrólito: $[\text{Bu}_4\text{NBF}_6] = [\text{DCN}] / \gamma$; B) MV^{2+} , $[\text{MV}^{2+}] = 20.0 \text{ mM}$, concentrações variáveis de electrólito: $[\text{Bu}_4\text{NBF}_6] = [\text{MV}^{2+}] / \gamma$, microdisco de platina, $a = 13.4 \mu\text{m}$ [34].

5.1.1 Variação das intensidades de corrente

Na presença de um excesso de electrólito ($\gamma \geq 10^2$), o transporte de carga através da solução é assegurado, praticamente na sua totalidade, pelos seus iões. Nestas condições, o transporte das espécies electroactivas em solução é efectuado predominantemente por difusão. Esta situação deixa de se verificar quando a concentração de electrólito é da mesma ordem de grandeza, ou inferior, à da espécie electroactiva ($\gamma \leq 10$). Nestas circunstâncias, o transporte de carga em solução é efectuado tanto pelos iões do electrólito como pelas espécies electroactivas. Assim, as intensidades de corrente dependem da concentração relativa de electrólito presente, sendo determinadas não só pela difusão como também pela migração, segundo a equação de Nernst-Planck:

$$J_i = -D_i \nabla c_i - z_i \frac{F}{RT} D_i c_i \nabla \phi \quad (13)$$

onde D_i , c_i e z_i são respectivamente o coeficiente de difusão, a concentração e a carga da espécie electroactiva i ; ϕ é o potencial eléctrico e os restantes termos têm o seu significado usual.

As reacções electroquímicas envolvendo transferências electrónicas simples em condições de força iónica reduzida foram o primeiro tipo de

processos a ser tratado teoricamente [41-46]. As previsões apresentadas por estas teorias foram testadas em sistemas distintos, demonstrando estar em conformidade com os resultados experimentais [47-52].

Para além das transferências electrónicas simples, o tratamento teórico e validação experimental do transporte por difusão e migração foi efectuado em mecanismos EE, ou seja, para processos de transferência electrónica consecutivos [34,49,53].

Paralelamente à alteração das intensidades de corrente associada à migração, verifica-se também a variação dos coeficientes de difusão [34,40]. Observou-se que os coeficientes de difusão aumentavam à medida que se reduzia a concentração de electrólito. Esta variação foi relacionada com a diminuição da viscosidade das soluções [38,40].

5.1.2 Distorções óhmicas

Como foi acima descrito, a resistência da célula varia inversamente com a condutividade do meio e com o raio do microeléctrodo de acordo com a equação 4.

Quando a concentração de electrólito é muito superior à da espécie electroactiva a concentração de espécies iónicas na vizinhança do microeléctrodo não é significativamente alterada pela formação / eliminação de carga durante a electrólise, e a condutividade da solução é independen-

te da distância ao microeléctrodo. Por outro lado, quando a concentração de electrólito é reduzida relativamente à do substrato, a criação ou eliminação de cargas associada à electrólise conduz à variação da condutividade local da solução, relativamente ao seu valor a uma distância infinita do microeléctrodo. Assim, os valores da resistência calculados a partir da equação 4 não são válidos.

O modelo existente para a previsão da queda óhmica em células com microeléctrodos em soluções de força iónica reduzida, considera a reestruturação iónica junto ao eléctrodo, calculando a condutividade local a partir da integração dos perfis de concentração de todas as espécies iónicas em solução, de modo a que se verifique a condição de electroneutralidade [43,45]. Ainda que estes perfis se estendam por distâncias muito superiores ao raio do microeléctrodo [13], este modelo não considera a sua perturbação pela convecção natural. Assim, os fenómenos de enriquecimento / depleção iónica são considerados para distâncias ao microeléctrodo às quais a convecção natural conduz à sua homogeneização. Os resultados obtidos, quer por métodos voltamétricos [35,36], quer por medidas de impedância [37], demonstraram que os valores experimentais da resistência podem afastar-se significativamente destas previsões, dependendo do conteúdo iónico da solução, e das dimensões do microeléctrodo.

Nos estudos realizados variando a concentração de electrólito verificou-se que a variação dos potenciais de junção líquida do eléctrodo de referência era significativa, provocando a deslocação das ondas voltamétricas paralelamente ao efeito da queda óhmica [35].

5.2 Meios de baixa constante dielétrica

É possível realizar estudos electroquímicos em solventes de baixa constante dielétrica, na presença de uma concentração elevada de um electrólito, com microeléctrodos.

Ainda que a concentração de electrólito dissociado seja bastante elevada, prevenindo a ocorrência de migração, a condutividade destas soluções é substancialmente inferior à das usualmente utilizadas em electroquímica com eléctrodos milimétricos. As distorções óhmicas são visíveis, tanto ao nível da posição como da forma das curvas voltamétricas.

Nos estudos efectuados em que a constante dieléctrica foi variada gradualmente, através da percentagem relativa de dois solventes diferentes (DMF e tolueno), as alterações dos voltamogramas foram relacionadas com as propriedades físicas do meio [38-40].

O aumento das intensidades de corrente foi correlacionado com a diminuição da viscosidade das soluções, que têm como consequência o aumento dos coeficientes de difusão das espécies electroactivas [40]. As distorções das ondas voltamétricas observadas em diferentes sistemas reversíveis, foram idênticas às previstas com base na resistência da célula, calculada a partir da equação 4. A alteração da posição das curvas I-E foi, no entanto, superior à prevista para a queda óhmica, verificando-se uma variação significativa dos potenciais formais de redução, devida a diferenças na capacidade de solvatação dos diferentes meios [54].

6. APLICAÇÕES ANALÍTICAS

As características dos microeléctrodos permitiram alargar as aplicações electroanalíticas, com a obtenção de resultados mais precisos, isto é, menos afectados por correntes capacitivas e distorções óhmicas, e a análise de sistemas mais complexos. A sua imunidade relativamente à queda óhmica permite a realização de determinações em sistemas reais de elevada resistividade a qual pode ter origem numa baixa concentração de iões livres devido à utilização de um solvente de baixa constante dieléctrica. Os solventes de baixa constante dieléctrica não têm sido muito explorados para determinações ana-

líticas devido à dificuldade na dissolução dos electrólitos.

Foi desenvolvido um método electroquímico, utilizando microeléctrodos, para a quantificação do estireno residual em polímeros utilizados na embalagem de produtos alimentares [55]. Foram analisadas diversas amostras de poliestireno em tolueno e em N,N-dimetilformamida (DMF). A escolha de tolueno ($\epsilon = 2.379$) como solvente foi condicionada pela grande solubilidade que o poliestireno apresenta em hidrocarbonetos aromáticos. No entanto, devido à baixa polaridade do tolueno foi necessário adicionar pequenas quantidades de DMF ($\epsilon = 36.7$) de forma a ser possível solubilizar uma quantidade adequada de electrólito. A necessidade de utilizar microeléctrodos para a realização destas determinações analíticas resultou da baixa condutividade e elevada viscosidade das soluções dos polímeros. Foi deste modo possível realizar medições directas em amostras de poliestireno em alternativa ao método mais usual que recorre a técnicas cromatográficas, o qual requer um pré-tratamento da amostra envolvendo a precipitação prévia do polímero. Verificou-se que numa mistura de 90 % tolueno e 10% DMF, as curvas voltamétricas para a redução do estireno, obtidas num varrimento linear de potencial em estado estacionário, apresentavam-se com uma qualidade elevada (patamar bem definido) e que o potencial de redução do meio ocorria a valores mais catódicos do que em 100% DMF. Por outro lado, verificou-se que as intensidades de corrente são mais elevadas nesta mistura de solventes do que em DMF [38]. Este facto está associado à diminuição da viscosidade das soluções de tolueno relativamente às de DMF com o consequente aumento dos coeficientes de difusão naquela mistura.

Na análise foi utilizado o método da adição de padrão, uma vez que a amostra apresentava uma matriz muito diferente da das soluções padrão. As determinações foram realizadas por voltametria de onda quadrada e os resultados obtidos foram

comparados com os fornecidos por dois laboratórios comerciais, que executaram os ensaios relativos à determinação do estireno nos poliestirenos segundo a Norma NP 3993 [56]. A figura 7 ilustra os voltamogramas de onda quadrada obtidos numa amostra de poliestireno, com o método da adição de padrão e na tabela 2 estão apresentados os resultados referentes à determinação do estireno em diversas amostras de poliestireno (três amostras em grânulos: BP, BASF, HCC e amostras de copos de iogurte cedidos pela AGROS: COPO) pelos métodos cromatográfico e electroquímico.

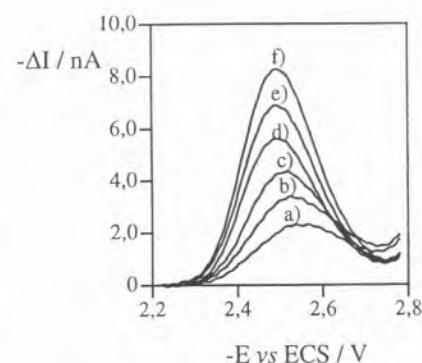


Fig. 7 - Voltamogramas de onda quadrada da redução do estireno em poliestireno BP (2.02078 g em 25 cm³ em 90 % TOL /10 % DMF, contendo 0.10 mol dm⁻³ Bu₄NBF₄). Quantidade de estireno adicionada a 5 cm³ de solução de poliestireno: a) 0, b) 0.9; c) 1.8; d) 2.7; e) 3.6; f) 4.5 μmol. ΔEs = 2 mV, E_{sw} = 60 mV, f = 100 Hz [55].

Como se pode observar, os valores são concordantes e os limites de detecção, da ordem dos 10⁻⁵M, são aceitáveis face à quantidade de estireno residual nestes polímeros.

Com o objectivo de aplicar o método electroquímico a outro tipo de polímeros, determinou-se o estireno residual em copolímeros de acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS), tendo sido analisadas três tipos de amostras: CYCOLAC, BRNCO e RS [57]. Na análise destes copolímeros efectuaram-se algumas alterações ao método analítico nomeadamente no solvente utilizado.

Tabela 2 - Resultados da percentagem de estireno obtidos pelo método cromatográfico por dois laboratórios (Lab A e Lab B) e pelo método electroquímico [55].

Amostra	GLC		SWV*
	Lab A	Lab B	
BP	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
BASF	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
HCC	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01
COPO	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01

* Voltametria de onda quadrada.

Tabela 3 - Comparação dos resultados obtidos pelos laboratórios comerciais (Lab A e Lab B), segundo a norma NP 3993 modificada, das determinações da percentagem de estireno nas diversas amostras de ABS [57].

Amostra	% Estireno		SWV*
	GLC (Lab A)	GLC (Lab B)	
CYCOLAC	0.55±0.01	0.64±0.01	0.39±0.06
RS	0.14±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01
BRNCO	—	0.26±0.01	0.28±0.03

* Voltametria de onda quadrada.

Neste caso usou-se a DMF como solvente devido à melhor solubilização deste tipo de amostras. Os resultados obtidos pelos métodos electroquímico e cromatográfico estão apresentados na tabela 3. Os valores determinados pelos dois laboratórios não são concordantes entre si. Quando se analisam os cromatogramas, verifica-se que o pico referente ao estireno aparece na cauda do solvente e com uma intensidade muito reduzida para as concentrações mais baixas. As diferenças encontradas nas determinações de estireno pelos métodos cromatográfico e electroquímico podem ser muito provavelmente atribuídas às dificuldades inerentes à adaptação da Norma a estes polímeros, nomeadamente na temperatura da coluna e na massa da amostra.

Foi assim possível, utilizando microelectrodos, desenvolver um método electroquímico em que o polímero é simplesmente dissolvido num solvente ou mistura apropriada de solventes sendo registado directamente um voltamograma sem necessidade de pré-tratamento da amostra. Esta constitui uma vantagem apreciável relativamente ao método cromatográfico.

7. CONCLUSÕES

Os resultados acima descritos resumem muito do trabalho realizado ao longo de vários anos no Grupo de Electroquímica da Universidade do Minho e ilustram claramente a aplicabilidade dos microelectrodos nas mais diversas vertentes da Química, desde a Cinética à Análise e à Síntese Química. Contudo, deve salientar-se que a sua utilização alargase a outros domínios científicos, nomeadamente à Medicina, Saúde, Agricultura, Biologia e Biotecnologia entre muitos outros. É hoje em dia reconhecida a vantagem oferecida por estes pequenos electrodos em muitos laboratórios e o seu uso rotineiro está implementado em vários grupos de investigação. O número de publicações neste domínio tem aumentado consideravelmente provando o aparecimento de novas aplicações. Por outro lado, os aspectos teóricos continuam a estimular o interesse de muitos investigadores por forma a tornar mais sólidos os aspectos fundamentais do seu comportamento.

O Grupo de Electroquímica da Universidade do Minho, para além do trabalho já realizado tem em fase

de arranque vários outros projectos de aplicação de microelectrodos. Assim, já foram realizados os primeiros estudos para o desenvolvimento dum método de análise de pesticidas em águas, solos e sedimentos com vista ao desenvolvimento dum sensor para determinações *in situ* [58]. Por outro lado, já foram feitas investigações preliminares para o desenvolvimento dum detector de formação de biofilmes em permutadores de calor e outras canalizações. Embora os primeiros ensaios tenham sido realizados com electrodos convencionais [59], a utilização de microelectrodos será indispensável quando a água das tubagens contiver um baixo conteúdo iónico. Foi ainda iniciado outro projecto no domínio da avaliação do crescimento microbiano em culturas de células que ilustra a aplicação dos microelectrodos em meios biológicos. Os estudos efectuados permitiram seguir o crescimento de uma cultura de *Candida utilis* com base na redução electroquímica de metabolitos destas leveduras num meio de cultura de glucose [60]. Pretende-se alargar o procedimento desenvolvido a diversos meios de cultura e a outros microorganismos.

* Centro de Química - IBQF, Universidade do Minho, Largo do Paço, 4700-320 Braga, Portugal

REFERÊNCIAS

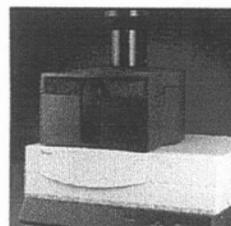
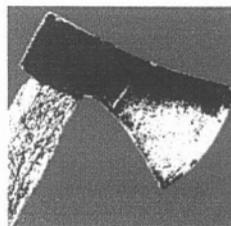
1. P.N. Swan, PhD. Dissertation, University of Southampton, 1980.
2. M. Fleischmann, S. Pons, D.R. Rolison, P. Schmidt (Editores), *Ultramicroelectrodes*, Datatech Science, Morganton, North Carolina, 1987.
3. M.I. Montenegro, M.A. Queirós, J.L. Daschbach (Editores), *Microelectrodes: Theory and Applications*, NATO ASI Series, Series E, Vol. 197, Kluwer, Dordrecht, 1991.
4. R.M. Wightman, *Anal. Chem.*, **48** (1981) 1125A.
5. S. Pons, M. Fleischmann, *Anal. Chem.*, **59** (1987) 1391A.

6. J.O. Howell, *Current Separations*, **8** (1987) 2.
7. M.I. Montenegro, *Portugaliae Electrochimica Acta*, **3** (1985) 165.
8. R.M. Wightman, D.O. Wipf, in *Electroanalytical Chemistry, "Voltammetry at Ultramicroelectrodes"*, A.J. Bard (Editor), Vol. 15, Marcel Dekker, New York, 1989.
9. J. Robinson, in *Comprehensive Chemical Kinetics, "New Techniques for the Study of Electrodes and their Reactions"*, R.G. Compton, A. Hamnett (Editores), Vol. 29, Elsevier, Amsterdam, 1989.
10. B.R. Scharifker, in *Modern Aspects of Electrochemistry, "Microelectrode Techniques in Electrochemistry"*, J. O'M. Bockris, B.E. Conway, R.E. White (Editores), No. 22, Plenum Press, New York, 1992.
11. J. Heinze, *Angew.Chem. Int. Ed. Engl.*, **32** (1993) 1268.
12. M.I. Montenegro, in *Research in Chemical Kinetics, "Applications of Microelectrodes in Kinetics"*, R.G. Compton, G. Hancock (Editores), Vol. 2, Elsevier, Amsterdam, 1994.
13. C. Amatore, in *Physical Electrochemistry, Principles, Methods and Applications*, Israel Rubinstein (Editor), Marcel Dekker, New York, Cap. 4, 1995.
14. R.N. Adams, *Anal. Chem.*, **48** (1976) 1126A.
15. A.M. Bond, K.B. Oldham, C.G. Zoski, *J. Electroanal. Chem.*, **245** (1988) 71.
16. J.O. Howell, R.M. Wightman, *J. Phys. Chem.*, **88** (1984) 3915.
17. K. Oldham, in Ref. 3.
18. A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, Wiley, New York, 1980.
19. J.O. Howell, R.M. Wightman, *Anal. Chem.*, **56** (1981) 524.
20. C. Amatore, A. Jutand, F. Pfluger, *J. Electroanal. Chem.*, **218** (1987) 361.
21. R.S. Nicholson, I. Shain, *Anal. Chem.*, **36** (1964) 706.
22. R.S. Nicholson, *Anal. Chem.*, **37** (1965) 1351.
23. M.I. Montenegro, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem.*, **200** (1986) 371.
24. R.A. Malmstan, C.P. Smith, H.S. White, *J. Electroanal. Chem.*, **215** (1986) 223.
25. D. Pletcher, *Industrial Electrochemistry*, Chapman and Hall, London, 1982.
26. M.I. Montenegro, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem.*, **248** (1988) 229.
27. N.L. Weinberg, M. Lipsztajn, D.J. Mazur, M. Reicher, H.R. Weinberg, E. Weinberg, in *Recent Advances in Electroorganic Synthesis*, S. Torii (Editor), Elsevier, 1987.
28. M.I. Montenegro, D. Pletcher, E.A. Liolios, D.J. Mazur, C. Zawodzinski, *J. Appl. Electrochem.*, **20** (1990) 54.
29. M. Taniguchi in *Recent Advances in Electroorganic Synthesis*, S. Torii (Editor), Elsevier, 1987.
30. M. Fleischmann, F. Lasserre, J. Robinson, D. Swan, *J. Electroanal. Chem.*, **117** (1984) 97.
31. M. Fleischmann, D. Pletcher, G. Denuault, J. Däschbach, S. Pons, *J. Electroanal. Chem.*, **263** (1989) 225.
32. M.J. Medeiros, M.I. Montenegro, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem.*, **290** (1990) 155.
33. M.F. Bento, M.J. Medeiros, M.I. Montenegro, C. Berriot, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem.*, **345** (1993) 273.
34. C. Amatore, M.F. Bento, M.I. Montenegro, *Anal. Chem.*, **67** (1995) 2800.
35. M.F. Bento, L. Thouin, C. Amatore, M.I. Montenegro, *J. Electroanal. Chem.*, **443** (1998) 137.
36. M.F. Bento, L. Thouin, C. Amatore, *J. Electroanal. Chem.*, **446** (1998) 91.
37. C. Amatore, L. Thouin, M.F. Bento, *J. Electroanal. Chem.*, **463** (1999) 5.
38. M.D. Geraldo, M.I. Montenegro, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem.*, **418**, 41, 1996.
39. D.H. Evans, M.D. Geraldo, M.I. Montenegro, D. Pletcher, L. Slevin, *J. Electroanal. Chem.*, **439** (1997) 115.
40. M.F. Bento, M.D. Geraldo, M.I. Montenegro, *Anal. Chem. Acta*, **385** (1999) 365.
41. C.A. Amatore, M.R. Deakin, R.M. Wightman, *J. Electroanal. Chem.*, **225** (1987) 49.
42. C. Amatore, B. Fosset, J. Bartelt, M.R. Deakin, R.M. Wightman, *J. Electroanal. Chem.*, **256** (1988) 255.
43. K.B. Oldham, *J. Electroanal. Chem.*, **250** (1988) 1.
44. J.B. Cooper, A.M. Bond, K.B. Oldham, *J. Electroanal. Chem.*, **331** (1992) 877.
45. K.B. Oldham, *J. Electroanal. Chem.*, **337** (1992) 91.
46. J.C. Myland, K.B. Oldham, *J. Electroanal. Chem.*, **347** (1993) 49.
47. C. Amatore, B. Fosset, J. Bartelt, M.R. Deakin, R.M. Wightman, *J. Electroanal. Chem.*, **256** (1988) 255.
48. J.B. Cooper, A.M. Bond, *J. Electroanal. Chem.*, **315** (1991) 143.
49. J.D. Norton, W.E. Benson, H.S. White, B.D. Pendley, H.D. Abruña, *Anal. Chem.*, **63** (1991) 1909.
50. C. Lee, F.C. Anson, *J. Electroanal. Chem.*, **323** (1992) 381.
51. M. Ciszowska, Z. Stojek, S.E. Morris, J.G. Osteryoung, *Anal. Chem.*, **64** (1992) 2372.
52. S. Daniele, M. A. Baldo, M. Corbetta, G. A. Mazzocchin, *J. Electroanal. Chem.*, **379** (1994) 261.
53. C. Amatore, S.C. Paulson, H.S. White, *J. Electroanal. Chem.*, **439** (1997) 173.
54. M.D. Geraldo, tese de doutoramento, Universidade do Minho, 1996.
55. M.D. Geraldo, M.I. Montenegro, D. Pletcher, *Talanta*, **42** (1995) 1725.
56. *Norma Portuguesa Definitiva. NP 3993 - Materiais plásticos para contacto com géneros alimentícios. Determinação do teor do estireno, monómero residual nos materiais poliméricos à base de estireno. Método por cromatografia em fase gasosa.*
57. M.D. Geraldo, M.I. Montenegro, *Electroanalysis*, **9** (1997) 877.
58. P.C. Martins, M.J. Medeiros, M.I. Montenegro, *Electrochemical Behaviour of Hexachlorocyclohexane, Portugaliae Electrochimica Acta*, **17** (1999) 319.
59. M.I. Montenegro, I.A. Pinho, M.J. Vieira, *Electrochemical Detection of Biofilms, Portugaliae Electrochimica Acta*, **17** (1999) 209.
60. A. Rodrigues, M.D. Geraldo, M.F. Bento, F. Cássio, *Avaliação do Crescimento Microbiano através de Métodos Electroquímicos*, SPQ – Analítica 99, Coimbra, 1999.

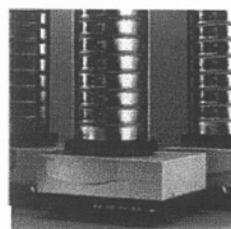
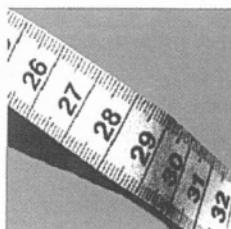
Retsch



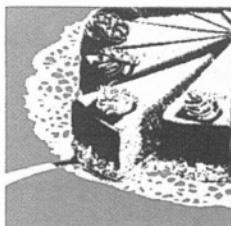
Moinhos



Agitadores de peneiros/peneiros



Divisores de amostras



Análise granulométrica automática CAMSizer / CRYSZizer



Peça-nos o contacto do agente mais próximo, através dos telefones:

01-352 72 93

02-948 68 68

O Importador Exclusivo

LISBOA

PORTO

Campo Mártires da Pátria, 109

Rua de Real, 1210 - A/B - Moreira

<http://www.en-equipamentos.pt>

Utilização Racional de Recursos - Um projecto CTS na área da Química

ANTÓNIO JOSÉ M. A. FERREIRA *

Relata-se a execução de um projecto pedagógico de elaboração e afixação de autocolantes com mensagens indutoras de comportamentos conducentes à utilização racional de recursos.

Com base nas ideias preconizadas neste projecto, sugere-se a racionalização dos consumos em actividades laboratoriais de Química, nomeadamente no que se refere ao uso de água purificada (destilada e desionizada).

A sociedade actual coloca à nossa disposição água potável, energia eléctrica, gás, papel e muitos outros recursos sem os quais não nos imagináramos a viver. No entanto, estes produtos, que rotulamos de básicos, são desperdiçados sem pensarmos que o preço que por eles pagamos é apenas simbólico, se tivermos em consideração, por um lado, a sua importância para a nossa comodidade e conforto e, por outro, o impacto que a sua utilização provoca no meio ambiente.

Sem prescindirmos da sua utilização, importa racionalizar o consumo, de modo a evitar gastos desnecessários e, directa ou indirectamente, efeitos perniciosos no nosso bem estar.

1. Concurso de elaboração de autocolantes

No ano lectivo 1996/97, a equipa do PVE¹ da Escola Secundária de Cantanhede iniciou a elaboração, reprodução e afixação de vários autocolantes com mensagens sensibilizadoras para uma utilização racional de recursos. Esta acção teve por objectivo alertar os alunos mais directamente envolvidos no projecto, bem como a comunidade escolar e a população em geral, para a necessidade de utilizar racionalmente os vários recursos disponíveis: água, electricidade, corrector, etc.

A principal actividade consistiu num concurso de elaboração de maquetes para autocolantes. Com base num texto introdutório e num slogan concreto sobre ambiente/saúde, os alunos teriam que ilustrar convenientemente uma maquete. As me-

lhores maquetes seriam depois reproduzidas como autocolantes.

O primeiro trabalho proposto referia-se à utilização racional de corrector e apresentava o seguinte texto introdutório:

Por vezes, o corrector contém 1,1,1-tricloroetano que destrói a camada de ozono (tem um efeito semelhante ao dos CFCs). Além disso, esta substância é nociva por inalação.

Para a substituir, utilizam-se o metilciclohexano e o dimetilbenzeno que, embora não destruam a camada de ozono, são prejudiciais à saúde quando inalados.

Por isso, debes evitar utilizar corrector, para protegeres a tua saúde e a camada de ozono.

Os participantes eram convidados a completar a maquete da figura 1.

Mais tarde, foi sugerido outro trabalho respeitante à necessidade de poupar água em que o texto introdutório era:

A água potável é um recurso imprescindível à vida. No entanto, não é um bem inesgotável. Quanto maior for o consumo, mais difícil será captar, tratar e distribuir água de boa qualidade. Assim, cada vez que poupar água, estarás a contribuir para que aquela que consumes seja de boa qualidade. Estarás também a contribuir para um ambiente melhor.

Um somatório de pequenas poupanças individuais originará uma grande poupança global, que evitará o empobrecimento e degradação deste recurso tão precioso.

A este texto correspondia a maquete da figura 2.

Os textos introdutórios e slogans das maquetes foram elaboradas pelos responsáveis da campanha, o que permitiu garantir a objectividade e o rigor científico das mensagens transmitidas.

Nesta fase, participaram 75 alu-

nos. Das 84 maquetes obtidas, foram seleccionados e premiados os trabalhos apresentados nas figuras 3 e 4.

Numa segunda fase, os trabalhos seleccionados foram reproduzidos e afixados em locais estratégicos, ou seja, nos locais de consumo habitual (mesas das salas de aulas, junto a torneiras, etc.).

O projecto descrito realizou-se no âmbito das actividades curriculares de várias disciplinas de Química, sendo alguns conteúdos, subjacentes às mensagens transmitidas, abordados com o enquadramento curricular apresentado na tabela 1.

Foi possível explorar alguns aspectos relevantes do quotidiano relacionados com o ambiente, a saúde e o consumo, integrando-os com conteúdos da área da Química. Esta abordagem constituiu um exemplo concreto de ensino de ciências segundo a perspectiva CTS (Ciências, Tecnologia e Sociedade).

Este projecto poderá continuar com a elaboração e afixação de outros autocolantes. Na figura 5, reproduz-se a maquete sobre o tema *Poupança de Energia* que deverá ser acompanhada pelo seguinte texto:

A energia é um bem indispensável, mas a sua produção e utilização provoca um impacto ambiental, quer a nível local, quer a nível global, que não pode ser ignorado.

A utilização de combustíveis fósseis, para obter energia (eléctrica, mecânica, etc.), implica que sejam emitidos para a atmosfera gases como o CO₂, responsável pelo efeito de estufa, ou SO₂ e NO_x responsáveis pelo fenómeno das chuvas ácidas.

Os gases de escape produzidos pelos automóveis criam problemas localizados de poluição que provocam ou agravam doenças respiratórias e cujo o exemplo extremo é o Smog.

Tabela 1 – Enquadramento curricular das actividades

Disciplina/Ano	Unidade/Conteúdo
Ciências Físico-Químicas/9º ano	Atmosfera e Mudanças de Tempo/Buraco do Ozono
Técnicas Laboratoriais de Química/Bloco II	Reacções de Síntese/Síntese Orgânica
Técnicas Laboratoriais de Química/Bloco III	Ar/Tipos de poluentes e fontes de poluição Água/Tipos de poluentes e fontes de poluição

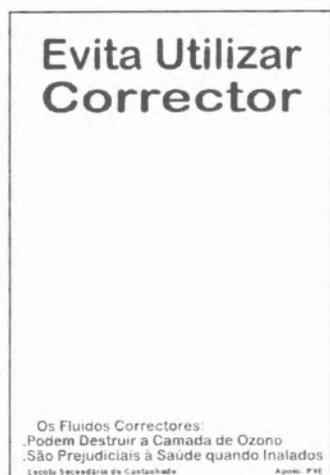


Figura 1



Figura 2

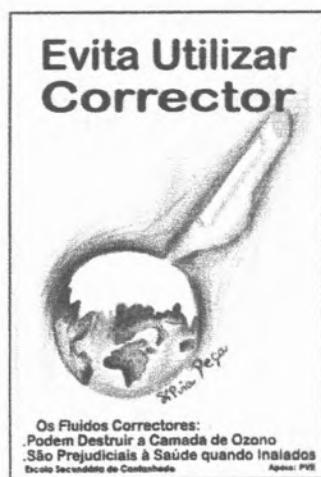


Figura 3



Figura 4



Figura 5

Poupar energia contribui para atenuar estes problemas ambientais.

2. Poupar Recursos no Laboratório de Química - O caso da água purificada.

Em simultâneo com esta acção, foram adoptados vários procedimentos com o objectivo de estimular práticas de poupança de recursos durante as aulas experimentais de Química, espaço privilegiado para colocar em prática as atitudes e valores que se pretendiam promover através da já referida campanha de elaboração e afixação de autocolantes.

Destes procedimentos, parece-nos importante destacar a reformulação levada a cabo na lavagem do material de laboratório, que foi repensada à luz da necessidade de poupar os recursos disponíveis, nomeadamente, no que se refere à utilização de água purificada (destilada e desionizada).

É sabido que a água purificada tem custos bastante elevados, quer económicos, quer ambientais.² Para produzir água destilada no laboratório, é preciso consumir energia eléctrica para obter vapor de água, além de ser necessário utilizar um volume de água bastante grande para provocar a condensação desse vapor. Também a produção de água desionizada tem custos consideráveis, decorrentes do consumo ou da regeneração das resinas de troca iónica.³

Quantas vezes não acontece o episódio caricato da proveta, que é utilizada para medir água destilada, e, depois, é cuidadosamente lavada com água e detergente, passada várias vezes por água corrente e, no final, por água destilada! Ou aquele copo de precipitação, que é tão demoradamente lavado e seco..., para depois ser utilizado num simples banho de aquecimento. São dois exemplos de gasto desnecessário de recursos e de perda de tempo que é importante ultrapassar.

Para evitar este tipo de situações, os alunos foram convidados a planear e a realizar as suas actividades laboratoriais (nas quais incluímos a correcta limpeza de todo o material), atendendo não só à necessidade de evitar contaminações e erros experimentais, mas também obedecendo a princípios básicos da economia de recursos e de produtividade individual.

Em vez de partirmos do princípio enunciado em várias oportunidades: *todo o material deve ser cuidadosamente lavado antes de se dar início ao trabalho*, preferimos antes colocar algumas questões mais pertinentes:

1º A qualidade dos resultados experimentais, que pretendemos obter, está dependente de contaminações provocadas pelo material que vamos utilizar? Em caso afirmativo, qual o material que necessita ser cuidadosamente lavado?

Na generalidade dos trabalhos de Síntese Química e Operações Unitárias, não constatámos alterações na qualidade dos resultados obtidos, devido à utilização de material lavado sem cuidados especiais de descontaminação.⁴

Seleccionámos as situações em que os resíduos de lavagem (resíduo seco, detergente) pudessem constituir contaminantes para os nossos trabalhos, o que se restringiu a alguns trabalhos de Análise Química (Qualitativa e Quantitativa).

2º A água purificada utilizada na lavagem será, ela própria, um factor de contaminação? Será a secagem o único processo de eliminar essa água?

Por ser um processo bastante demorado, quase nunca utilizámos a estufa para secar material. Preferimos secar o material descontaminado utilizando papel absorvente.

Nas titulações, depois de lavadas com água purificada, as buretas eram enxaguada várias vezes com a solução titulante, o que é um procedimento já bastante conhecido de eliminação da água de lavagem. No entanto, não vimos necessidade de secar o recipiente para onde se media o líquido a titular (erlemmeyer, copo).

3º Que material deve ser limpo antes do trabalho para evitar contaminações de reagentes? E qual deve ficar cuidadosamente limpo no final do trabalho, de modo evitar contaminações de reagentes, contaminações em trabalhos futuros ou danos no equipamento?

Optámos por lavar com água purificada e secar, cuidadosamente, com papel absorvente, as espátulas antes da manipulação de reagentes sólidos a partir dos recipientes de armazenamento.

O procedimento, bastante difundido, de passar por água purificada todo o material lavado no final do trabalho, foi por nós abandonado. Esta acção pareceu-nos muito pouco proveitosa para a generalidade dos trabalhos laboratoriais e bastante desvantajosa do ponto de vista ambiental. Na verdade, o material ficava,

frequentemente, semanas ou meses inactivo e sujeito a todo o tipo de contaminações ambientais (poeiras, salpicos, etc.)

A única excepção a esta regra foram as pipetas. As pipetas são frequentemente utilizadas na medição de reagentes e em trabalhos quantitativos. O facto de a sua secagem ser difícil e demorada torna trabalhoso a sua preparação imediatamente antes da utilização.⁵ Por isso, depois de usadas, foram sempre lavadas, passadas por água destilada e deixadas a secar no seu suporte.

Os eléctrodos, as células espectrofotométricas, células de polarímetros, etc. foram sempre limpos e arrecadados, seguindo as instruções dos respectivos fabricantes.

Conclusão

O ensino/aprendizagem da Química fornece-nos algumas pistas, que permitem repensar a utilização de recursos à luz da necessidade de preservar o meio ambiente e de melhorar a nossa qualidade de vida.

É possível alterar a utilização desses recursos em trabalhos laboratoriais de Química, de modo a racionalizar o seu consumo. Por exemplo, a maioria dos trabalhos experimentais, realizados nas disciplinas de Química do Ensino Secundário, requerem material devidamente lavado, mas dispensam qualquer descontaminação (lavagem com água destilada ou desionizada). Deve, no entanto, considerar-se sempre a necessidade de descontaminar o equipamento utilizado na manipulação de reagentes a partir dos recipientes onde estes estão armazenados.

Para os trabalhos experimentais em que haja necessidade de proceder a uma descontaminação cuidada do material, é preferível integrá-la no próprio procedimento experimental.

Agradecimentos:

O autor gostaria de manifestar o seu agradecimento à entidade financiadora (PVE - PPES). Agradece ainda aos elementos da equipa do PVE da Escola Secundária de Canta-

nhede e às autoras das maquetes vencedoras do concurso: as alunas Sílvia Peça e Leonor Moura. Só com o empenho e dedicação de todos eles foi possível concretizar este projecto.

* *Escola Secundária de Cantanhede
Complexo Escolar – 3060 Cantanhede
E-mail: ajmaferreira@ip.pt*

- 1 Projecto "Viva a Escola" - Programa de Promoção e Educação para a Saúde - Ministério da Educação.
- 2 A água destilada ou desionizada obtida no comércio fica cerca de mil vezes mais cara que a água da rede de abastecimento público!
- 3 Recorde-se que, para determinados trabalhos laboratoriais que envolvem, por exemplo, cromatografia, ou espectroscopia é absolutamente necessário utilizar águas especialmente purificadas. Esta água tem frequentemente custos mais elevados do que muitos dos reagentes comuns.
- 4 Entende-se aqui por *descontaminação* a habitual passagem por água purificada.
- 5 A pipeta pode ser preparada antes do trabalho, enxaguando várias vezes com a solução a medir. No entanto, este procedimento pareceu-nos ser difícil e demorado. Além disso envolve gastos adicionais de reagente, gerando quantidades consideráveis de resíduos. Deixamo-lo apenas para situações especiais.

BIBLIOGRAFIA

1. Becker, H. G. O. et. al., *Organikum - Química Orgânica Experimental*, Fundação Calouste Gulbenkian, 1997.
2. Instituto Nacional do Ambiente, *Ozono - Convenção e Protocolo*, 1988.
3. Manahan, S. E., *Fundamentals of Environmental Chemistry*, Lewis Publishers, 1993
4. Martins, I. P., Veiga, M. L., *Uma Análise do Currículo da Escolaridade Básica na Perspectiva da Educação em Ciências*, Instituto de Inovação educacional, 1999.
5. Price, B., *ABC da Poluição*, Publicações Dom Quixote, 1994
6. Simões, T. S., Queirós, M. A., Simões, M. O., *Técnicas Laboratoriais de Química Bloco I*, Porto editora, 1999.
7. Silva, R. R., Bocchi, N., Filho, R. C. R., *Introdução à Química Experimental*, McGraw-Hill, 1990.
8. Vogel, A. et al., *Análise Inorgânica Quantitativa*, Editora Guanabara, 1981.

Sobre o Ensino da Química a Estudantes das outras Licenciaturas no Instituto Superior Técnico[†]

VIEIRA FERREIRA*, A. M. BOTELHO DO REGO*

O ensino da Química no Instituto Superior Técnico, nos cursos de Engenharia que não o de Química, tem tido a perspectiva de dar ao aluno uma formação básica sobre a constituição e as transformações da matéria. Procura-se explicar as bases da ligação química nas suas componentes covalente, iónica e metálica, bem como a natureza das forças intermoleculares, sempre na perspectiva de as relacionar com as propriedades dos materiais. A ligação química é apresentada de uma forma unificada, o que permite uma racionalização muito maior do que a abordagem em compartimentos estanques, aparecendo as suas componentes clássicas – covalente, iónica e metálica – como casos limites, passíveis de simplificações consideráveis relativamente ao caso geral. A ideia que preside à elaboração dos programas em vigor é a de fornecer a qualquer Licenciado em Engenharia a formação que lhe permita com facilidade entender questões com que vai contactar no seu dia-a-dia profissional, como por exemplo a da corrosão dos materiais, a da utilização de um dado polímero ou de um solvente para este ou aquele fim, o porquê de certos materiais serem corados e outros incolores, ou o aparecimento de determinado poluente numa dada indústria.

INTRODUÇÃO

Começamos por contar uma pequena história, por sinal verídica: um construtor civil sem formação académica, mas com amplo sucesso profissional e financeiro, decidiu construir a sua própria casa, uma vivenda, para a qual comprou os melhores materiais do mercado. Assim, para as canalizações de água usou o melhor ferro galvanizado. Para evitar

as faltas de água que aconteciam com alguma frequência na zona, decidiu instalar no sótão um tanque no melhor aço inoxidável, que entrava em funcionamento sempre que ocorria uma falta de água. Ao fim de poucos anos constatou que a sua canalização estava esburacada em inúmeros pontos sem ele saber porquê, enquanto que o tanque se mantinha em excelente estado.

Um aluno com bom aproveitamento na cadeira de Química Geral explicaria ao construtor que, ao associar o ferro galvanizado ao aço do tanque, ele formou uma pilha em que o cátodo era o tanque e o ânodo o zinco da galvanização, e que a corrosão ocorrida foi de natureza electroquímica. Foi ele mesmo que provocou uma oxidação acelerada nos canos, ao obrigá-los a funcionar como ânodos da pilha electroquímica que, sem saber, construiu. Bastaria ao construtor ter intercalado uma anilha num material isolante, evitando o contacto eléctrico entre os canos e o aço inoxidável do tanque, para a sua canalização ter durado muitos anos.

Este exemplo é claro quanto à importância de uma pequena introdução ao estudo da electroquímica, que por sua vez está na base da compreensão da corrosão electroquímica. Mas para isso é preciso compreender o equilíbrio químico e o modo como as reacções químicas evoluem perante os mais variados estímulos: variações de pH, temperatura, pressão, etc.. Vamos ver então qual a estrutura actual de um curso de Química Geral dado num semestre no IST.

Programa actual de um Semestre de Química Geral no IST: O número de aulas teóricas num semestre actual é de cerca de 36, ao ritmo de três aulas teóricas e de uma hora teórico-prática semanal. As aulas laboratoriais (em média uma hora semanal) exemplificam alguns dos temas apresentados nas teóricas e, em muitos casos, são o primeiro contacto dos estudantes com um laboratório e com

técnicas laboratoriais básicas (pesagens, manipulação de material corrente de vidro, preparação de soluções de concentração rigorosa, etc).

A matéria é esquematicamente dividida em dois blocos embora se vá sempre fazendo notar ao aluno que esses blocos não são estanques e que cada um precisa de “inputs” do outro. Um dos exemplos mais flagrantes é a necessidade de recorrer a conceitos termodinâmicos (incluídos no Bloco 2) para explicar propriedades físicas dos materiais tais como pontos de ebulição, de fusão, miscibilidades (incluídas no Bloco 1). Segue-se o conteúdo de cada um deles, também apresentados nos esquemas 1 e 2.

BLOCO DA CONSTITUIÇÃO DA MATÉRIA

1 - Noções complementares sobre o átomo.

1.1 - Radiação electromagnética. Equação de onda do electrão. Tipos de orbitais e estrutura electrónica dos átomos. **(3 aulas)**.

1.2 - Propriedades periódicas dos átomos. Tabela periódica. Carga nuclear efectiva (Regras de Slater). Tamanho, energia de ionização, electroafinidade e electronegatividade. **(3 aulas)**.

2 - Introdução ao estudo da ligação química.

2.1 - Modelos da ligação química. Teoria das orbitais moleculares (TOM) pela aproximação da C.L.O.A. e teoria do enlace de valência (TEV). **(1 aula)**.

2.2 - Moléculas diatómicas homonucleares. Modelo covalente. **(2 aulas)**.

2.3 - Moléculas diatómicas heteronucleares. Momento dipolar. O caso limite do modelo da ligação iónica. Bandas de valência e de condução. **(2 aulas)**.

2.4 - Moléculas poliatómicas. Conceito de hibridação. Conceito de deslocalização. O caso limite da ligação metálica. Exemplos. Estudo de moléculas simples (H_2O , NH_3 , CH_4 , C_2H_4 , C_2H_2 , benzeno, grafite). Polaridade das moléculas. (4 aulas).

2.5 - Forças intermoleculares. Ligações de Van der Waals e ligação de hidrogénio. Propriedades físicas dos agregados moleculares. Ponto de fusão e de ebulição. Viscosidade. Tensão superficial e capilaridade. (3 aulas).

Gases. Equação de estado dos gases perfeitos. Desvios à idealidade. Equação de Van der Waals. (1 aula).

2.6 - Polímeros. Polímeros sintéticos e naturais. Exemplos. Polimerização de adição e condensação. Temperaturas de fusão e transição vítrea. (2 aulas).

2.7 - Compostos iónicos. Estrutura de bandas. Energia reticular e estabilidade. Propriedades. Silicatos e vidros. (3 aulas).

2.8 - Estruturas de metais e estudo da ligação metálica. Propriedades eléctricas. Condutores, semicondutores e isolantes. (3 aulas).

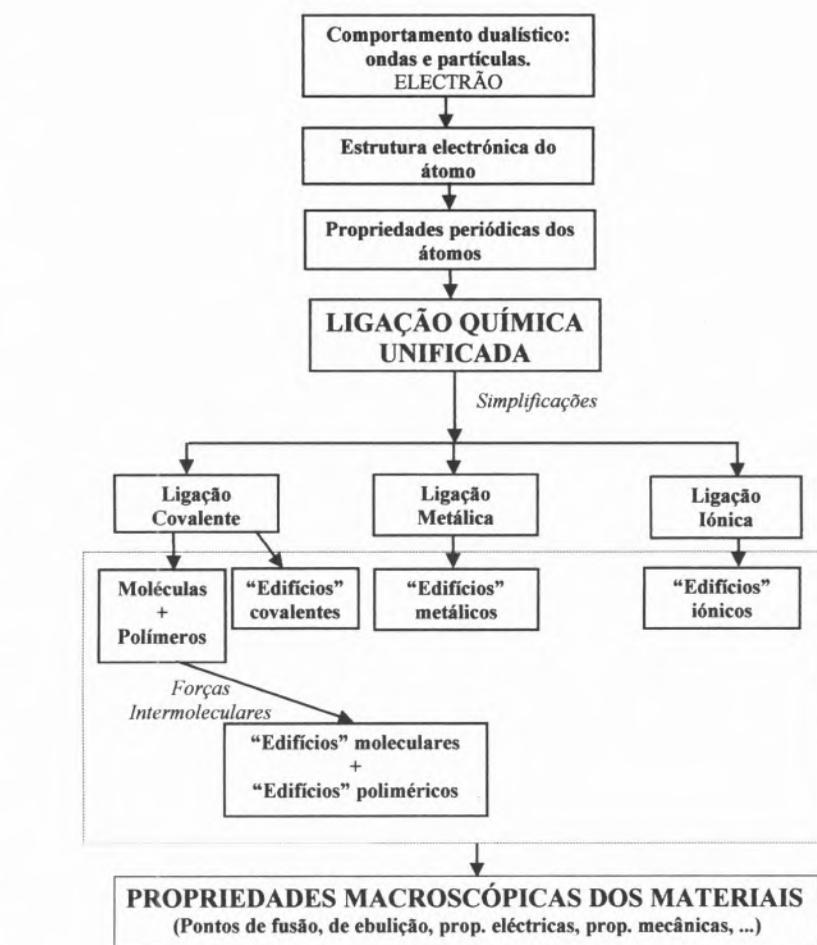
BLOCO DAS TRANSFORMAÇÕES DA MATÉRIA

3 - Introdução ao estudo da termodinâmica química e do equilíbrio químico.

3.1 - Conceitos fundamentais. 1º Princípio da Termodinâmica. Energia interna. Entalpia. C_p e C_v . Lei das aditividades. (1 aula).

3.2 - 2º Princípio da Termodinâmica. Entropia. Energia de Gibbs e potencial químico. Condição de equilíbrio. (2 aulas).

3.3 - Equilíbrio químico. Sistemas gasosos ideais e reais. Sistemas heterogéneos. Reacções em solução. Reacções ácido-base. Cálculo do pH. Reacções de precipitação. Solubilidades. (2 aulas).



Esquema 1

3.4 - Breve introdução à cinética química. Velocidade das reacções e equações cinéticas. (1 aula).

4 - Electroquímica e corrosão.

4.1 - Reacções de oxidação-redução. (2 aulas).

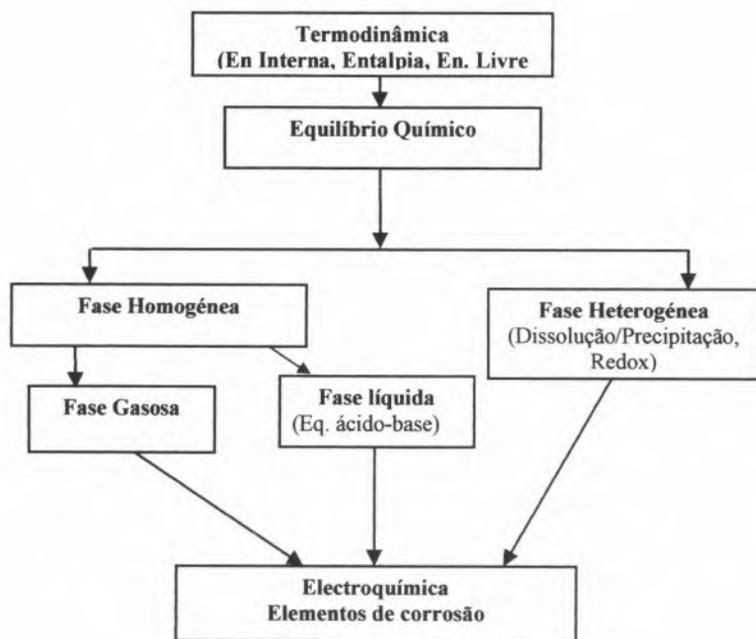
4.2 - Introdução à electroquímica. Potencial de eléctrodo. Equação de Nernst. Escala electroquímica dos materiais. (2 aulas).

4.3 - Corrosão electroquímica. Métodos de protecção contra a corrosão dos materiais. (3 aulas).

Total: 34 aulas

O primeiro tema, as noções com-

plementares sobre o átomo, é indispensável ser leccionado a partir de um modelo tão recuado (o de Bohr), dada a grande heterogeneidade de conhecimentos que os alunos apresentam à chegada ao IST. Se os alunos que frequentaram o 12º Ano de Química no Ensino Secundário já tiveram uma boa preparação em Química, e estes oscilam normalmente entre os 40 e 50% do contingente que entra em cada ano escolar, já aqueles cuja frequência não ultrapassou o 10º e 11º em Química chegam à Universidade com uma formação muito fraca e dependente da escola e turma frequentadas (a avaliação não é a nível nacional neste caso e é feita de acordo com a matéria leccionada por um dado professor numa dada turma).



Esquema 2

As aulas são iniciadas com uma exposição breve sobre radiação electromagnética e absorção da radiação pela matéria (o problema da cor das substâncias). Apresenta-se o *modelo de Bohr* para o estudo de átomos hidrogenóides que antecede a apresentação do *modelo quântico do átomo*, onde se introduz o conceito de orbital atómica. O salto para o modelo quântico (indispensável para a abordagem unificada da ligação química) é dado através da hipótese de De Broglie e da consequente descrição dualística da matéria microscópica. As *propriedades periódicas* dos elementos são racionalizadas com base nesse modelo.

A ligação química é apresentada sempre com o duplo objectivo de racionalizar a arquitectura atómica e/ou molecular dos materiais e a sua estrutura electrónica. Os *modelos quânticos de ligação* química são apresentados partindo da situação mais simples possível, a molécula com apenas dois átomos iguais (diatómica homonuclear) até à situação mais complexa de um grande conjunto de

átomos diferentes (moléculas poliatómicas para diferenças de electronegatividade baixas, cristais iónicos para diferenças de electronegatividade altas) ou de um grande conjunto de átomos iguais. Neste último caso, podem ainda distinguir-se dois casos limites: electronegatividades altas (limite dos cristais covalentes) e electronegatividades baixas (limite dos cristais metálicos). Apresentam-se as bandas de valência ou de condução em isolantes, condutores e semicondutores. O estudo mais detalhado das situações limite é deixado para mais tarde, continuando-se aqui apenas o estudo das moléculas poliatómicas. São então abordadas as questões da polaridade, o conceito de hibridação e apresentam-se as bandas de valência ou de condução em isolantes, condutores e semicondutores.

Assume particular importância o estudo das *forças intermoleculares*, que envolvendo energias inferiores às das ligações covalentes, iónicas ou metálicas são no entanto essenciais para a justificação do estado de agre-

gação dos materiais moleculares, nomeadamente para justificar o facto de as substâncias moleculares poderem ser sólidas, líquidas ou gasosas à temperatura ambiente.

De entre os compostos moleculares, os *polímeros* são objecto de um estudo preferencial, pois são, por um lado, excelentes exemplos de moléculas com importantes forças intermoleculares e, por outro lado, são, muitos deles, materiais da maior importância em engenharia. Porque é que o polietileno pode aparecer sob a forma de um simples saco de plástico transparente, flexível e pouco resistente, ou sob formas de muito maior resistência usadas no fabrico de tubagens para transporte de água de consumo a grandes distâncias ou em depósitos de combustível nas nossas viaturas? Porque é que polímeros como o Kevlar apresentam resistência suficiente para serem usados no fabrico de cabos de alta resistência ou de coletes anti-bala? Porque é que o teflon (politetrafluoretileno) é das substâncias mais inertes do ponto de vista químico que se conhecem, excelente isolante eléctrico, autolubrificante e altamente resistente a elevadas temperaturas? Tudo isto são questões cuja resposta passa pelo conhecimento das forças intermoleculares em causa em cada caso, e relativamente fáceis de responder para um bom estudante de Química Geral.

As propriedades de *compostos iónicos* (dureza, fragilidade, condutividade eléctrica, supercondutores) e dos *metais* (a maleabilidade e a ductibilidade), o facto de alguns metais serem tão macios que se cortam com garfo e faca, como o sódio, e de outros, como o tungsténio serem tão duros que se usam em ferramentas de corte, tudo isto são questões que se abordam, no contexto da ligação química, de uma forma relativamente simples. Porque é que o único metal líquido à temperatura ambiente é o mercúrio...? Os bons alunos de QG do IST, sabem!

O conceito de *equilíbrio em química* é essencial. Em que sentido se desloca uma reacção química e porquê? Porque é que certas reacções libertam tanto calor que ocorrem sob a forma de uma explosão?

A resposta a estas questões é também trivial desde que ao aluno seja apresentada uma *breve introdução à termodinâmica química*, com a apresentação das funções de estado termodinâmicas e nomeadamente o calor de reacção a pressão constante (variação entálpica) e a energia livre de Gibbs contendo a informação entálpica e entrópica essenciais para o avaliação da evolução espontânea de uma reacção num dado sentido.

É assim possível abordar questões como a da solubilidade de sais, a maior ou menor acidez de uma água (questões importantes quanto à qualidade das águas a usar por exemplo no fabrico de um betão) e muito em especial as reacções que envolvem oxidações e reduções. Faz-se assim uma breve introdução à electroquímica com a apresentação das pilhas mais comuns de composição, de concentração, de tensão e de temperatura. Estão pois lançadas as bases para a compreensão das inúmeras situações práticas de *corrosão* (com base electroquímica) que o futuro Engenheiro irá enfrentar no seu dia-a-dia profissional. Muitos métodos de protecção contra a corrosão baseiam-se na formação forçada de pilhas em que o cátodo é a peça a proteger (a galvanização do ferro, os eléctrodos de sacrifício em navios, a protecção por corrente imposta são exemplos).

Inserção da Química Geral em alguns cursos no IST: a cadeira de Química (ou Química Geral) é uma cadeira semestral que, dados no 1º ou no 2º semestre, faz parte do curriculum do 1º ano de várias Licenciaturas no IST, como por exemplo as Engenharias Civil, Mecânica, Electrotecnia e Computadores, Aeroespacial, Física Tecnológica, Ambiente, Naval,

Território, Minas e Gestão Industrial. Antecede frequentemente as cadeiras de Materiais dadas no 2º ou no 3º ano destas Licenciaturas; de igual modo é importante como introdução a cadeiras ligadas ao ambiente ou à poluição dadas nalguns destes cursos.

A Licenciatura em Arquitectura, que tem as cadeiras de Materiais (2º Ano, 1º Semestre), Ambiente (4º Ano, 2º Semestre) Conservação e Restauro (4º Ano, 2º Semestre) não inclui no seu Curriculum uma cadeira de Química a anteceder estas matérias, o que no contexto atrás referido não faz sentido. O mesmo comentário se poderia fazer em relação a algumas outras Licenciaturas desta casa. Como é possível conceber um engenheiro ou um arquitecto que não lide com materiais?

Os programas de Química, dados nas diferentes licenciaturas, têm o tronco comum acima apresentado, mas são diferenciados consoante a licenciatura. No bloco da Ligação Química, a diferenciação ocorre essencialmente através da escolha das propriedades concretas a estudar. Assim, e para o caso específico de Civil, enfatiza-se a racionalização das propriedades físicas (durezas, pontos de fusão, de transição vítrea, ...) dos polímeros e dos compostos iónicos que têm mais a ver com as questões de arquitectura atómica e molecular dos compostos do que com a sua estrutura electrónica. Já para o curso de Electrotecnia, por exemplo, o acento tónico é posto na racionalização das propriedades de condução que têm mais a ver com a estrutura electrónica. No domínio das transformações, a diferenciação ocorre sobretudo através da ênfase que se dá às reacções ocorrendo em diferentes fases: no curso de Eng. Civil privilegia-se o estudo das reacções em fase líquida que têm implicações em fenómenos como a solubilização, a precipitação, a acção dos ácidos e das bases sobre as transformações químicas e, em particular, as reacções de oxí-redução que fundamentam os

fenómenos da corrosão electroquímica. Já em Mecânica, as reacções em fase gasosa têm também um papel preponderante pela sua importância para o estudo da combustão, por exemplo.

CONCLUSÕES

Uma formação sólida nas bases da Química (em paralelo com uma forte formação em Matemática e Física) é essencial para que um profissional de engenharia possa compreender as propriedades dos materiais com que trabalha no dia a dia. Sem o entendimento dos princípios da ligação química, os materiais seriam caixas pretas com comportamentos tão diversos como inexplicáveis. Seria certamente muito vantajoso que a disciplina de Química do 12º ano fosse considerada obrigatória para acesso aos cursos de Engenharia desta escola, o que permitiria elevar o nível de formação de todos os profissionais saídos do IST.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos muitos colegas docentes do IST que passaram pelo grupo de cadeiras da Química Geral e colaboraram para que a cadeira tivesse a estrutura viva e actualizada que hoje possui. Em especial agradecem ao actual Reitor da UTL, Prof. Lopes da Silva, responsável deste grupo de cadeiras até 1999, o ter sabido criar um grupo de trabalho sólido, ao qual temos orgulho de pertencer há muitos anos.

** Este texto foi apresentado sob a forma de Comunicação Oral no Seminário organizado pelo Departamento de Engenharia Civil do Instituto Superior no dia 25 de Janeiro de 2000 e subordinado ao tema "O ensino das Ciências Básicas (Matemática, Física e Química) nas licenciaturas do DECivil: Conciliar rigor formal com valor instrumental".*

Como utilizar a espectroscopia de Mössbauer para desvendar estruturas e segredos catalíticos de enzimas que contêm ferro

ALICE S. PEREIRA e PEDRO TAVARES*

INTRODUÇÃO

O ferro é um dos metais de transição da tabela periódica mais abundantes e disponíveis na Crusta Terrestre, não sendo, por isso, surpreendente a sua vasta incorporação em muitos sistemas biológicos. Existem dois grandes grupos de proteínas que contêm ferro: as proteínas hémicas e as proteínas de ferro não-hémico. Ao primeiro grupo pertencem as proteínas que possuem ferro inserido num anel tetrapirrólico polidentado, tal como as porfirinas. Ao segundo grupo pertencem todas as proteínas de ferro que não se inserem no primeiro, desde as proteínas de ferro-enxofre (1, 2) às proteínas que contêm centros binucleares do tipo μ -oxo (3, 4).

A diversidade funcional dos centros de ferro não-hémico, que vai da manutenção da integridade estrutural à catálise, constitui a força motriz para o empenho dos investigadores no estudo dos mesmos. A compreensão da relação estrutura-função, isto é, da estrutura física do sítio metálico e da estrutura electrónica do metal em função do papel biológico da proteína, é de extrema importância no sentido de compreender o que modela a sua função. Para tal, numerosos métodos físicos e espectroscópicos têm sido aplicados no seu estudo. Recentemente a determinação das estruturas cristalográficas de muitas proteínas tem facilitado a interpretação dos centros metálicos (5, 6). No entanto, muito fica por conhecer sobre o seu comportamento. Uma estrutura cristalográfica dá-nos uma ideia do centro activo num processo estático, nada se podendo estabelecer sobre as alterações sofridas pelo centro durante um processo dinâmico. Esta informação só pode ser obtida pela aplicação de técnicas espectroscópicas. Por exemplo, no estudo de centros metálicos de ferro com função catalítica, é muito provável que alguns dos intermediários envolvam complexos metal-ligando com estados de valência elevada, sobre os quais muito pouco continua a ser conhecido. O uso das

técnicas espectroscópicas possibilita a obtenção de informação sobre o envolvimento destes intermediários de valência elevada na catálise, através da caracterização das propriedades magnéticas do sítio metálico. Como o comportamento magnético de um metal é uma consequência directa da sua estrutura electrónica, a caracterização magnética do centro metálico implica a caracterização da estrutura electrónica do mesmo.

A ESPECTROSCOPIA DE MÖSSBAUER

A técnica espectroscópica que permite adquirir maior informação sobre proteínas que contêm cofactores de ferro é a espectroscopia de Mössbauer. Para uma revisão à espectroscopia de Mössbauer, o leitor é aconselhado a consultar algumas referências que abordam detalhadamente os fundamentos e aplicações gerais desta técnica (7-11). No âmbito deste artigo serão apenas abordadas algumas noções necessárias à compreensão dos sistemas aqui apresentados.

A espectroscopia de Mössbauer é uma forma de espectroscopia de ressonância nuclear, que utiliza uma fonte de ^{57}Co para gerar a absorção ressonante no núcleo do átomo de ^{57}Fe . O decaimento da fonte de ^{57}Co num estado excitado do núcleo de ^{57}Fe e posterior decaimento deste ao seu estado fundamental, emite uma partícula γ , com a energia de 14.4 keV. Como a energia de absorção dos núcleos de ^{57}Fe nas amostras em estudo depende do ambiente químico em que eles estão inseridos, é necessário fazer variar a energia da radiação monocromática da fonte. Tal é conseguido através do efeito de Doppler. Ao fazer vibrar a fonte, consegue-se fazer variar a energia da radiação e portanto satisfazer a condição de ressonância, observando-se picos de absorção característicos. Dos espectros, assim obtidos, podem-se determinar parâmetros típicos dos centros metálicos nas amostras em estudo. Estes parâmetros (desvio isomérico, desdobramento de quadrupolo,

desdobramento magnético) permitem obter, por exemplo, informação sobre o estado de oxidação e de spin dos átomos de ferro, o número e tipo de ligandos e a quantidade relativa de cada tipo de átomo de ferro e/ou agregados de átomos de ferro. Como exemplo podemos descrever as mudanças observadas no desvio isomérico (δ) de um centro monomérico de ferro. Este é o caso mais simples, pois este tipo de centros apresenta normalmente apenas dois estados de oxidação: férrico e ferroso. Nos sistemas de ferro não-hémico podemos ainda separar os centros monoméricos em dois tipos de coordenação diferente: *i*) tetraédricos e coordenados por enxofres cisteicos (tipo rubredoxina) e *ii*) penta ou hexacoordenados maioritariamente por oxigénios e azotos. Como se pode verificar na figura 1A, a uma diminuição do estado de oxidação e/ou aumento no número de coordenação corresponde um aumento no valor de desvio isomérico. Tal facto implica um aumento na energia necessária para satisfazer a condição de ressonância, que é directamente dependente da densidade dos electrões d do átomo de ferro (devido ao efeito de blindagem), da sua esfera de coordenação e da electronegatividade dos ligandos (7). Na figura 1B apresenta-se a correlação entre o desdobramento de quadrupolo e o desvio isomérico para sistemas de spin baixo e de spin alto. Neste artigo serão descritos vários exemplos de sistemas de spin alto. No entanto, sistemas de spin baixo são comuns em proteínas hémicas, tendo sido também observados em proteínas não-hémicas, tais como a hidratase do nitrilo ou as hidrogenases. É possível verificar que a correlação descrita permite identificar o tipo de sistema, bem como o estado de oxidação, dos co-factores de ferro em estudo.

Compreende-se, portanto, que a espectroscopia de Mössbauer seja extensivamente usada na caracterização das proteínas de ferro não-hémico, por permitir determinar o tipo de coordenação e o estado de oxidação dos co-factores presentes nessas pro-

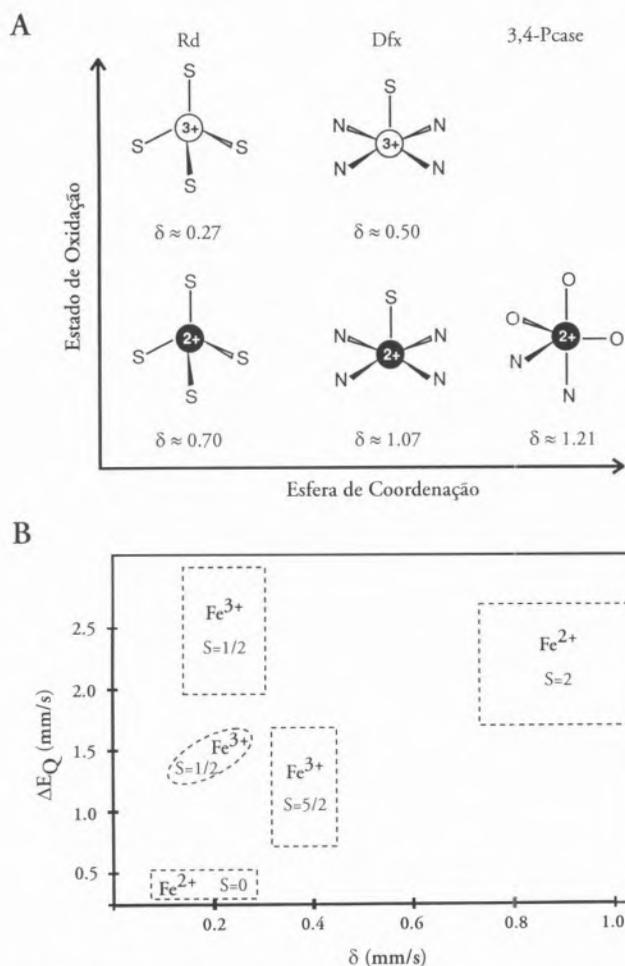


Fig. 1 - Efeito do estado de spin, estado de oxidação e esfera de coordenação dos átomos de ferro nos parâmetros de Mössbauer. Painel A - Variação do desvio isomérico, δ (mm/s), com o estado de oxidação e a esfera de coordenação para um centro de ferro monomérico. Rd - Rubredoxina, Dfx - Desulfoferrodoxina, e 3,4-Pcase - 3,4-Protocatequase. Painel B - Correlação entre o desdobramento de quadrupolo e o desvio isomérico para sistemas de spin baixo e de spin alto.

teínas independentemente do seu paramagnetismo.

A principal desvantagem desta técnica advém do facto do isótopo activo de ferro (⁵⁷Fe) ter uma abundância natural de apenas 2,2% e de serem necessárias concentrações deste na ordem dos milimolar para que se obtenham dados de boa qualidade. Para colmatar este problema têm sido desenvolvidos processos de enriquecimento em ⁵⁷Fe, que passam pela adição controlada do mesmo ao meio de crescimento bacteriano. Para proteínas cuja origem não seja bacteriana, é usual recorrer às técnicas de biologia molecular disponíveis para se obter sobre-expres-

são dos genes que codificam para as proteínas de interesse em bactérias (normalmente *Escherichia (E.) coli*). Em conjugação com cuidadosas técnicas de purificação e isolamento de proteínas é possível obter o material biológico necessário à realização de experiências tais como as que se descrevem neste artigo.

À DESCOBERTA DE NOVOS CO-FACTORES

Em 1992 foi publicado o isolamento a partir de extractos celulares de *Desulfovibrio (D.) desulfuricans* ATCC 27774 (uma estirpe bacteriana capaz

de reduzir sulfato ou nitrato) de uma nova proteína, de função desconhecida, que continha centros de ferro com características espectroscópicas peculiares (12). Esta proteína, mais tarde denominada fuscoredoxina (com base na sua cor acastanhada e nas capacidades de transferência electrónica), foi alvo de estudos espectroscópicos pormenorizados e a estrutura cristalográfica dos seus centros foi elucidada recentemente (13). Proteínas homólogas foram já identificadas em diferentes estirpes bacterianas, tais como *Thiobacillus ferrooxidans*, *Morganella morganii*, *Methanococcus jannaschii*, *Methanobacterium thermoautotrophicum* (DeltaH) e *E. coli*. (14-17). De entre estas, a fuscoredoxina de *E. coli* foi já clonada, sobre-expressa e caracterizada bioquímica e espectroscopicamente (18).

A espectroscopia de Mössbauer facilmente identificou a presença de dois tipos diferentes de centros (19). Observou-se que o centro 1, diamagnético na amostra nativa (i.e. resultante do processo de purificação) contribuía 50% para a absorção total e apresentava parâmetros típicos de um centro do tipo [4Fe-4S] no estado 2+. A segunda componente espectral, representando 50% da absorção total, foi atribuída ao centro 2, tendo sido possível constatar a sua interconversão em diferentes estados de oxidação.

Através da desconvolução dos espectros de Mössbauer de várias amostras preparadas por adição de agentes oxidantes ou redutores fracos à amostra nativa, foi possível verificar que, nestas condições, o centro 1 não era activo do ponto de vista de oxidação-redução e que o centro 2 poderia existir em três estados de oxidação diferentes, dependentes do potencial de oxidação-redução. No estado totalmente oxidado o centro 2 possui quatro átomos de ferro no estado férrico de spin alto ($S=5/2$), cujo acoplamento de spin dá origem a um centro diamagnético. A redução mono-electrónica do centro produz um estado paramagnético extremamente invulgar. Com efeito, um dos quatro ferros está agora no estado ferroso de spin

alto ($S=2$) e do espectro de Mössbauer é possível deduzir que o spin se encontra localizado. A figura 2 demonstra como é possível chegar a esta conclusão. O centro encontra-se agora num estado paramagnético com $S=9/2$, designado estado "1e-reduzido". No espectro de Mössbauer, adquirido a campo baixo, identificam-se quatro componentes de igual intensidade (um por cada ferro do centro) mas com diferentes valores de desvio isomérico, desdobramento de quadrupolo e desdobramento magnético. Com base nestes parâmetros é possível atribuir um tipo de coordenação, bem como um estado de oxidação, a cada ferro constituinte do centro. Pode-se agora correlacionar estes dados com a estrutura terciária obtida por cristalografia de Raios-X (13). Neste estudo os átomos de ferro do centro 2 foram designados por Fe₅, Fe₆, Fe₇ e Fe₈. De acordo com os parâmetros obtidos conclui-se que Fe₈ sofreu redução, enquanto que os restantes três ferros permaneceram no estado férrico. As constantes de acoplamento hiperfino observadas revelam que o sistema é bem descrito pelo seguinte esquema de acoplamento (ver figura 2). Os spins de Fe₈ ($S_1=2$) e Fe₆ ($S_2=5/2$) são paralelos e acoplados para formar um spin intermediário, S_A , igual a 9/2. Por sua vez S_A está antiferromagneticamente acoplado ao spin de Fe₅ ($S_3=5/2$) para originar outro spin intermediário, $S_B=2$. Finalmente, S_B encontra-se ferromagneticamente acoplado ao spin de Fe₇ ($S_4=5/2$), resultando num spin final igual a 9/2.

O que acontece se efectuarmos nova redução da amostra anterior? Amostras produzidas com um estado de oxidação mais baixo revelam que nestas circunstâncias ocorre a redução de Fe₇, obtendo-se um centro com igual número de iões ferrosos e férricos (designado por "2e-reduzido") com um spin total $S=4$. Este estado pode agora ser explicado por um esquema de acoplamento semelhante ao anteriormente descrito mas em que $S_4=2$.

Em amostras proteicas ainda mais reduzidas é possível identificar

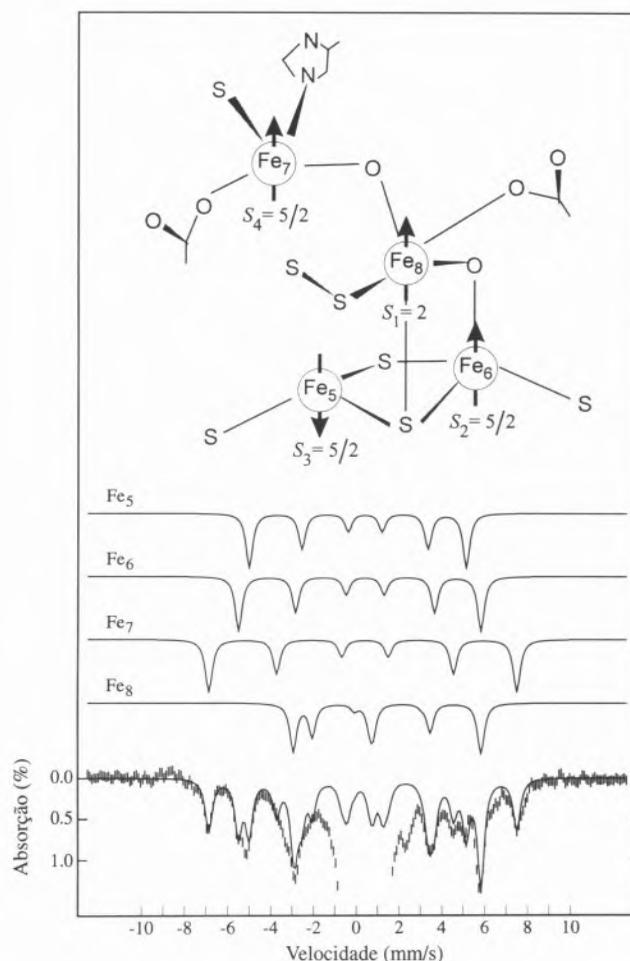


Fig. 2 - Espectro de Mössbauer da fuscoredoxina evidenciando a contribuição do centro 2 no estado "1e-reduzido", cuja representação esquemática é apresentada na parte superior da figura. O espectro foi adquirido na presença de um campo magnético baixo e a baixa temperatura (4.2 K, 0.5 mT). A linha sobreposta ao espectro experimental representa a soma das contribuições individuais dos diferentes átomos de ferro.

a presença de mais um ferro no estado ferroso (Fe₆). No entanto, para estes valores de potencial de oxidação-redução ocorre a transferência de um electrão para o centro 1, que passa ao estado [4Fe-4S]¹⁺, tornando-se paramagnético e dificultando a análise espectral.

Também no caso da ferroquelatase, enzima que catalisa o último passo da biossíntese do grupo hémico, foi através da espectroscopia de Mössbauer que se identificou a presença de um centro de [2Fe-2S] como parte integrante desta enzima (20). Menos recente, mas não menos importante, foi a descoberta do cen-

tro de [3Fe-4S] em sistemas biológicos (21-23). Neste caso a espectroscopia de Mössbauer permitiu esclarecer a identidade dos co-factores da ferredoxina II de *Desulfovibrio gigas* e da aconitase, enzima essencial ao ciclo de Krebs.

Estamos assim na presença de uma técnica que pode sondar todas as propriedades estruturais e magnéticas dos co-factores de ferro. Mas como obter a evolução destas propriedades com o tempo, isto é, num processo dinâmico? Como veremos, a resposta é a utilização de técnicas de congelamento rápido ("Rapid Rapid-Freeze Quench", RFQ).

TÉCNICAS DE CONGELAMENTO RÁPIDO OU “RAPID-FREEZE QUENCH”

A combinação da espectroscopia de Mössbauer com técnicas de congelação rápida tem possibilitado a identificação/caracterização de vários intermediários catalíticos (24-30). Se quisermos estudar o percurso de uma reacção vamos necessariamente ter que preparar amostras com diferentes tempos de reacção. Devido à velocidade das reacções enzimáticas, a escala de tempo terá de ser da ordem dos milisegundos. A figura 3 esquematiza o dispositivo experimental utilizado neste tipo de experiências. As soluções de enzima e substrato são mantidas em seringas separadas. Um computador controla um mecanismo de direcção que impele (simultaneamente e a velocidade constante) o êmbolo das seringas, projectando o líquido nelas contido através de uma câmara de mistura. Na saída da câmara de mistura existe um tubo de envelhecimento, cujo comprimento determina o tempo de reacção. Após atravessar o tubo de envelhecimento

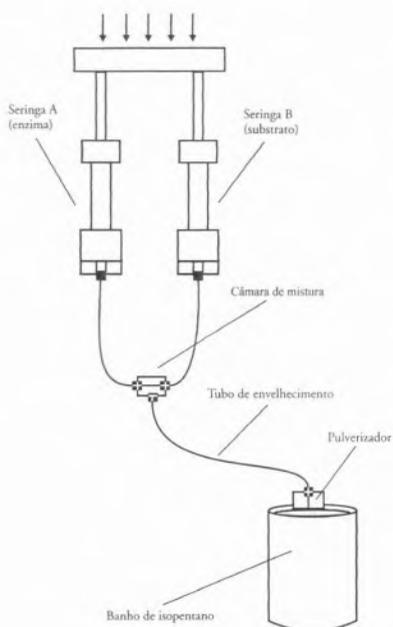


Fig. 3 - Montagem para “Rapid-Freeze Quench”.

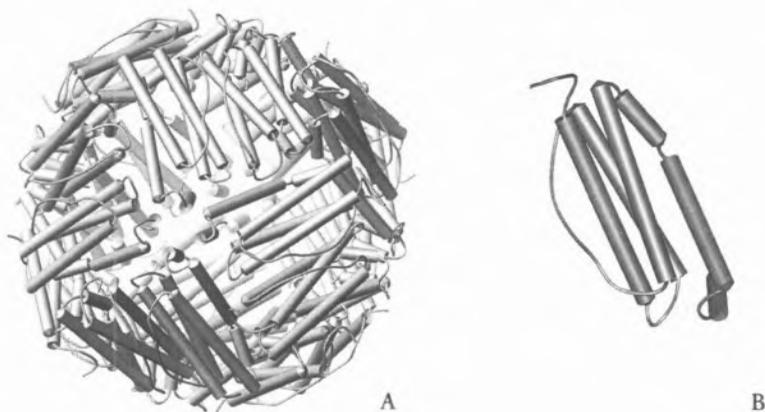


Fig. 4 - Estrutura cristalográfica da Ferritina. Molécula de ferritina esférica (A), constituída por 24 subunidades do tipo M. Em cada monómero (B) existe um local único onde ocorre oxidação dos iões ferrosos com a concomitante formação do centro binuclear.

a mistura é pulverizada num banho de isopentano arrefecido a $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$, sofrendo congelação imediata. A “neve proteica” assim gerada é depois empacotada em células apropriadas à análise espectroscópica a utilizar. Para tubos de envelhecimento suficientemente pequenos é possível obter tempos de residência de aproximadamente 20 ms.

A primeira publicação que descreve a aplicação desta técnica à espectroscopia de Mössbauer data de 1994. Desde então, e com o concomitante desenvolvimento de metodologias de análise dos dados adquiridos, foi possível decodificar interessantes mecanismos catalíticos tais como os exemplos que de seguida se apresentam.

UM EXEMPLO DE BIOMINERALIZAÇÃO

O ferro é normalmente utilizado pelos seres vivos no estado de oxidação $2+$. No entanto, neste estado de oxidação e dependendo da sua concentração pode ser nocivo, afectando o bom funcionamento da maquinaria celular. Por oxidação pode gerar peróxido de hidrogénio, superóxido e outras espécies reactivas de oxigénio. Por outro lado, ao pH fisiológico, a solubilidade do ião férrico é muito baixa. Com efeito a concen-

tração de ferro utilizado é cerca de 100 biliões de vezes superior à solubilidade do ião livre. Assim existe a necessidade de um sistema biológico que permita a concentração e armazenamento do ferro. A ferritina é a proteína responsável por este processo, sendo a única que catalisa uma transição de fase reversível entre os iões em solução e numa matriz sólida (31-33). A estrutura da ferritina é comum em todos os organismos conhecidos (animais, plantas e microrganismos). Constituída por 24 subunidades, cada uma organizada num feixe de quatro hélices (“four helix bundle”), possuindo a forma global de uma coroa esférica com cerca de 12 nm de diâmetro (ver figura 4). Durante a mineralização, o ião ferroso é inicialmente oxidado em canais que atravessam a coroa esférica e posteriormente depositado na cavidade central sob a forma de mineral ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). A cavidade central, cujo diâmetro é de cerca de 8 nm, pode acumular até 4500 átomos de Fe. A velocidade de oxidação e mineralização depende do tipo de subunidade presente em proteínas. Presentemente estão caracterizados três tipos de subunidades (L, H e M), cuja expressão depende do tecido celular. Estudos efectuados com proteínas recombinantes constituídas somente por um dos tipos de subunidade provaram que as subunidades

H e M apresentam uma taxa de oxidação do ião ferroso aproximadamente 100 vezes superior à subunidade L. Assim se quisermos estudar as fases iniciais desta catálise as subunidades H e M parecem ser as melhores candidatas.

Num conjunto de experiências (27) fez-se reagir a proteína recombinante constituída por subunidades do tipo H com oxigénio, produzindo-se amostras com tempo reaccionais entre 10 ms e 1 s. Os resultados obtidos estão representados nas figuras 5 e 6. Foi pela primeira vez possível obter uma medição directa do substrato consumido (Fe^{2+}) ao longo do tempo, pois nos dados adquiridos com a aplicação de um campo magnético externo de baixa magnitude (figura 5) é possível quantificar com grande rigor a linha de mais alta

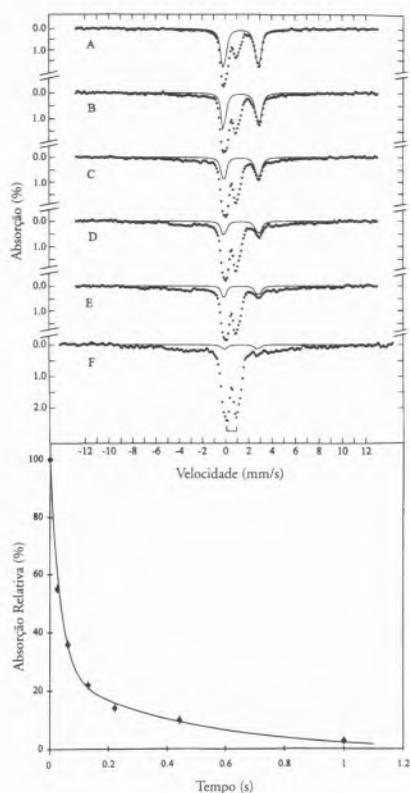


Fig. 5 - Espectros de Mössbauer (4.2 K, 0.5 mT) da ferritina H reagida com 36 átomos de Fe^{2+} por molécula, na presença de concentrações saturantes de O_2 . A - 20 ms, B - 60 ms, C - 130 ms, D - 220 ms, E - 440 ms, e F - 1 s. Painel inferior: oxidação do ião ferroso.

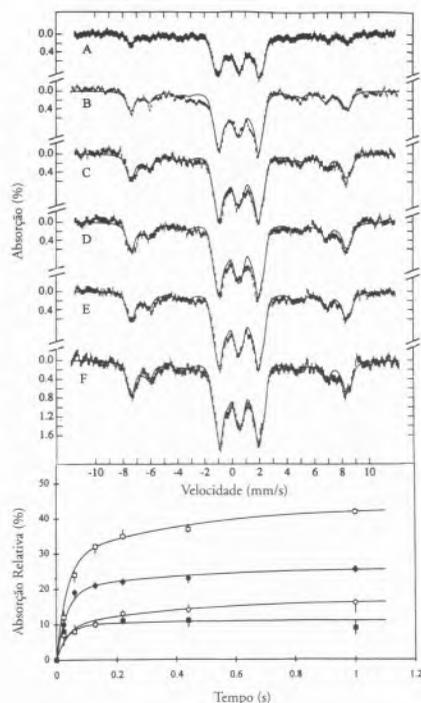


Fig. 6 - Espectros de Mössbauer (4.2 K, 8 T) da ferritina H reagida nas condições descritas na figura 5. No painel inferior é apresentada a evolução das espécies férricas formadas ao longo do tempo reaccional. Espécie trimérica (quadrados vazios) e diméricas (restantes curvas).

energia do duplete de quadrupolo atribuído ao substrato. Nestas condições é visível um aumento na quantidade de espécies de desvio isomérico mais baixo, ou seja férricas. Estas espécies são diamagnéticas ($S=0$) pois provêm do acoplamento antiferromagnético de dois ferros férricos. Como tal, nestas condições experimentais torna-se muito difícil efectuar uma quantificação rigorosa. Assim, é necessário adquirir os espectros de Mössbauer na presença de um campo magnético aplicado de magnitude significativa (1 a 8 T). Na figura 6 são apresentados dados adquiridos com a aplicação de um campo magnético de 8 T, aos quais foi subtraída a contribuição do ferro substrato (Fe^{2+}). Devido à maior resolução destes espectros é agora possível identificar diferentes dímeros e uma espécie trimérica, em que cada átomo de Fe possui uma esfera de coordenação constituída por O e/ou N. Da evolução temporal de todas

estas espécies podemos concluir que, na ferritina do tipo H, o ferro substrato é maioritariamente consumido com uma constante cinética de pseudo-primeira ordem, k_1 , igual a $28.5 \pm 3 \text{ s}^{-1}$, originando de forma paralela três tipos de formas diméricas e uma trimérica.

E o que acontece na ferritina do tipo M? Com um conjunto de experiências semelhantes às descritas anteriormente (28), foi detectado um novo tipo de intermediário na etapa inicial da oxidação. Como é possível observar na figura 7, o consumo do substrato é agora mais rápido (k_1 aproximadamente igual a 80 s^{-1}) gerando apenas um intermediário férrico. Este intermediário, que possui parâmetros típicos de um complexo peroxo-diférrico, posteriormente decai em algumas das espécies diméricas já observadas na ferritina H.

Podemos portanto sugerir uma interpretação mecanística para a etapa de oxidação do ferro catalisada pela ferritina (ver figura 8). Num primeiro passo a apoferritina tem a capacidade de coordenar o ferro ferroso existente em solução numa estequiometria de dois ferros por sítio de coordenação (formando um centro binuclear). Seguidamente ocorre a oxidação com formação de um intermediário do tipo peroxo. Tal facto implica necessariamente a existência de um sítio único de ligação do ferro ferroso. Devido à natureza da catálise em causa, este sítio dá então origem a espécies diméricas múltiplas, que num passo final são depositadas na cavidade central. O facto de não ter sido observado o intermediário do tipo peroxo no caso da ferritina H pode ser explicado se tivermos em conta a velocidade de formação e decaimento deste intermediário. Para que um intermediário seja detectável é necessário que a diferença destas duas velocidades seja tal que permita a acumulação de quantidades iguais ou superiores a 5% do ferro total presente na amostra. Assim, e apesar do caminho catalítico poder ser igual para as duas ferritinas, no caso da ferritina H a velocidade de formação do intermediário do tipo peroxo é

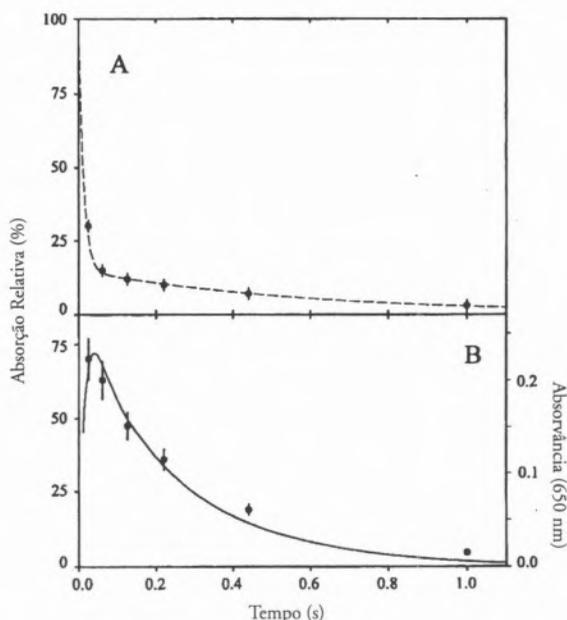


Fig. 7 - Resultados obtidos para a experiência de RFQ-Mössbauer com a ferritina M, nas condições descritas para a ferritina H (figura 5). A - oxidação do íon ferroso, B - formação e decaimento do intermediário peróxido-diférrico detectado através das espectroscopias de Mössbauer e visível.

demasiado lenta e/ou o seu decaimento demasiado rápido para que se torne detectável.

Uma dúvida subsiste neste mecanismo. Qual a espécie que se forma por decaimento do intermediário tipo peroxo? Duas possibilidades existem. Numa delas, o decaimento origina as espécies diférricas com a formação de peróxido de hidrogénio. Uma segunda hipótese contempla a existência de um intermediário diférrico (centro binuclear de ferro com ambos os átomos de ferro no estado +4). Este intermediário, já detectado em outras enzimas contendo centros binucleares do tipo μ -oxo, seria formado por homólise da forma peroxo e poderia reagir com uma ou mais moléculas de água originando peróxido de hidrogénio e as múltiplas formas das espécies diférricas observadas.

A COMPARAÇÃO DE MECANISMOS E INTERMEDIÁRIOS

Até que ponto é que existe um mecanismo geral para enzimas que contenham no seu centro activo um

centro binuclear do tipo μ -oxo e cujo mecanismo de acção envolva a activação da molécula de O_2 ? De momento apenas três destas enzimas foram extensivamente estudadas por técnicas de cinética rápida acopladas à espectroscopia de Mössbauer: a ferritina, descrita no exemplo anterior, a reductase de ribonucleotídeos pertencente à classe I, RNR (34), e a monooxigenase do metano, MMO (35).

Como o nome indica, a RNR catalisa a redução de ribonucleotídeos a deoxiribonucleotídeos, sendo esta reacção a primeira da via biossintética do ADN. A proteína de *E. coli*, que pertence à classe I, é constituída por duas subunidades homodiméricas designadas por R1 e R2. A subunidade R1 é um homodímero de 86 kDa que contém o local de ligação do substrato e o resíduo de cisteína envolvido na catálise. A subunidade R2 é um homodímero de 43 kDa que contém um radical tirosilo estável (Y122*), necessário à actividade enzimática. Contém ainda um centro binuclear de ferro do tipo μ -oxo localizado na proximidade do radical tirosilo. Só a forma activa da enzima contém o radical tirosilo, que é gera-

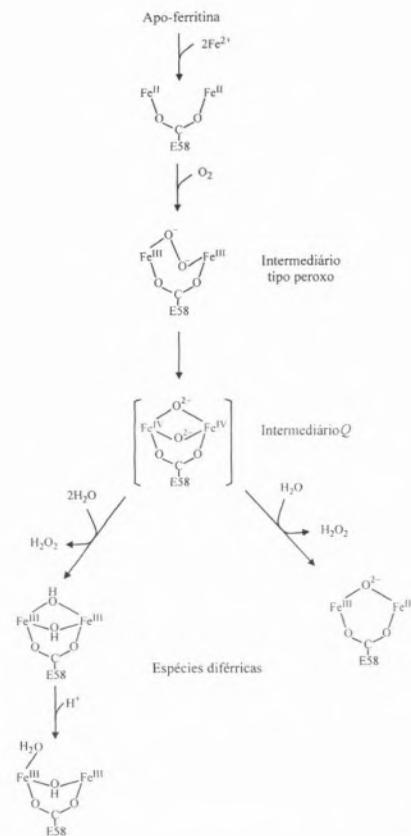
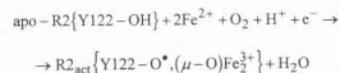


Fig. 8 - Mecanismo proposto para a etapa inicial da oxidação do ferro catalisada pela ferritina.

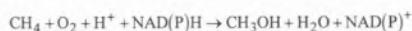
do por reconstituição do centro binuclear de acordo com a seguinte reacção:



A redução do oxigénio molecular da água requer quatro electrões, três dos quais são obtidos via a oxidação dos 2 equivalentes de íons ferrosos a férricos e pela oxidação do resíduo de cisteína a radical tirosilo. A fonte do quarto electrão é controversa, mas *in vitro* pode ser doado por excesso de Fe^{2+} ou ascorbato usado na reconstituição da apoproteína. Durante a reconstituição vários intermediários são formados (ver figura 9). Foi recentemente demonstrado que o primeiro intermediário desta reacção é um complexo peroxo-diférrico, que posteriormente

decai num intermediário um equivalente mais oxidado, que pode formalmente ser representado por $\text{Fe}^{3+}\text{Fe}^{4+}$. Este intermediário, denominado X, é então cataliticamente competente para oxidar o resíduo de cisteína a radical tirosilo com a concomitante redução a um complexo diférrico.

A MMO é um sistema enzimático isolado de bactérias metanotróficas, que catalisa o primeiro passo da sua via metabólica transformando metano em metanol:



A forma solúvel deste sistema é constituída por três diferentes proteínas: uma redutase (MMOR) que contém um centro $[\text{2Fe-2S}]$ e um grupo flavínico, uma proteína que não contém qualquer cofactor (MMOB) e a hidroxilase que contém um centro binuclear do tipo μ -oxo (MMOH). Constituída por três tipos de subunidades diferentes, $(\alpha\beta\gamma)_2$, a hidroxilase apresenta uma massa molecular de aproximadamente 250 kDa. O centro binuclear encontra-se localizado na subunidade α e é o sítio onde ocorre a hidroxilação do metano. O ciclo catalítico é iniciado pela redução do centro binuclear de Fe, mediada pela MMOR. Na ausência do substrato metano, o centro diférrico reage com o oxigénio molecular para formar o primeiro intermediário. Tal como nos exemplos anteriores este intermediário é um complexo peroxo-diférrico denominado H_{peroxo} (ver figura 9). No entanto, contrariamente a esses exemplos, a espécie H_{peroxo} decai no intermediário Q cujos parâmetros de Mössbauer sugerem ser um complexo diférrico. Foi sugerido que este intermediário, devido ao seu elevado poder oxidante, é cataliticamente competente para realizar a oxidação dielectrónica do substrato reduzindo-se ao estado diférrico.

Deste modo, qualquer dos mecanismos descritos envolvem um intermediário inicial comum (complexo peroxo-diférrico) mas aparentemente diferem no segundo interme-

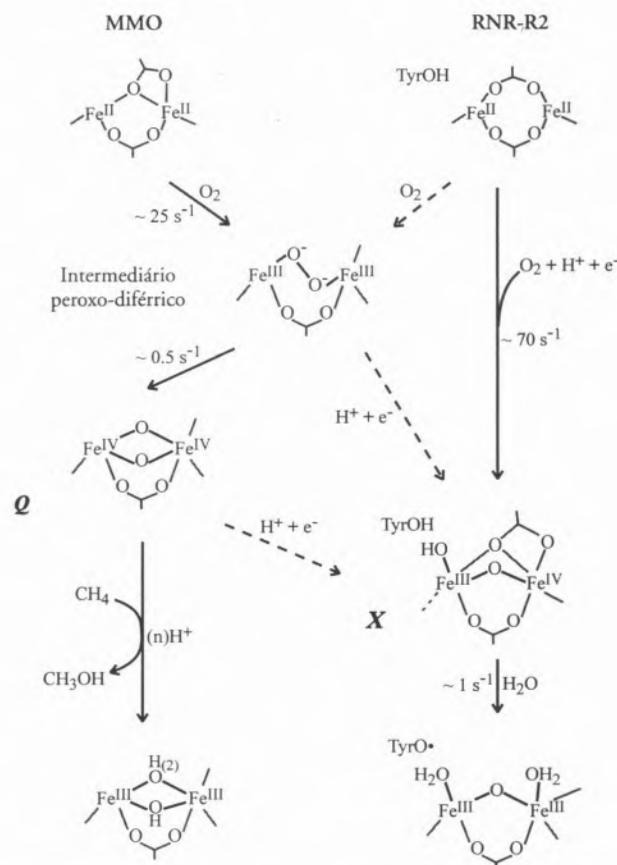


Fig. 9 - Comparação dos mecanismos catalíticos de activação da molécula de oxigénio por centros binucleares de ferro do tipo μ -oxo da MMO (via intermediário Q) e da RNR-R2 (via intermediário X).

diário do ciclo catalítico. Sabemos que o intermediário Q está num estado de oxidação formal superior ao intermediário X, mas até que ponto existe uma diferença estrutural entre estes intermediários? Será que podemos utilizar a espectroscopia de Mössbauer para comparar os ciclos catalíticos mesmo quando os intermediários diferem no seu estado de oxidação? O problema principal advém do facto do intermediário Q não possuir estrutura magnética devido ao acoplamento antiferromagnético existente entre os dois Fe^{4+} constituintes do centro (resultando num spin total nulo). Este problema foi solucionado com o auxílio da técnica de redução radiolítica (30). Preparou-se uma amostra de RFQ ao tempo reaccional ao qual correspondia a concentração máxima do intermediário Q (6 s) e adquiriu-se o es-

pectro de Mössbauer em condições óptimas. De seguida sujeitou-se a amostra congelada a uma irradiação com raios γ de alta energia. Após a irradiação foram novamente adquiridos espectros de Mössbauer. Verificou-se que a irradiação produziu a redução mono-electrónica do intermediário Q presente na amostra, criando uma espécie paramagnética, QX, em que um dos ferros do centro binuclear se encontra no estado de oxidação 3+ e o outro continua no estado 4+. Estamos na presença de um sistema isotrópico com $S=1/2$, no qual o espectro de Mössbauer adquirido na presença de um campo magnético fraco é fortemente dependente da direcção desse mesmo campo (ver referência 9). Nestes casos as linhas correspondentes à transição $\Delta m=0$ têm intensidades mínimas e máximas quando o campo magnéti-

co é aplicado, respectivamente, paralelamente ou perpendicularmente à radiação. Como, à excepção de Q_X, todas as espécies presentes na amostra são diamagnéticas ou de spin inteiro não apresentando dependência do campo magnético aplicado, por diferença dos espectros obtidos no modo paralelo e perpendicular é possível determinar as características espectrais de Q_X. A figura 10 mostra a análise dos dados obtidos. Esta análise revela que os intermediários Q_X e X possuem parâmetros semelhantes, tendo sido possível estabelecer, pela primeira vez, um paralelismo entre os mecanismos catalíticos das duas enzimas (RNR e MMO).

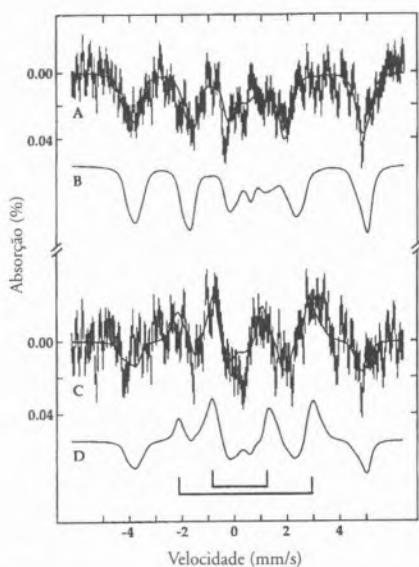


Fig. 10 - Mössbauer do intermediário Q_X. A - espectro adquirido a 4.2 K e 0.5 mT aplicado perpendicularmente à radiação γ . C - espectro diferença entre o modo paralelo e perpendicular. B e D correspondem a simulações obtidas para o intermediário X da RNR-R2.

COMENTÁRIOS FINAIS

Embora limitada a sistemas que contenham co-factores com ferro, a espectroscopia de Mössbauer provou ser uma ferramenta valiosa no estudo de sistemas biológicos. Por si só permitiu a identificação inequívoca de vários novos tipos de centros de ferro. Por se poder estabelecer uma forte correlação com a espectroscopia

de Ressonância Paramagnética Eletrónica (RPE) permitiu identificar novos sistemas de spin, mas também resolver ambiguidades que, estamos certos, de outra forma seriam ainda hoje fruto de discussões.

O desenvolvimento das técnicas de RFQ permitiu adicionar mais uma dimensão, o tempo reaccional, às análises de Mössbauer. De uma visão estática dos sistemas, em que normalmente apenas se estudava a mudança de estados de oxidação-redução ou a ligação de substratos/inibidores, passou-se a uma visão dinâmica que permite caracterizar intermediários catalíticos. Também neste caso é possível conjugar diferentes técnicas espectroscópicas. É possível obter amostras de RFQ que podem ser analisadas pela aplicação da espectroscopia de Mössbauer mas também de RPE, EXAFS e Ressonância de Raman. No entanto, devido às capacidades únicas de caracterização e quantificação dos centros de ferro a espectroscopia de Mössbauer será sempre uma peça central neste tipo de estudos.

A integração das informações obtidas pelas metodologias descritas com as estruturas determinadas por cristalografia de raios-X é também fundamental. Cada vez mais são determinadas as estruturas tridimensionais de metaloproteínas. Podemos assim conhecer os detalhes estruturais dos centros activos e estabelecer uma visão global dos mecanismos enzimáticos.

É nossa opinião que o início do novo milénio se afigura promissor nesta área científica, pelo que esperamos ter feito uma introdução cativante das potencialidades da espectroscopia de Mössbauer e das técnicas que a ela podem ser associadas.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer aos Professores José J. G. Moura, Isabel Moura e Boi H. Huynh os ensinamentos e o entusiasmo que nos transmitiram no campo das metaloproteínas e das espectroscopias de

RPE e Mössbauer. Ainda ao Professor Boi H. Huynh e ao Professor Dale E. Edmonson pelos excelentes momentos passados a aprender a técnica de "Rapid-Freeze Quench", em particular aplicada à espectroscopia de Mössbauer, da qual são ilustres pioneiros. Finalmente a todos os nossos colegas, dos diferentes grupos de investigação de que fizemos parte, pelo companheirismo e ajuda que sempre nos prestaram.

* Departamento de Química e Centro de Química Fina e Biotecnologia, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2825-114 Caparica, Portugal.

REFERÊNCIAS

- Moura, I., Pereira, A. S., Tavares, P., and Moura, J. J. G., Simple and complex iron-sulfur proteins in sulfate reducing bacteria, *Adv. Inorg. Chem.*, **47**, 361 (1999).
- Beinert, H., Holm, R. H., and Munck, E., Iron-sulfur clusters: nature's modular, multipurpose structures, *Science (Washington, D. C.)*, **277**, 653 (1997).
- Lange, S. J., and Que, L., Oxygen activating nonheme iron enzymes, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2**, 159 (1998).
- Nordlund, P., and Eklund, H., Di-iron-carboxylate proteins, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **5**, 758 (1995).
- Volbeda, A., Fontecilla-Camps, J. C., and Frey, M., Novel metal sites in protein structures, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **6**, 804 (1996).
- Peters, J. W., Structure and mechanism of iron-only hydrogenases, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **9**, 670 (1999).
- Waerenborgh, J. C., Espectroscopia de Mössbauer, *Bol. Soc. Port. Quím.*, **74**, 22 (1999).
- Huynh, B. H., Mössbauer spectroscopy in study of cytochrome *cd1* from *Thiobacillus denitrificans*, desulfovinidin, and iron hydrogenase, *Methods Enzymol.*, **243**, 523 (1994).
- Moura, I., Aplicações Biológicas da Espectroscopia de Mössbauer, *Boletim da Sociedade Portuguesa de Biotecnologia*, **51**, 19 (1995).
- Huynh, B. H., and Kent, T. A., Mössbauer studies of biomolecules, *Stud. Phys. Theor. Chem.*, **25**, 490 (1983).
- Huynh, B. H., and Kent, T. A., Mössbauer studies of iron proteins, *Adv. Inorg. Biochem.*, **6**, 163 (1984).
- Moura, I., Tavares, P., Moura, J. J. G., Ravi, N., Huynh Boi, H., Liu, M. Y., and LeGall, J., Direct spectroscopic evidence for the presence of a 6-iron cluster in an iron-sulfur protein isolated from *Desulfovibrio desulfuricans* (ATCC 27774), *J. Biol. Chem.*, **267**, 4489 (1992).
- Arendsen, A. F., Hadden, J., Card, G., McAlpine, A. S., Bailey, S., Zaitsev, V., Duke, E. H. M., Lindley, P. F., Krockel, M., Trautwein, A. X., Feiters, M. C., Charnock, J. M., Garner, C. D., Marritt, S. J., Thomson, A. J., Kooter, I. M., Johnson, M. K., Van Den Berg, W. A. M., Van Dongen, W. M. A. M., and Hagen, W. R., The "prismant" protein resolved: x-ray structure at 1.7 Å and multiple spectroscopy of two novel 4Fe clusters, *JBIC, J. Biol. Inorg. Chem.*, **3**, 81 (1998).

14. Dominy, C. N., Deane, S.M., and Rawlings, D.E., A geographically widespread plasmid from *Thiobacillus ferrooxidans* has genes for ferredoxin-, FNR-, prismsane- and NADH-oxidoreductase-like proteins which are also located on the chromosome, *Microbiology*, **143** (Pt 10), 3123 (1997).
15. Kühn, S., Braun, V., and Köster, W., *J. Bacteriol.*, **178**, 496 (1996).
16. Bult, C. J., White, O., Olsen, G. J., Zhou, L., Fleischmann, R. D., Sutton, G. G., Blake, J. A., FitzGerald, L. M., Clayton, R. A., Gocayne, J. D., Kerlavage, A. R., Dougherty, B. A., Tomb, J. F., Adams, M. D., Reich, C. L., Overbeek, R., Kirkness, E. F., Weinstock, K. G., Merrick, J. M., Glodek, A., Scott, J. L., Geoghagen, N. S. M., and Venter, J. C., Complete genome sequence of the methanogenic archaeon, *Methanococcus jannaschii*, *Science*, **273**, 1058 (1996).
17. Smith, D. R., Doucette-Stamm, L. A., Deloughery, C., Lee, H., Dubois, J., Aldredge, T., Bashirzadeh, R., Blakely, D., Cook, R., Gilbert, K., Harrison, D., Hoang, L., Keagle, P., Lumm, W., Pothier, B., Qiu, D., Spadafora, R., Vicaire, R., Wang, Y., Wierzbowski, J., Gibson, R., Jiwani, N., Caruso, A., Bush, D., and Reeve, J. N., Complete genome sequence of *Methanobacterium thermoautotrophicum* deltaH: functional analysis and comparative genomics, *Journal of Bacteriology*, **179**, 7135 (1997).
18. Pereira, A. S., Tavares, P., Krebs, C., Huynh, B. H., Rusnak, F., Moura, I., and Moura, J. J. G., Biochemical and Spectroscopic Characterization of Overexpressed Fuscurodoxin from *Escherichia coli*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **260**, 209 (1999).
19. Tavares, P., Pereira, A. S., Krebs, C., Ravi, N., Moura, J. J. G., Moura, I., and Huynh, B. H., Spectroscopic Characterization of a Novel Tetranuclear Fe Cluster in an Iron-Sulfur Protein Isolated from *Desulfovibrio desulfuricans*, *Biochemistry*, **37**, 2830 (1998).
20. Ferreira, G. C., Franco, R., Lloyd, S. G., Pereira, A. S., Moura, I., Moura, J. J. G., and Huynh, B. H., Mammalian ferrocyclase, a new addition to the metalloenzyme family, *J. Biol. Chem.*, **269**, 7062 (1994).
21. Kent, T. A., Huynh, B. H., and Munck, E., Iron-sulfur proteins: Spin-coupling model for three-iron clusters, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **77**, 6574 (1980).
22. Hanh, H. B., Moura, J. J. G., Moura, I., Kent, T. A., LeGall, J., Xavier, A. V., and Munck, E., Evidence for a three-iron center in a ferredoxin from *Desulfovibrio gigas*. Mössbauer and EPR studies, *J. Biol. Chem.*, **255**, 3242 (1980).
23. Kent, T. A., Dreyer, J. L., Emptage, M. H., Moura, I., Moura, J. J. G., Huynh, B. H., Xavier, A. V., LeGall, J., and Beinert, H., Evidence for a novel three-iron center in two ferredoxins and aconitase, in *Electron Transp. Oxygen Util., [Int. Symp. Interact. Iron Proteins Oxygen Electron Transp.]*, Ho, C., Ed., Elsevier, New York, N, pp. 371 (1982).
24. Bollinger, J. M., Jr, Stubbe, J., Huynh, B. H., and Edmondson, D. E., Novel Diferric Radical Intermediate Responsible for Tyrosyl Radical Formation in Assembly of the Cofactor of Ribonucleotide Reductase, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 6289 (1991).
25. Bollinger, J. M., Jr, Edmondson, D. E., Huynh, B. H., Filley, J., Norton, J. R., and Stubbe, J., Mechanism of Assembly of the Tyrosyl Radical-Dinuclear Iron Cluster Cofactor of Ribonucleotide Reductase, *Science*, **253**, 292 (1991).
26. Coufal, D. E., Tavares, P., Pereira, A. S., Huynh, B. H., and Lippard, S. J., Reactions of Nitric Oxide with the Reduced Non-Heme Diiron Center of the Soluble Methane Monooxygenase Hydroxylase, *Biochemistry*, **38**, 4504 (1999).
27. Pereira, A. S., Tavares, P., Lloyd, S. G., Danger, D., Edmondson, D. E., Theil, E. C., and Huynh, B. H., Rapid and parallel formation of Fe³⁺ multimers, including a trimer, during H-type subunit ferritin mineralization, *Biochemistry*, **36**, 7917 (1997).
28. Pereira, A. S., Small, W., Krebs, C., Tavares, P., Edmondson, D. E., Theil, E. C., and Huynh, B. H., Direct spectroscopic and kinetic evidence for the involvement of a peroxodiferric intermediate during the ferroxidase reaction in fast ferritin mineralization, *Biochemistry*, **37**, 9871 (1998).
29. Tavares, P., Pereira, A. S., Lloyd, S. G., Danger, D., Edmondson, D. E., Theil, E. C., and Huynh, B. H., Mössbauer spectroscopic and kinetic characterization of ferric clusters formed in H-chain ferritin mineralization, *Book of Abstracts, 213th ACS National Meeting, San Francisco, April 13-17, INOR* (1997).
30. Valentine, A. M., Tavares, P., Pereira, A. S., Davydov, R., Krebs, C., Hoffman, B. M., Edmondson, D. E., Huynh, B. H., and Lippard, S. J., Characterization of a Mixed-Valent Fe(III)Fe(IV) Form of Intermediate Q in the Reaction Cycle of Soluble Methane Monooxygenase, an Analog of Intermediate X in Ribonucleotide Reductase R2 Assembly, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2190 (1998).
31. Theil, E. C., and Huynh, B. H., Ferritin mineralization: ferroxidation and beyond, *J. Inorg. Biochem.*, **67**, 30 (1997).
32. Theil, E. C., and Sayers, D. E., Ferritin iron cores: variable iron biominerals, in *Iron Biominer., [Proc. Conf.]*, Frankel, R. B., Ed., Plenum, New York, N, pp. 295 (1991).
33. Harrison, P. M., and Arosio, P., The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation, *Biochim. Biophys. Acta*, **1275**, 161 (1996).
34. Jordan, A., and Reichard, P., Ribonucleotide reductases, *Annu Rev Biochem.*, **67**, 71 (1998).
35. Lipscomb, J. D., Lee, S.-K., Nesheim, J. C., Jin, Y., Wallar, B. J., and Zhang, X.-Y., Intermediates in the reaction cycle of methane monooxygenase: structure and chemistry, in *Iron Metabolism*, Ferreira, G. C., Moura, J. J. G., and Franco, R., Eds., Wiley-VCH, pp. 323 (1999).

Instituto Português da Qualidade

Ministério da Indústria e Energia

PORTUGUESE INSTITUTE FOR QUALITY

Rua C e Avenida dos Três Vales
2825 MONTI DA CAPARICA
Portugal
Tel: (011) 794 81 00
Fax: (011) 291 81 01

CERTIFICADO
DE CONFORMIDADE

NUMERO

96/CEP.410

O INSTITUTO PORTUGUÊS DA QUALIDADE certifica que o Sistema da Qualidade da

SOQUÍMICA - SOCIEDADE DE REPRESENTAÇÕES DE QUÍMICA, LDA.
Rua Coronel Santos Pedroso, 15
1500 LISBOA
PORTUGAL

implantado na comercialização, manutenção e calibração de equipamentos de laboratório, cumpre os requisitos da Norma Portuguesa NP EN ISO 9002 - "Sistemas da Qualidade. Modelo de garantia da qualidade na produção, instalação e assistência após venda".

O presente certificado é emitido ao abrigo do Decreto-Lei n.º 234/93 de 2 de Julho, e de acordo com a Directiva CNQ 22 - "Certificação de sistemas da qualidade de empresas. Metodologias e regras gerais".

A presente certificação é válida por um período de três anos, renovável.

Monte de Caparica, 18 de Junho de 1996

Cândido dos Santos

Cândido dos Santos
Presidente



SOQUÍMICA

Sociedade de Representações e Química, Lda.

Rua Coronel Santos Pedroso, 15 • 1500 LISBOA • Tel.: 716 51 60 • Fax: 716 51 69
Sede Social: Av. da Liberdade, 220-2º • 129 LISBOA CODEX
Rua 5 de Outubro, 269 • 4100 PORTO • Tels.: 609 30 69 • Fax: 600 08 34
Email: soquimica@mail.telepac.pt; Internet: www.soquimica.pt

Será Possível Medir a Produção Científica?

WERNER KUTZELNIGG*

Continua a ser demasiado frequente fazer-se a avaliação do "mérito" de um cientista pelo número das suas publicações – um critério demasiado imperfeito, tal como nos prova Werner Kutzelnigg neste seu artigo. Contudo, se, por curiosidade, alguém, tentar esclarecer este problema em todas as suas vertentes, rapidamente se encontrará perante o seguinte dilema: Sendo os "Citation Rankings" pouco úteis, é difícil, em contrapartida, conseguir critérios mais ilustrativos ou explícitos.

No domínio das ciências, não existe, evidentemente, um "ranking" como, por exemplo, nas competições de ténis. Contudo, não são apenas os investigadores que se enfrentam permanentemente com a avaliação do seu mérito através da qualidade da sua produção científica, mas também as instituições a que pertencem, uma vez que o financiamento da investigação, sem olhar a critérios de produtividade, como ainda se pratica em grande medida nas universidades alemãs, está pouco a pouco a ser substituído pelo financiamento baseado, pelo menos aparentemente, na produtividade científica.

O MÉRITO E A SUA AVALIAÇÃO

Ao tentar avaliar a produção de um cientista é frequente considerar-se, em primeiro lugar, as distinções de todos os géneros, como sejam prémios, convites para conferências, nomeações, doutoramentos *honoris causa*, etc. de que tenha sido alvo. Contudo, estas distinções não são mais do que um mero indicador da estima pessoal de que o contemplado goza junto dos seus colegas e de outras pessoas. Para receber estas distinções, o cientista deve, certamente, ter-se salientado, de uma maneira ou de outra. Assim, essas distinções constituem sobretudo uma orientação para quem não tenha

acesso aos fundamentos da avaliação do cientista, que conduziu à decisão de lhe conferir uma dada distinção.

Além do número, pouco revelador, de doutorandos orientados pelo cientista em causa, considera-se, frequentemente, como medida do nível científico, o sucesso na obtenção de financiamentos por terceiros. Com efeito, só é possível conseguir a concessão de um subsídio para um projecto de investigação quando o requerente tenha sido avaliado positivamente por parte dum painel de peritos. No entanto, não se deve valorizar demasiado o montante dos financiamentos conseguidos, pois muitas vezes dependem mais dos domínios em que se situam os projectos do que do mérito científico do requerente. De facto, parece ser mais relevante, por exemplo, o número de bolsas concedidas ao abrigo dum projecto. Também é importante estabelecer a diferença entre o financiamento da investigação no sentido propriamente dito - como por exemplo através dos subsídios concedidos pela DFG [*Deutsche Forschungsgemeinschaft*]¹ e a investigação resultante de um contrato de prestação de serviços, apesar de esta diferenciação nem sempre ser muito fácil.

TERÁ UM AUTOR PROLÍFERO DESCOBERTO COISAS MUITO IMPORTANTES?

Hoje em dia, quando se pretende avaliar a produção científica, recorre-se, primeiramente, à análise das obras publicadas pelo cientista a avaliar. Neste contexto, preferem-se geralmente dois critérios aparentemente objectivos: por um lado verifica-se qual o número de trabalhos publicados e, por outro, a frequência com que são citadas as referidas publicações. Por vezes, ainda se considera, em lugar do número total das publicações, apenas os trabalhos publicados durante um determinado período, por exemplo durante os últimos cinco anos.

O número de trabalhos publicados aparentemente é uma medida da

produtividade de um autor e, portanto, da sua assiduidade, da sua persistência em alcançar um objectivo, bem como da sua capacidade e disponibilidade quanto à apresentação dos resultados da sua actividade de investigação. É evidente, contudo, que a produtividade não constitui o único critério para avaliar a qualidade científica. O número de obras publicadas nem sempre reflecte a riqueza de ideias, a capacidade de gerir os recursos humanos, o poder de detecção dos problemas essenciais e outros critérios de qualidade.

Muitas vezes utiliza-se, indiscriminadamente, como critério, o número de trabalhos publicados, embora ninguém seja capaz de afirmar, com honestidade, que esse número seja particularmente informativo. Se insistirmos, no entanto, em dar importância ao número de trabalhos publicados, não poderemos deixar de, antes de os somar, multiplicar cada um desses trabalhos por um factor de ponderação que, de uma ou outra maneira, meça o seu valor. Dado que não é fácil verificar a qualidade de cada trabalho, poderemos tentar aproximar-nos dessa avaliação por uma via indirecta.

REALIDADE OU APARÊNCIA?

Parece indiscutível a importância da distinção entre publicações autênticas em revistas científicas e falsas publicações, como os "relatórios técnicos", publicados pelo autor, os sumários de comunicações, críticas de livros, etc. Devemos eliminar totalmente estas pseudo-publicações, ou seja, devemos atribuir-lhes um factor de ponderação igual a zero, o que é imprescindível, quanto mais não seja porque muitos autores as contabilizam na sua lista bibliográfica, ao passo que outros não o fazem.

TOPO DE GAMA OU SUCATEIRO?

Existe um certo critério de qualidade em relação ao sítio o em que se publicam os trabalhos. Os artigos pu-

blicados em revistas com um estrito sistema de "referee" (sistema de "peer review" isto é avaliação por pares anónimos), por vezes designados, erradamente, por "revistas de referência" têm, regra geral, um maior valor do que os artigos publicados nas revistas "sucateiras", que tudo aceitam. Utiliza-se com frequência o critério do chamado "factor de impacto" para avaliar a qualidade das publicações periódicas. Mas também se pode levar ao extremo a avaliação de um artigo quando baseada na qualidade do seu órgão de publicação, valorizando exclusivamente as publicações em revistas que constituem o topo de gama no respectivo sector (trata-se, habitualmente, de revistas com uma elevada percentagem de rejeição de artigos). No campo da física, por exemplo, estes boletins incluem as *Phys. Rev. Letters*, no das ciências biológicas, a revista *Nature*. Estas revistas publicam, regra geral, "breves comunicações prévias", a que se deveria, normalmente, seguir um artigo mais completo, numa revista corrente, o que nem sempre acontece. Ao sobrestimar as revistas de topo de gama, dá-se uma importância indevida às "breves comunicações prévias". O facto de se pensar que um artigo aceite por uma boa revista é implicitamente um bom artigo revela uma certa ingenuidade. Uma análise mais concreta do sistema de "referees" revela certas deficiências: Acontece frequentemente bons trabalhos serem rejeitados e, mais amiúde ainda, aceitarem-se os maus. Nas revistas com uma elevada percentagem de rejeição, a aceitação é muitas vezes arbitrária. É obviamente perigoso entregar a decisão sobre a qualidade exclusivamente a pares anónimos (os quais, como é evidente, têm muitas vezes interesses pessoais a defender). As boas revistas, principalmente nos Estados Unidos, também exigem frequentemente o pagamento de uma taxa de publicação. Há numerosos autores (principalmente nos países pobres) que não tem a possibilidade de contornar este obstáculo e que se vêem, assim, impossibilitados de publicarem os seus artigos nessas revistas.



"Ora bem! Você citam-me a mim, eu cito-vos a vocês, todos nós citamos Fulano-Sicrano-Mengano, que também nos vai citar a todos e, além disso, tenho um amigo no "Der Spiegel"!"

NOVIDADE OU PLÁGIO?

É particularmente importante averiguar se uma publicação abre novas perspectivas ou se constitui a sequência de resultados consolidados. A grande maioria dos trabalhos publicados está incluída na segunda categoria.

Aliás, se quisermos atribuir a estes trabalhos um factor de ponderação igual a zero, seria lógico atribuir, também, factores de ponderação negativos a trabalhos errados, desleixados, supérfluos ou plagiados. A perspectiva de se ver atribuído um factor de ponderação negativo poderia talvez fazer com que os cientistas não aceitassem, com tanta facilidade, convites para o seu nome aparecer como coautor.

GRÃO A GRÃO ENCHE A GALINHA O PAPO

Além da sua qualidade, haverá também que avaliar o teor informativo de uma publicação. As comunicações do tipo clássico, ricas em conteúdo, mas também bastante extensas, estão a ser gradualmente substituídas por uma série de traba-

lhos breves e, *per se* pouco elucidativos (embora também existam, evidentemente, trabalhos simultaneamente longos e sem grande conteúdo). Enquanto, antigamente, se condensavam cinco dissertações de doutoramento num só artigo, agora a regra passou a ser a divisão de uma dissertação em cinco publicações. O facto de muitas revistas preferirem trabalhos curtos e, também, o facto de se sobrevalorizar a quantidade de trabalhos publicados, acentuaram ainda extraordinariamente esta tendência. Quando se divide uma publicação em vários pedacinhos, surgem obrigatoriamente repetições, de modo que ela se torna mais volumosa do que uma publicação mais concentrada – principalmente, se as diferentes partes forem publicadas em diferentes revistas.

É relativamente raro aparecerem várias publicações contendo uma matéria perfeitamente igual, mas acontece com frequência os trabalhos sobreporem-se de tal forma que, depois de termos lido metade da obra de um autor sobre um determinado tema, ficamos a conhecer tudo quanto consta da outra metade.

QUEM É O AUTOR DA PUBLICAÇÃO?

Também é difícil avaliar os diferentes autores de uma publicação. Na maior parte das vezes atribui-se a comunicação de vários autores integralmente a cada um deles, embora se imponha proceder a uma divisão pelo número de autores, eventualmente com ponderação da parte que cabe a cada um. É raro acontecer (mas acontece!) que, na lista das suas publicações, um autor indique, sob a forma de percentagem, a parte que lhe cabe em cada um dos trabalhos listados. Contudo, a menção da respectiva participação só será válida no caso de todos os autores estarem de acordo. Podemos, de facto, distinguir entre quatro categorias de autores:

- aqueles que realizaram o respectivo trabalho de uma maneira mais ou menos autónoma;

- aqueles que sugeriram e acompanharam um trabalho que, na maior parte das vezes, faz parte de um programa de investigação mais amplo; neste caso fala-se frequentemente de “autor sénior”;

- aqueles que contribuíram, marginalmente, para o respectivo trabalho, por ex. com complementos de medições, como a determinação de estruturas cristalinas, ou com conselhos importantes, etc.

- as pessoas que, essencialmente, não têm nada a ver com o trabalho, mas que aparecem como autores, porque é uso e costume. Em países longínquos (esperemos que só nesses), trata-se frequentemente de directores de institutos. Diz-se muitas vezes que os esforços envidados para conseguir o financiamento do projecto justificam, só por si, que se cite o nome da pessoa em questão como coautor.

Para um leitor não informado seria útil indicar-se em que categoria se inclui cada autor. Os iniciados sabem-no, geralmente, mas aqueles que estão encarregados de avaliar uma publicação ignoram muitas vezes a respectiva classificação. É frequente conhecerem-se os “autores sénior” pelo seu nome, pois pode-

mos encontrá-los na lista de autores, independentemente da sua posição, que por vezes é a última. Um iniciado nunca julgará, por exemplo, que um cristalógrafo, cujo nome aparece no título, participou na parte preparativa de um trabalho.

Existem diferenças na valorização das participações dos autores que só trabalharam marginalmente num dado projecto. Enquanto um dos integrantes se converte em coautor, devido a contributos marginais, outro, que participou de uma forma importante num trabalho, deverá, frequentemente, contentar-se com uma menção na parte dedicada aos agradecimentos. Também varia o comportamento dos professores em relação aos candidatos a uma agregação². Enquanto um deles permitirá, com toda a razão, que se lhe recompense uma participação pequena, mas importante, com a publicação do seu nome como coautor, correndo-se assim o risco de o candidato à agregação ser considerado como autor ainda não autónomo, outro poderá renunciar à citação do seu nome, para evitar criar esta impressão, embora a sua contribuição tivesse, talvez, sido mais importante do que a do primeiro.

Uma vez que os autores das diferentes categorias possuem diferentes incumbências, torna-se de facto supérfluo investigar a quota-parte da sua participação. As coisas tornam-se mais difíceis, quando nos enfrentamos com vários autores da mesma categoria. Muitas vezes, reconhece-se especificamente o facto de um autor ter sido o primeiro, o que, porém, só se torna visível quando se renuncia à citação dos autores por ordem alfabética. Acontece com frequência considerarem-se, erradamente, como os primeiros autores de um trabalho, os autores cujas iniciais se encontram entre as primeiras na ordem alfabética. Por outro lado, também pode acontecer não serem reconhecidos como tais, mesmo quando se trata de verdadeiros primeiros autores. O mesmo se aplicará, possivelmente, ao caso dos autores mencionados em último lugar.

QUANTIDADE = QUALIDADE?

Quando se procede à avaliação das quantidades de publicações, seria bastante útil considerar o seguinte: 500 publicações realizadas durante um período activo de 25 anos não se situam, hoje em dia, no nível mais alto deste tipo de actividade. Equivale a 20 publicações por ano ou seja um artigo de duas em duas semanas, se levamos em conta as férias ou outras viagens. E como conseguir este nível, a não ser que se disponha de uma técnica e de uma rotina de redacção perfeitas e optimizadas? Alguns relatórios de “referees” complicativos são susceptíveis de lançar a confusão em qualquer calendário.

Embora estas considerações permitam concluir que a quantidade das publicações é pouco apropriada para avaliar um cientista, também seria falso pensar que uma longa lista de publicações é intrinsecamente duvidosa. Conheço colegas com uma actividade muito intensa nesse campo, nos quais a quantidade não surge em prejuízo da qualidade. Há um colega, por exemplo, que até poderíamos acusar de querer quebrar *records*, um colega que, aliás, estimo especialmente. No entanto estimo-o mais *apesar da sua produtividade* do que *por causa dela*. Embora não devamos sobrestimar as produções de ponta no campo do número de publicações, a falta de publicações pertinentes constitui, apesar de tudo, um factor negativo extremamente revelador.

Dado que o número de artigos não nos proporciona uma informação fiável sobre a produção científica, podemos perguntar-nos se existem critérios mais adequados. Penso ser conveniente renunciar totalmente a uma lista completa de publicações, aquando de uma candidatura ou noutra ocasião qualquer, convidando o autor – caso se trate da sua obra curricular – a citar aproximadamente dez obras que ele próprio considera como as mais importantes. Estas obras seriam examinadas a fundo. No contexto de um pedido de subsídio para um projecto de investigação, as cinco melhores publicações

(aproximadamente) dos últimos cinco anos poderão ser consideradas como as mais pertinentes. Estas obras deveriam ser analisadas por um perito competente, o que, logicamente, implica, uma avaliação subjectiva. Independentemente desta análise, as publicações escolhidas poderiam ser estudadas à luz da categoria do seu órgão de publicação, do número de co-autores ou da frequência de citações, independentemente da respectiva valorização.

O "RANKING" SEGUNDO A QUANTIDADE DE CITAÇÕES

Enquanto a quantidade de publicações constitui, de um certo modo, uma medida da produtividade científica, a frequência com que se cita um autor revela a medida da atenção que se presta à sua obra. À primeira vista, este critério parece ser preferível para avaliar a qualidade. A popularidade do *Science Citation Index* revela que este critério é muitas vezes levado a sério, tornando-se, porém, um tanto ao quanto duvidoso se o analisarmos mais de perto.

AUTOCITAÇÕES

A maior parte das avaliações baseadas na frequência das citações, por exemplo a chamada lista Pendlebury³, não distingue entre citações de obras pelo próprio autor e das citações por outros autores. Poderemos levar em conta apenas estas últimas como medida da consideração que nos merece um autor, pois as primeiras podem destinar-se mais à publicidade que um autor tenta angariar. No entanto, as autocitações não são ilegítimas, pois também é preciso chamar a atenção para os próprios trabalhos, que são a base dos artigos subsequentes. Deste modo facilita-se, ao leitor, a investigação da obra anterior do autor. Podem, por outro lado, suprimir-se as citações dos próprios trabalhos, embora não seja sempre fácil, quando, por exemplo, se parte de um banco de dados, em que, apesar de es-



"Muito bem, Senhor Abadia, mas há ainda um pequeno defeito na sua lista de autores: o alfabeto só deve começar a seguir ao seu chefe!"

tarem documentados todos os autores do trabalho citado, só estão referidos os dois primeiros do trabalho que contém a citação. Nessa altura, não é possível detectar se muitas citações são apenas autocitações. O director de um grupo de trabalho também pode ocultar, cientemente, as autocitações, não mencionando o seu nome como co-autor nos trabalhos em que se cita um grande número dos seus próprios artigos. Afirma-se amiúde que as autocitações têm pouco peso, quando comparadas com as citações de outros autores, o que, na realidade, é uma conclusão errada, tal como demonstrado pelo seguinte exemplo. Um autor pode levar a cabo 300 publicações, o que não é um caso raro. Se forem citados 20 trabalhos próprios em cada uma destas publicações, chegamos a 6000 citações. O autor situar-se-á, então, entre os primeiros lugares da lista de Pendlebury, e tudo isto devido às citações da sua própria obra.

IGUALDADE DE OPORTUNIDADES?

Os autores conhecidos são mais citados do que os desconhecidos – independentemente da importância do respectivo trabalho. Se um autor tiver muitos amigos, será mais consi-

derado do que se for um investigador solitário. Os trabalhos publicados em revistas de grande circulação chamam mais a atenção do que os publicados em revistas de pequena tiragem. A predominância dos Estados Unidos em muitos domínios corresponde à opinião, ainda muito divulgada, de que os Estados Unidos ocupam em tudo o primeiro lugar. É por isso que não só os americanos, mas também os europeus ou os asiáticos citam, de preferência, trabalhos americanos. Por motivos pouco claros, há certas publicações que ocupam um lugar de primazia, sendo a sua citação considerada como extremamente elegante.

Num determinado campo, citam-se por vezes os trabalhos variados realizados por numerosos autores mais frequentemente do que quando se trata de um tema estudado por um grupo restrito de cientistas. Não se pode, portanto, falar de igualdade de oportunidades com respeito ao *Citation Index*.

CITAÇÕES DO CONHECIMENTO GERAL

Há trabalhos verdadeiramente importantes que deixam de ser citados pouco tempo após a sua publica-

ção, o que acontece no caso de terem ingressado nos manuais de ensino ou se um conceito científico é directamente associado ao nome do seu descobridor ou inventor.

Ao utilizar a reacção Diels-Alder, ninguém se lembraria de citar os trabalhos originais destes autores, o que tão-pouco ocorreria a alguém que regista espectros de Mössbauer ou se esforça por conseguir uma solução aproximada da equação de Schrödinger. O “*magic angle spinning*” ou a ciclovoltametria são métodos tão universalmente aplicados que seria absurdo mencionar, em cada caso, os trabalhos originais sobre estas matérias.

Contudo, citam-se, ocasionalmente, trabalhos muito antigos, por vezes porque incluem matérias que não são do conhecimento geral ou porque não foram “canonizados”, sabe-se lá por que motivos. Lembrome, por exemplo, do artigo de Koopmans sobre o chamado teorema de Koopmans, segundo o qual as energias orbitais de um cálculo SCF constituem aproximações dos potenciais de ionização de uma molécula, o que, de facto, não é um teorema, mas uma regra. A justificação fornecida por Koopmans não explica, na realidade, por que razão este teorema é tantas vezes aplicável. Neste caso, a citação significa menos uma vénia ao autor, do que um distanciamento, ou uma devolução da responsabilidade. Também o facto de se mencionar sempre o artigo original sobre o chamado teorema de Hohenberg-Kohn nos trabalhos relativos ao método da função de densidade deve ser interpretado como uma espécie de esconjurção, no sentido de “se tratar, em geral, de uma justificação da teoria da função de densidade, destinada àqueles que nela não acreditam”. Em contrapartida, e para continuarmos com os exemplos da teoria dos sólidos, ninguém citará os trabalhos originais relativos às funções de Bloch ou às zonas de Brillouin quando as usa ou menciona. Estes conceitos são do conhecimento geral.

É absolutamente lícito não provar constantemente, por meio de ci-

tações, factos do conhecimento geral, embora corramos talvez o risco de sermos injustos para com o respectivo criador (pelo menos no sentido de um “fetichismo citacional”, apesar de ser uma honra muito maior dar-se o nome do inventor à própria reacção ou método). Na realidade, num trabalho científico, as citações servem para separar uma novidade daquilo que já é conhecido. É preciso indicar as bases sobre as quais se construiu uma obra, utilizando citações originais, tal como também é necessário provar, com citações correctas, que se conhece a literatura relativa ao tema tratado. Ao referir algo que se pressupõe ser do conhecimento do leitor, basta acrescentar a seguinte observação “como é sabido”.

CITAÇÕES EQUITATIVAS

No que respeita a um determinado tema, existem, na grande maioria dos casos, tantos trabalhos pertinentes, que não é possível citá-los todos. É raro, porém, tomar-se a decisão de só citar o primeiro trabalho essencial. É mais frequente citar um trabalho relativamente recente, acompanhado da seguinte observação: “e a literatura aí citada”, o que constitui, na maioria dos casos, uma informação suficiente para o leitor. No entanto, os trabalhos de citação indirecta não aparecem no *Citation Index*. Prefere-se a citação de artigos de revisão aos trabalhos originais, o que também é do agrado do leitor. Contudo, aquele que opina que “o tratamento equitativo dos autores e o reconhecimento das prioridades fazem parte de um método correcto para referir citações”, terá uma atitude crítica frente à citação de artigos de revisão. Deveríamos, porém, aceitar o facto de ser quase impossível ter uma atitude equitativa ao escolher as citações, o que, evidentemente, reduz o seu valor como critério de qualidade.

Embora não se utilizem citações para provar factos que já passaram a ser do conhecimento geral, é preciso utilizá-las para provar modificações

específicas. No que respeita ao conjunto de funções de base para os cálculos de química quântica, ninguém cita o trabalho original de Boys, nem a primeira compilação sistemática das bases de Gauss realizada por Huzinaga. No entanto, citam-se conjuntos de funções de base de aplicação muito restrita, mas mais recentes. Referem-se, de preferência e com frequência, factos marginais e de curta duração, o que é perfeitamente compreensível e faz sentido. Acontece muitas vezes as citações não serem tão lisonjeiras como um autor teria gostado que fossem. O meu trabalho mais citado (suponho!) não o foi, muitas vezes, devido ao seu conteúdo, mas apenas ao tipo de conjunto de funções de base nele proposto.

CITAÇÕES POR OBRIGAÇÃO

Também existe o problema das citações “impostas”. Por exemplo, quando adquirimos *software* para cálculos de química quântica ou outros cálculos, assumimos, normalmente, a obrigação de citar determinados trabalhos nas publicações em que utilizamos esse *software*, o que parece justificar-se, em parte, pelo facto de os autores dos métodos se encontrarem em situação de desvantagem frente aos aplicadores, no respeitante ao número de publicações conseguidas por unidade de tempo. É, portanto, aconselhável prever uma certa compensação. Porém, tudo isto se opõe à liberdade que deveria ter um cientista, para decidir quais os trabalhos que ele considera como pertinentes e dignos de citação. Evidentemente que é preciso indicar a fonte quando se aplica o método adoptado, mas deveríamos poder tomar a decisão, caso a caso, optando por exemplo em alternativa por uma referência nos agradecimentos ou, excepcionalmente, oferecendo a co-autoria ao inventor do referido método. Tão-pouco está bem claro se alguém que comercializa um *software* pode continuar a impôr determinadas formas de citação. No que respeita ao pacote comercial MATHEMATICA, cuja capacidade é muito superior à

maior parte dos pacotes de *software* químico, não é imposta nenhuma forma como se irá fazer referência à utilização daquele pacote.

ERRATAS E AUTO-elogios

Quando se cita um trabalho, o sentido da citação não terá, obrigatoriamente, carácter de reconhecimento positivo. Também se pode criticar ou descompor um trabalho citado. Uma errata mencionada em relação a um artigo aumenta imediatamente o número das respectivas citações.

Tal como a sobrevalorização do número de publicações conduz, ou já conduziu, em parte, a uma alteração do respectivo comportamento, surgindo, por exemplo, uma tendência para a "*least publishable unit*"⁴ (menor unidade publicável) ou para publicações cuja lista de referências é mais longa do que o texto propriamente dito, o "*ranking*" segundo a quantidade de citações exercerá ou já exerce uma influência considerável sobre as citações. Continuará a aumentar o número de autocitações, os grupos amigos juntar-se-ão para formar cartéis de citação, e os "*referees*" estarão particularmente interessados na citação adequada dos seus próprios trabalhos. As tentativas de limitar o abuso de citações serão sempre uma luta inglória. Haverá, possivelmente um dia, queixas judiciais contra o esquecimento indevido de determinadas citações. Acontece também que a ajuda a um colega em matéria de publicação é recompensada com citações adicionais do trabalho daquele que o ajudou. As listas bibliográficas tornam-se tão compridas e intrincadas, que acabam por tornar-se perfeitamente inúteis.

LISTAS NEGATIVAS

Embora seja difícil, também deveríamos atribuir um peso maior ou menor às citações, conforme a maior ou menor importância que o trabalho citado tem para a publicação em que é citado. Atribuir-se-ia um valor

ponderado igual a zero aos trabalhos que saem do contexto, bem como às autocitações e às citações compulsivas. Recomendamos um valor negativo para os trabalhos citados sob a forma de crítica. Também poderíamos imaginar um factor de ponderação inversamente proporcional ao factor "impacto" da revista na qual apareceu o trabalho citado. Quando se considera um artigo publicado numa revista pouco conhecida, a respectiva classificação deveria ser superior à classificação dada a um artigo publicado numa revista de maior divulgação se a primeira for igualmente exigente.

Quiçá deveríamos utilizar as listas de citações apenas como avaliação negativa, tal como acontece com as listas de publicações. Quando os trabalhos de um autor nunca são citados, salvo quando é ele próprio que o faz, é provável que estes trabalhos não sejam particularmente importantes. A alternativa é tratar-se de artigos pioneiros.

QUALIDADE ≠ QUANTIDADE

Talvez não fosse mau chegarmos à conclusão de que são efectivamente quantificáveis certos aspectos da produção científica. Estes aspectos incluem, por exemplo, as qualidades secundárias de um cientista, tais como a assiduidade, a persistência, o poder de iniciativa, as qualidades de gestão e organização. Em contrapartida, as qualidades tais como a criatividade, a originalidade, o sentido do humor, a elegância, a profundidade, a amplitude de visão e – por que não? – a genialidade, bem como, sobretudo, a honestidade, não são, pela sua própria natureza, susceptíveis de quantificação, o que provavelmente tão-pouco deixa de ser positivo.

Uma classificação que se baseie na quantidade de publicações ou no número de citações deveria ser considerada como aquilo que é, ou seja, uma mera curiosidade e um exemplo de que nunca se deixa de fazer, concretamente, tudo aquilo que é tecnicamente possível fazer-se.



"Caro colega! É neste trabalho de McCurry que fui citado pela primeira vez!"

Caricaturas de Constanze Heller, Düsseldorf.

Tradução de A. Mosch Pinto e B. J. Herold

* Werner Kutzelnigg nasceu em Viena em Setembro de 1933. Estudou química em Bona ("*Vordiplom*" – equivalente a bacharelato - em 1954) e Friburgo ("*Diplom*" - equivalente a mestrado - em 1958), doutorando-se em 1960 com o Prof. R. Mecke, com uma tese sobre espectroscopia no I.V. Após estadas de pós-doutoramento em Paris, trabalhando com B. Pullmann e G. Berthier (1960-1963) e em Uppsala, com P.O. Löwdin (1963/64), prestou provas de agregação ("*Habilitation*" em 1967, em Göttingen. Entre 1970-1973, foi Professor na Universidade de Karlsruhe e transferiu-se, em seguida, para a Universidade de Bochum, no Ruhr. Durante o encontro anual dos docentes universitários de química na Alemanha de 1996, recebeu a medalha comemorativa "*Liebig*" da "*Gesellschaft Deutscher Chemiker*" – Sociedade de Químicos Alemães. Trabalha no domínio da Química Teórica e debruça-se em particular sobre o desenvolvimento de novos métodos de cálculo, incidindo, em especial, na correlação dos electrões nas moléculas, na química quântica relativista, nas propriedades magnéticas das moléculas, na teoria das ligações químicas, nas forças intermoleculares e nos aspectos formais e matemáticos das teorias.

¹ A instituição que na Alemanha tem funções análogas às da FCT Fundação para a Ciência e Tecnologia em Portugal.

² "*Habilitation*" na Alemanha.

³ D. Pendlebury (Institute for Scientific Information, 3501 Market Street, Philadelphia, PA 19104, USA), *ISI's Most Cited Chemists 1881 – June 1997. Ranked by total citation.*

⁴ *Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis*. Memorial da DFG. Wiley-VCH. Weinheim. 1998.

Aécio Pereira Chagas, *Termodinâmica Química: Fundamentos, Métodos e Aplicações;*

Editora da Unicamp: Campinas, 1999. 409 págs.

ISBN 85-268-0466-9. Distribuído em Portugal por Dinapress.

Preço: 6300\$00 + IVA

Pertenço ao grupo de pessoas que não hesitam em recomendar um (bom) livro de texto aos seus alunos e de seguir esse texto nas aulas. Há quem diga que esta é uma atitude “pouco universitária”, porque se deve estimular a aprendizagem através de várias fontes bibliográficas, algumas descobertas pelos próprios estudantes. Embora, em teoria, concorde com este princípio, a nossa pesada estrutura curricular, que impõe um ritmo de estudo elevado e obriga que a atenção dos alunos se disperse por demasiadas disciplinas, desaconselha a sua aplicação, em particular nos dois primeiros anos de uma licenciatura. Por outro lado, as chamadas disciplinas de carácter geral, que correspondem às áreas tradicionais da Química (Química-Física, Química Inorgânica, Química Orgânica, Química Analítica, Bioquímica), devem proporcionar aos alunos uma visão abrangente e equilibrada de cada uma dessas áreas, não reflectindo os interesses científicos de quem ensina. Nada melhor que um bom livro de texto para evitar essas distorções.

No meu critério de escolha de um livro para recomendar aos alunos pesa muito mais a qualidade científica e pedagógica da obra do que a língua em que é publicada. Como são escassos os livros de texto científicos escritos (ou traduzidos) em português, a minha preferência tem sido sempre recomendar uma obra de língua inglesa. Sei que a opção exige um esforço adicional dos alunos, mas mais vale que estes se habituem desde o início da sua licenciatura que a comunicação científica e técnica se faz em inglês. Na minha área (Química-Física), a oferta de livros de texto é particularmente rica – em quantidade e em qualidade.

Todo este intróito pareceu-me necessário para fundamentar a minha opinião sobre o novo livro de Aécio Pereira Chagas, professor do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), uma das melhores instituições universitárias do Brasil. O livro é sobre Termodinâmica Química e, segundo o seu autor, destina-se principalmente a estudantes de graduação em Química, mas pode também ser utilizado por estudantes de outras áreas (como Engenharia Química) e por estudantes de pós-graduação. Isto significa que o livro trata simultaneamente assuntos básicos, mas também explora tópicos mais avançados, normalmente não incluídos nas disciplinas de carácter geral de uma licenciatura. O texto pressupõe que o leitor tenha conhecimentos de Física Geral e de Química Geral. No entanto, nota-se que mesmo

os assuntos mais elementares são introduzidos de forma “suave”, isto é o autor teve a caridade de recordá-los ao leitor (embora, obviamente, de forma resumida).

Os 12 primeiros capítulos do livro *Termodinâmica Química: Fundamentos, Métodos e Aplicações* desenrolam-se por uma ordem próxima de outros textos sobre o mesmo assunto. Após um breve capítulo introdutório designado por *Conceitos Fundamentais*, onde se analisam os objectivos da Química, da Termodinâmica Química, e grandezas como energia cinética e potencial, trabalho, calor, temperatura, etc., seguem-se: *Sistemas Termodinâmicos* (Cap. 2), *Primeira Lei da Termodinâmica* (Cap. 3), *Termodinâmica* (Cap. 4), *Segunda e Terceira Leis da Termodinâmica* (Cap. 5), *Termodinâmica de Uma Fase Pura* (Cap. 6), *Condições Gerais de Equilíbrio* (Cap. 7), *Equilíbrios de Fases em Substâncias Puras* (Cap. 8), *Misturas e Soluções – Potenciais Químicos e Actividades* (Cap. 9), *Sistemas de Composição Variável* (Cap. 10), *Equilíbrios de Fase em Sistemas de Composição Variável* (Cap. 11) e *Células Galvânicas* (Cap. 12). O Capítulo 13 trata de *Gases Reais* e é o último que o autor considera como obrigatoriamente fazendo parte de uma disciplina introdutória. Daqui em diante, os assuntos são considerados mais avançados: *Termodinâmica e Estrutura* (Cap. 14), *Equilíbrios Múltiplos em Sistemas Heterogéneos* (Cap. 15), *Termodinâmica das Superfícies* (Cap. 16), *Algumas Aplicações Tecnológicas* (Cap. 17) e *Termodinâmica Estatística* (Cap. 18). O livro contém ainda três apêndices (tópicos de Matemática, tabelas de constantes e propriedades termodinâmicas, e um resumo das relações mais utilizadas da Termodinâmica Química), terminando com uma bibliografia e com um índice de assuntos.

Creio que o Professor Aécio Pereira Chagas conseguiu dar uma visão geral equilibrada da Termodinâmica Química. No entanto, tenho dúvidas se este seria o texto que eu recomendaria como uma primeira abordagem ao assunto. Continuo a preferir o estilo pedagógico de P. Atkins (*Physical Chemistry*, Oxford University Press), se a matéria de Termodinâmica Química se integrar numa disciplina de Química-Física, ou a concisão e o rigor de K. Denbigh (*The Principles of Chemical Equilibrium*, Cambridge University Press), se a disciplina tratar exclusivamente de Termodinâmica Química. No entanto, creio que o livro de Aécio Pereira Chagas poderá ser um bom complemento em qualquer um desses casos, uma vez que os assuntos são abundantemente ilustra-

dos com exercícios resolvidos e – convém não esquecer, estão escritos em português! A propósito, é pena que os termos científicos utilizados no Brasil e em Portugal não tenham um pouco mais de normalização. Por exemplo, “surroundings”, que nós traduzimos por “vizinhanças” aparecem como “ambiente” no Brasil.

O que menos gostei do livro de Aécio Pereira Chagas foi a simbologia utilizada, que se diz conforme com as normas da IUPAC, mas está incorrectamente impressa. Isto poderá ser um pormenor, mas é importante que os estudantes convivam com nomenclatura e símbolos correctos. Exemplos: V_m em vez de V_m , μ em vez de μ , ϕ em vez de ϕ , C_p e C_v em vez de C_p e C_v , ΔH_m° em vez de $\Delta_f H_m^\circ$, ΔH em vez de $\Delta_r H$.

É natural que numa obra tão vasta surjam algumas gralhas e até alguns erros, mas se essa obra é um livro de texto há que ser particularmente cuidadoso. A minha leitura não foi feita com um espírito de detecção aguçado, mas creio que o livro mereceu uma revisão cuidadosa. No entanto, dou exemplo de dois tópicos que o autor poderia repensar em edições futuras. Um deles tem a ver com a afirmação, feita na pág. 341, que as intensidades das bandas num espectro de rotação-vibração são determinadas pelas populações dos níveis de energia rotacionais. Embora isso seja correcto, é apenas parte da história: as intensidades são também determinadas pelo momento dipolar da transição, o qual depende do valor de J (número quântico rotacional). O outro exemplo tem a ver com a afirmação (pág. 41) que não se pode computar rigorosamente a energia total de uma molécula, “a qual carece de sentido físico”. A introdução da célebre relação de Einstein ($E = mc^2$) parece não só negar esta afirmação como também pode proporcionar uma discussão simples e interessante sobre a validade da lei da conservação da massa.

Em resumo, creio que o livro *Termodinâmica Química: Fundamentos, Métodos e Aplicações* será um auxiliar valioso para os nossos estudantes de Química-Física (Termodinâmica Química, em particular), mas mais como fonte de revisão de conceitos e aplicações do que como livro de texto introdutório.

J. A. Martinho Simões
Departamento de Química e Bioquímica
Faculdade de Ciências – Universidade de Lisboa
1749-016 Lisboa

Jacinto Rodrigues, *A Conspiração Solar do Padre Himalaya;*

Árvore, Cooperativa de Actividades Artísticas: Porto, 1999. 287 págs.
ISBN 972-9089-44-2. Distribuído por Árvore,
Cooperativa de Actividades Artísticas. Preço: 6300\$00

Manoel António Gomes, alcunhado Himalaya por um colega de seminário, devido à sua elevada estatura, foi um sacerdote com um percurso invulgar. De origem rural e humilde (nasceu em Santiago de Cendufe, Minho, em 1868), aos 15 anos foi para o Seminário de Braga. Aqui, graças a uma biblioteca rica em obras científicas e a um laboratório de Física no Colégio Espiritano, começou a florescer o seu interesse por ciência. Leu avidamente obras de Química, Física, Zoologia, Botânica e Geologia. Em 1891 foi ordenado sacerdote e, cinco anos mais tarde, após uma visita à Alemanha onde observou os métodos de cura pela água desenvolvidos pelo monsenhor Sebastian Kneipp, tornou-se um fervoroso adepto da hidroterapia e da medicina natural. Em 1898 foi nomeado capelão e professor do Colégio da Visitação, no Porto. Conheceu Ferreira da Silva (o fundador da SPQ) e frequentou cursos livres ministrados por este químico no Laboratório de Química da Câmara Municipal do Porto. Em 1899 partiu para Paris (onde assistiu a aulas de Berthelot no Colège de France) e aí patenteou e construiu o seu primeiro modelo do forno solar (um “aparelho para a obtenção de altas temperaturas pela radiação solar”). Este dispositivo, desenvolvido nos anos seguintes, ficou conhecido como *pyreliophero* e valeu-lhe a medalha de ouro na Exposição Universal de St. Louis (EUA), em 1904.

Em 1906 o padre Himalaya patenteou (nos EUA) um explosivo a que chamou *himalayite* (“melhoria no processo de fabricar pólvora sem fumo”) e que se caracterizava pela “vivacidade da sua reacção” (comparável à da dinamite) e pela insensibilidade ao choque, à fricção e à trepidação. Era, além disso, fácil e barata de preparar. A *himalayite* foi extensivamente testada em laboratórios dos EUA e patenteada em vários países. Em Portugal, fizeram-se experiências na Quinta da Penha Longa, em Sintra, duas com a presença do rei D. Carlos. A *himalayite* deu origem a uma empresa, a Companhia Himalayite, registada em cartório em 1909, e cuja fábrica foi instalada em Palhais, na Quinta da Caldeira. Curiosamente, um dos sócios da empresa era uma firma designada por Herold & Ca..

Os inventos e patentes de Manoel Himalaya não se esgotaram no *pyreliophero* e na *himalayite*. Incluíram também, por exemplo, um “motor directo”, um “turbo-motor” e um “processo e aparelho de fabri-

co de adubos completos dotados de acção catalítica”, destinado à reciclagem de lixos domésticos. Além das suas actividades de inventor, o padre Himalaya interessou-se por uma variedade de temas dos mais sérios aos mais esotéricos e em alguns avançou ideias inovadoras. A irrigação e arborização de terras, a utilização de quedas de água para produção de energia, as melhorias nas indústrias da pesca, a defesa de espécies animais úteis à agricultura, a implementação de métodos para promover o “robustecimento da raça”, a construção de uma ponte levadiça sobre o Tejo (na zona do Beato em direcção ao Montijo), o aproveitamento da energia das marés, a sismologia, o betão armado na construção anti-sísmica, a energia geotérmica, a fitoterapia, a defesa da teoria de Darwin (em oposição à opinião oficial da Igreja), a radiestesia, a grafologia, foram alguns desses temas. Realizou também muitas intervenções públicas, através de artigos e palestras, muitas destas proferidas no âmbito da Academia das Ciências de Portugal. Numa delas argumentou, com base na análise das experiências do padre Bartolomeu de Gusmão, que este teria utilizado hidrogénio (e não ar quente) na sua passarola, concluindo-se assim que Gusmão teria produzido H_2 quase 70 anos antes de Cavendish (1777).

Se tivesse nascido num outro país, talvez o padre Himalaya tivesse sido um Edison ou um Bell. Mas a sua enorme curiosidade e capacidade de fazer perguntas importantes nem sempre conseguiram ultrapassar o obstáculo da sua deficiente formação científica, obtida de forma totalmente autodidáctica. Por exemplo, Himalaya acreditava na existência do éter e considerava que a matéria não era exclusivamente constituída por átomos.

Não sei o que motivou o Doutor Jacinto Rodrigues, professor da Faculdade de Arquitectura da Universidade do Porto, a dedicar alguns anos da sua vida a viajar pelos quatro cantos do mundo em busca de informação sobre a vida e a obra de Manoel Himalaya. Há muito que o nome do sacerdote, bem como o seu *pyreliophero* e a sua *himalayite*, me eram familiares (o meu Avô, um bibliófilo incurável, manteve um dossier sobre Himalaya, com recortes, cartas e fotografias, algumas que acabaram por ser úteis ao autor da *Conspiração Solar*). No entanto, não conhecia nada tão exaustivo e tão bem fundamentado sobre o padre Himalaya. Nunca me



tinha apercebido da sua personalidade fascinante (um misto de intelectual e charlatão, de cientista e curandeiro, de filantropo e negociante). Não fazia ideia dos seus dotes de conquistador: os seus projectos foram quase sempre (generosamente) financiados por mulheres... Ignorava que o padre tinha sido sócio fundador da Sociedade de Química Portuguesa (actual SPQ).

Embora de início me tenha desagradado um pouco o estilo demasiado telegráfico da prosa do Doutor Jacinto Rodrigues, o facto é que me fui habituando e o estilo ficou esquecido perante a capacidade que o autor revela em entusiasmar o leitor, não apenas pela vida e obra do padre Himalaya, mas também através da própria narrativa da longa investigação realizada (busca de fontes documentais, iconográficas, orais). Um pormenor interessante da *Conspiração Solar* é que Jacinto Rodrigues decidiu solicitar depoimentos de “especialistas” sobre algumas das obras e opiniões do padre Himalaya. Foi pena que, entre esses, não tivesse incluído o parecer de um químico habilitado a comentar a *himalayite*. Uma outra falha do livro é não conter um índice analítico, que julgo indispensável numa obra de referência como esta. Embora não consiga substituir esse índice, o livro inclui um quadro cronológico bastante detalhado. A bibliografia é, também, bastante cuidada.

Recomendo pois a leitura do livro do Doutor Jacinto Rodrigues, uma obra que merecidamente teve o apoio da Fundação para a Ciência e a Tecnologia.

J. A. Martinho Simões
Departamento de Química e Bioquímica
Faculdade de Ciências - Universidade de Lisboa
1749-016 Lisboa

A. EN

A1. Camsizer

A metrologia das partículas por processamento de imagem digital tem oferecido recentemente uma nova alternativa à análise de partículas. Com este método é possível satisfazer um elevado número e variedade de requisitos da metrologia industrial com elevado alcance para um grande intervalo granulométrico (36µm a 16mm). A informação do tamanho das partículas é fiável, feita com rapidez e elevada resolução. É um equipamento robusto, não é susceptível a interferências por forças exteriores, o que significa que possa ser utilizado em laboratórios, áreas de produção ou em aplicação "on-line" permitindo o controlo de um grande volume de matéria.

APLICAÇÃO: Dentro dos limites médios de medição o CAMSIZER DA RETSCH está adequado para todos os sólidos não aglomerados, ex.: areias, detergentes em pó, sal, fertilizantes e vidro.

CAMSIZER é uma alternativa especialmente atractiva para análises tipo peneiração, nas seguintes circunstâncias:

- Quando o manuseamento fácil e rápido é difícil de obter (o que acontece com muitas análises minúsculas);

- Quando tiverem que ocorrer várias operações durante uma análise, ex.: controlo de qualidade contínuo;

CAMSIZER traz benefícios económicos (evitam-se desperdícios);

- Quando se pretende uma medição que forneça mais elementos (distintos por número grande variedade de espécies individuais, determinação exacta do tamanho de partículas, análise de forma das mesmas, etc.)

A2. GRINDOMIX

Novo moinho para área alimentar e biológica.

O moinho GRINDOMIX - GM200 - é um sistema inovador e profissional para preparação de amostras para análise laboratorial:

- Produtos secos, contendo água e/ou gordura.

- Manuseamento simples rápido e seguro

- Curtos períodos de moagem

- Parâmetros de trabalho reprodutíveis (indicação digital do tempo e velocidade)

- Volume de amostra aprox.: 100ml até 700 ml

- Dimensões 200x370x270mm; peso 7,5 Kg

- Motor industrial - 700 W

EXEMPLOS DE APLICAÇÃO:

cereais, vegetais, queijo, salame, carne, peixe, pimentos, batatas, laranjas, produtos enlatados, cogumelos, sopas instantâneas, massas alimentares, pão, alguns produtos congelados tais como ervilhas e cenouras, frutos secos, grão de cacau, etc.

A3. ICP — Tecnologia CCD

O modelo **CIROS** fabricado pela **SPECTRO ANALYTICAL INSTRUMENTS**

- Alemanha, é o mais recente espectrómetro de emissão óptica com fonte de **PLASMA (CCD)** lançado no mercado Mundial.

Da experiência acumulada resulta, por um lado o melhor desempenho por outro a optimização dos custos de produção.

Na qualidade de representantes exclusivos da **SPECTRO ANALYTICAL INSTRUMENTS**, o nosso especialista de produto está à disposição para prestar esclarecimentos relativos a aplicação, serviço e preço.

F4. Estufas/Incubadoras MMM

Após o lançamento inicial de estufas com e sem ventilação forçada Venticel/Ecocell e incubadoras (+5 a 70°C). A MMM lançou recentemente 3 novos tipos de estufas.

• **Estufas sem ventilação forçada** - com revestimento interior em Epolon (anti-corrosivo) preparada para trabalhar com a maioria dos reagentes que existam no mercado.

Características: Volume: 55-111-222-404-707 litros; Temperatura: max 125°C; Revestimento interior em Epolon; Prateleira com revestimento em Epolon.

• **Estufa de vácuo** - Características: Volume: 22 litros; Indicador de pressão; Válvula gás/ar ajustáveis; Porta com válvula segurança Ventiflex; Vácuo (max) 10⁻³; Temperatura: +5 a 200°C.

• **Incubadora refrigerada** - Características: Temperatura: 0° a 999°C; Volumes: 55-111-222-404-707 litros; Cartão de acesso e programação da incubadora; Variação: ±0,1°C; 4 programas de trabalho.

B. KONIK-TECH

B1. Novo KONIK HRGC Série 4000 B PEAK POWER

O Grupo Konik é o único fabricante actual europeu que desenha, fabrica e distribui linhas completas de Cromatografia de Gases e HPLC, exportando actu-

almente para mais de 70 países com oficinas próprias nos Estados Unidos e América Latina. Como fruto dos mais de 25 anos de experiência como fabricantes espanhóis únicos nestas tecnologias, desenvolvemos o **KONIK HRGC 4000 B PEAK POWER**, inigualado tecnologicamente por nenhum outro equipamento da concorrência, com o único objectivo de satisfazer os compromissos analíticos mais exigentes a uns preços acessíveis adequados a qualquer situação. As principais novidades introduzidas no **PEAK POWER** são as seguintes:

1.- Novo forno com controlo de temperaturas PID, programação de até 15 rampas e precisão de temperaturas de 0.1°C visualizado no ecrã (Somos 10 vezes mais reproduzíveis que qualquer outro!).

2.- Novo microprocessador com ecrã retroiluminado gráfico. Permite visualizar todos os parâmetros de um método simultaneamente, assim como o cromatograma de saída e o programa de temperatura.

3.- Novo Injector Capilar Multimodo Universal Livre de purga de septum com EPC. Só com poupança do gás de purga, terão o equipamento amortizado em menos de 3 anos!. Eliminamos totalmente a discriminação de compostos voláteis, graças à estância do injecto e eliminação da purga de septum.

4.- Novos detectores FID, ECD, NPD e TCD totalmente redeseenhados e digitalizados com EPC. A fantástica sensibilidade dos FID e ECD, avaliada por múltiplos clientes, adicionamos a maior linearidade.

PARA INFORMAÇÕES MAIS DETALHADAS SOBRE OS NOVOS PRODUTOS RECORTE AS FICHAS QUE LHE INTERESSAREM E ENVIE DENTRO DE UM SOBRESCRITO PARA A MORADA RESPECTIVA

EN - Equipamentos de Análise e Ensaio, Lda.
 Campo Mártires da Pátria, 109 - 1150-227 LISBOA
 Tel. (01) 352 72 93 - Fax (01) 352 85 41
 Rua de Real, 1210 A/B - 4470 MOREIRA MAIA
 Tel. (02) 948 68 68 - Fax (02) 948 61 32

Pretendo informações sobre o(s) produto(s):

- A.1
- A.2
- A.3
- A.4

KONIK-TECH
 Rua Prof. Barbosa Sueiro, Ed. M1.2
 Estúdio 2, Telheiras, 1600 LISBOA

Pretendo informações sobre o(s) produto(s):

- B.1

Nome _____

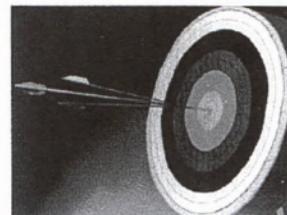
Morada _____

Telefone _____ Fax _____

Nome _____

Morada _____

Telefone _____ Fax _____



Espectrómetros para análise química.

▲INDÚSTRIA

▲AMBIENTE

▲EXTRACTIVA

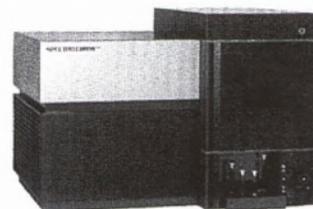
▲QUÍMICA

Emissão óptica

ICP – Tecnologia CCD*

120 – 800 nm

Sistema óptico circular

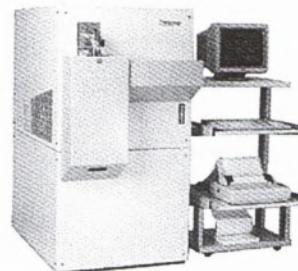


Faixa

Para a indústria metalúrgica e metalomecânica

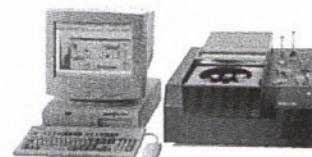
120 – 800 nm

Opção: Sistema Mapping com varrimento da superfície da amostra para detecção de inclusões e segregação em metais.



Raio-X

Por fluorescência, de energia dispersiva polarizada (EDXRF)



Glow discharge

Para a análise química e análise superficial (tratamentos térmicos e superficiais metálicos)

Mais de 40 unidades instaladas.

Tecnologia alemã a preços económicos.

*Estamos a organizar um seminário
Para inscrições, favor contactar-nos.

Importador exclusivo:



EQUIPAMENTOS DE ANÁLISE E ENSAIO, LDA.

LISBOA PORTO

Campo Mártires da Pátria, 110

R. de Real, 1210 - A/B - Moreira

Tels. (01) 352 85 41 · 356 04 54 · 352 72 93 · Fax (01) 352 87 52

Tels. (02) 948 69 05 · 948 68 68 · 948 68 47 · Fax (02) 948 61 32

Telem. 0931 80 87 25 · 1150 LISBOA · PORTUGAL

Telem. 0931 53 16 98 · 4470 MAIA · PORTUGAL

Sodium and Potassium Hydroxide High Purity Pellets

EKA PELLETS

EKA CHEMICALS


AKZO NOBEL

Agentes exclusivos:

SOCIEDADE IMBRASEX LDA, Calçada do Carmo, N° 6 – 4° Dto., 1200 LISBOA
Telefone: 342.06.58/342.48.61 • Telefax: 346.48.50