

uma mistura de 50% da fase BBBT (cristal líquido) em SE-52, e, desta forma, todos os compostos presentes na mistura ser identificados.

Guiochon e cols. (21) analisaram uma amostra de quarenta bifênilas poli-cloradas, em uma coluna de Apiezon-L acoplada a outra de Carbowax 20M, utilizando um procedimento, por eles desenvolvido, que considera o índice de Kovats dos substratos como uma função linear da temperatura e do comprimento de uma das colunas. Um programa interativo de computador estabelece as condições ótimas de análise, com base nas medidas dos índices de retenção correspondentes a quinze diferentes condições experimentais: temperaturas de 170, 175 e 180°C, e cinco sistemas de colunas que têm em comum a mesma coluna de Apiezon-L, acoplada a segmentos de colunas de Carbowax 20M de diferentes comprimentos.

CONCLUSÃO

A utilização de fases mistas em cromatografia com fase gasosa revela-se uma técnica promissora para o aperfeiçoamento de separações cromatográficas em colunas empacotadas e capilares, sendo que os sistemas de colunas acopladas em série apresentam mais vantagens do que o uso de uma única coluna revestida da mistura de duas fases estacionárias.

O método do "diagrama de janelas" desenvolvido para a otimização desses sistemas, baseia-se na linearidade da dependência da retenção cromatográfica com as diferentes composições de fases, podendo ser, portanto, aplicado na maioria das análises comumente feitas por cromatografia com fase gasosa.

Referências Bibliográficas

- ¹ R.J. Laub & J.H. Purnell *Anal. Chem.* **48**, 799 (1976).
- ² R.J. Laub & J.H. Purnell *J. Chromatogr.* **112**, 71 (1975).

- ³ J.H. Purnell *Proc. Anal. Div. Chem. Soc.* p. 136 (1979).
- ⁴ H.J. Maier & O.C. Karpaty *J. Chromatogr.* **8**, 308 (1962).
- ⁵ R.J. Laub & J.H. Purnell *J. Chromatogr.* **161**, 59 (1978).
- ⁶ R.J. Laub & J.H. Purnell *Anal. Chem.* **48**, 1720 (1976).
- ⁷ P. Sandra & M. Van Roelenbosch *Chromatographia* **14**, 345 (1981).
- ⁸ R.C. Kong; M.L. Lee; Y. Rominaga; R. Pratap; M. Iwao; R.N. Castle; S.A. Wise *J. Chromatogr. Sci.* **20**, 502 (1982).
- ⁹ G. Takeoka; H.M. Richard; M. Mehran; W. Jennings *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **6**, 145 (1983).
- ¹⁰ D.F. Ingraham; C.F. Shoemaker; W. Jennings *J. Chromatogr.* **239**, 39 (1982).
- ¹¹ T.W. Smuts; K. de Clerk; T.G. du Toit; T.S. Buys *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **3**, 124 (1980).
- ¹² R.E. Kaiser & R.I. Riedel *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **2**, 416 (1979).
- ¹³ J.H. Purnell & P.S. Williams *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **6**, 569 (1983).
- ¹⁴ J. Krupcik; G. Guichon; J.M. Schmitter *J. Chromatogr.* **213**, 189 (1981).
- ¹⁵ P.F. Tiley *J. Chromatogr.* **179**, 247 (1979).
- ¹⁶ A.W. Littlewood & T. Wilmott *Anal. Chem.* **38**, 1031 (1966).
- ¹⁷ J.C. Touchstone; T. Murawec; A. Nikolski *J. Chromatogr. Sci.* **8**, 221 (1970).
- ¹⁸ R.J. Laub & J.H. Purnell *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 30 (1976).
- ¹⁹ J.F.K. Huber; E. Kenndler; H. Markens *J. Chromatogr.* **167**, 291 (1978).
- ²⁰ A. Waksmunolzki & Z. Syprynowicz *J. Chromatogr.* **18**, 232 (1965).
- ²¹ J. Krupcik; J. Mocak; A. Simova; I. Garai; G. Guichon *J. Chromatogr.* **238**, 1 (1982).

ARTIGO

PIROMINERALIZAÇÃO DE AMOSTRAS COM SAIS FUNDIDOS PARA DETERMINAÇÃO POLAROGRAFICA DE TRAÇOS

Antonio C. Barbosa

Departamento de Química – UnB – 70910 – Brasília – (DF)

Richard Louis Combes

*Laboratoire d'Etudes et de Projets Industriels
ENSCP – 11, Rue P. et M. Curie – 75231 – Paris. Cédex 05 – França*

I. INTRODUÇÃO

Foi publicado recentemente um método para o ataque de amostras biológicas, usando uma mistura eutética fundida de LiCl-KCl sob um fluxo gasoso de HCl e O₂.⁽¹⁾ Esse ataque foi proposto para a determinação polarográfica de

Cu, Pb, Cd, Zn, Cr, Mn, Co e Ni em lamelas de tratamento de esgoto, sem necessidade de extração nem adição de qualquer outro reagente químico.

Testou-se a viabilidade do método para amostra de solos bem como confirmou-se sua validade em amostras padrões de lama. São apresentados os resultados obtidos para duas

delas provenientes da Associação Francesa de Normalização (AFNOR), cujos teores são conhecidos através da média de 15 determinações feitas por 5 laboratórios franceses diferentes.

Por outro lado foram sugeridas algumas modificações ao método visando reduzir o tempo de ataque.

II. DESCRIÇÃO DO MÉTODO

Após o tratamento rotineiro da amostra e secagem em estufa a 105°C, coloca-se na célula de ataque (Fig. 1-D) uma quantidade de peso conhecido, por exemplo 0,2g, juntamente com cerca de 15g da mistura dos cloretos, sendo 44,5% de LiCl e 55,5% de KCl.⁽²⁾

Apesar da fusão da mistura eutética se dar a 360°C recomenda-se, por garantia, atingir os 450°C. A temperatura pode chegar aos 100°C diretamente, sem problemas. Porém na faixa de 100° a 450°C ela deve subir progressivamente com o auxílio de um termo-regulador. Recomenda-se 15° cada 10 min de 100° a 180° e 25° cada 5 min de 180° a 450°C, pois a subida brusca da temperatura poderia provocar perdas por projeções da mistura.

Na proposta original do método, a fusão é mantida a 450°C durante 3 horas, sempre sob o fluxo oxidante e constante de HCl/O₂, cuidando-se para que o borbulhador permaneça em contato íntimo com a mistura. A fig. 1 mostra esquematicamente o dispositivo usado para o ataque. O fluxo de HCl/O₂ é obtido fazendo-se passar O₂ puro com a vazão de 120cm³/min através do frasco A que contém cerca de 100 ml de HCl 12 M. O frasco B, com H₂SO₄ concentrado, é utilizado para reter a umidade da mistura gasosa. A matéria orgânica é assim convenientemente destruída e os metais passam em solução no sal fundido sob a forma de cloretos.

Após o resfriamento, adicionam-se cerca de 80 ml de água muito pura ao tubo contendo o produto sólido obtido, fechando-o em seguida com uma rolha. Para dissolução completa é aconselhável deixar-se o tubo, por alguns minu-

tos, sob agitação mecânica. Após a filtração, completa-se o volume com água num balão de 100 ml, ficando a solução pronta para ser colocada na célula polarográfica.

O controle rigoroso do processo exige que sejam também analisados, tanto o papel de filtro utilizado, após ser calcinado a 800°C em cadinho de platina, como a água de recuperação dos produtos voláteis (frasco F).

A modificação proposta consiste essencialmente em fazer a fusão prévia da mistura dos cloretos de Li e K, numa quantidade suficiente para 3 mineralizações. Colocam-se na célula D cerca de 45g da mistura eutética, convenientemente seca e homogeneizada. Após o processo de fusão a 450°C, espera-se a solidificação da mistura dos cloretos, com o resfriamento. Em seguida, quebra-se o tubo e divide-se o cilindro formado em 3 partes iguais que são guardadas na estufa ou em dessecador à vácuo. Cada um destes pequenos cilindros é utilizado para o ataque posterior de uma amostra de lama ou de solo, podendo então a temperatura ser aumentada rapidamente sem perigo de projeção da mistura uma vez que não existe mais água no sal. A temperatura pode alcançar diretamente os 100°C e em seguida 30°C cada 5 minutos até se atingir os 450°C onde se mantém por 2 horas. É apreciável o tempo e a comodidade que se ganha com esse artifício.

III. VANTAGENS DA MINERALIZAÇÃO COM KCl-LiCl

Os métodos comumente adotados para a solubilização das amostras consistem em ataque com ácidos fortes. Ora são conhecidos em polarografia os inconvenientes apresentados pela alta acidez da solução resultante desse tipo de ataque, diminuindo o domínio de eletroatividade e limitando assim o número de elementos que podem ser dosados. Sabe-se, por exemplo, da dificuldade para a determinação de Cd, Pb e Zn em HCl 1M.

Nesse contexto talvez a principal vantagem da mineralização com KCl-LiCl seja o pH final que fica entre 6 e 7, dependendo evidentemente do pH da água utilizada, elimi-

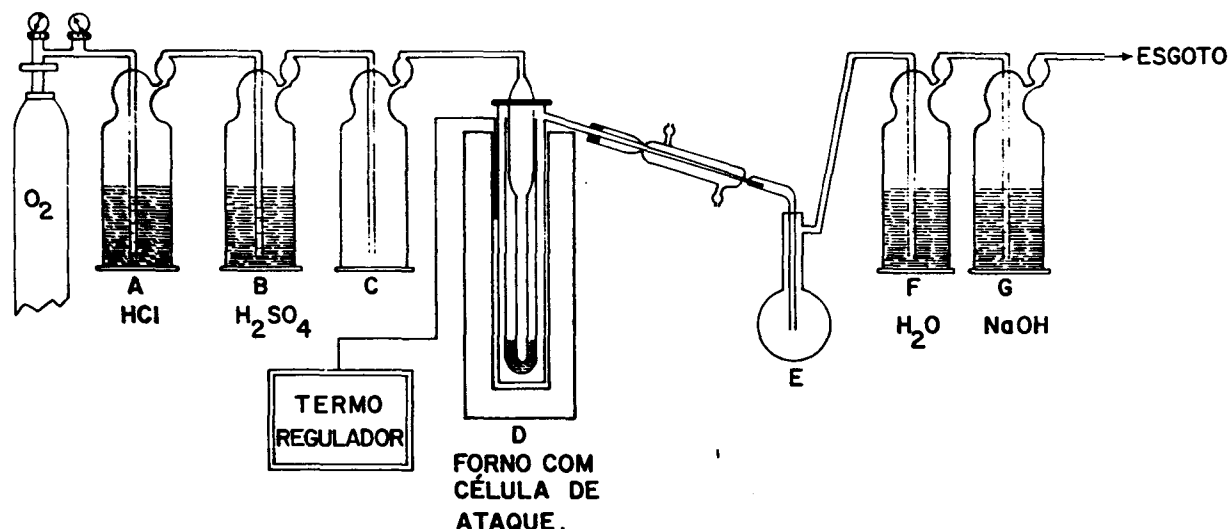


Fig. 1 Montagem para a mineralização com KCl-LiCl

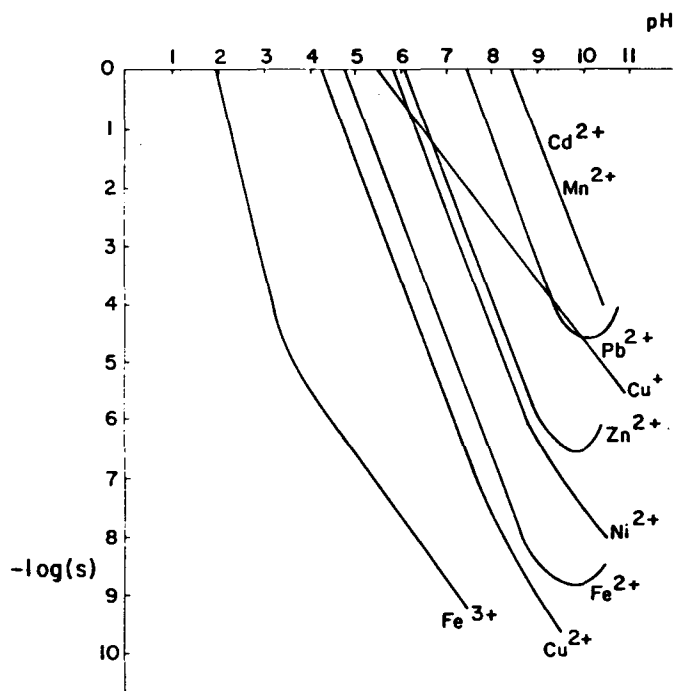


Fig. 2 Solubilidade condicional de metais pesados em solução de Cl^- 2,5 M em função do pH

nando-se assim o muro de redução dos H^+ . Amplia-se portanto a faixa de exploração catódica até cerca de $-1,8\text{V}$, em relação a Ag/AgCl , possibilitando a determinação de elementos como o Mn a $1,5\text{V}$ aproximadamente e melhorando o pico de Zn e Ni.

Outra vantagem é que a solução final é 2,5M em Cl^- , dispensando assim a adição de qualquer outro eletrólito suporte. Uma alíquota adequada da solução é pipetada diretamente à célula polarográfica, visando a determinação dos metais pesados. Nesse meio, além dos quatro elementos comumente citados na literatura, Cu, Pb, Cd, Zn, podem também ser determinados Ni, Co, Cr e Mn.

Embora os íons cloreto sejam pouco complexantes, não há precipitação dos íons metálicos em solução por causa de sua baixa concentração e pelo caráter neutro do pH.

A temperatura, relativamente baixa, utilizada na digestão (450°C) elimina praticamente a perda por volatilização. Por outro lado, o elevado poder oxidante da mistura gasosa aliada à forte oxoacidez do banho fundido garantem a completa combustão dos compostos orgânicos existentes na amostra e a transformação dos metais pesados em cloretos. O fluxo O_2/HCl é sem dúvida mais simples e prático de operar do que a mistura de cloro e cloreto de carbonila sugerida por Trémillon ⁽³⁾.

O meio sendo pouco corrosivo, possibilita também que o ataque da amostra seja feito em um simples tubo pirex.

IV. APARELHAGEM E REAGENTES

Para a determinação dos metais tanto em amostra de solo como em lama de esgoto, foram traçados polarogramas em pulso diferencial (P.P.D.) e redissolução anódica (R.A.)

com o Analisador Polarográfico-Voltâmetro de Redissolução da PAR, modelo 264 e Eletrodo de Mercúrio M 303. O método utilizado foi de 3 adições padrões, sendo os resultados analisados através de programas específicos em disquetes para micro-computador (Apple II). Os resultados correspondem à média de três determinações.

Os reagentes LiCl e KCl utilizados foram produtos "suprapuros" da Merck. A água previamente deionizada foi obtida por evaporação utilizando-se o destilador em quartzo, da QUARTEX, que usa emissor de infra-vermelho como fonte de aquecimento, de maneira que a água destila sem entrar em ebulição. ⁽⁴⁾

Para a limpeza das células de plástico, vidraria e material em geral, foi empregado o seguinte esquema: Faz-se inicialmente uma boa limpeza clássica com detergente, enxaguando-se com abundante água destilada comum e em seguida com "água quartex". Deixa-se então o material, no mínimo por 24h, de preferência por 48h, mergulhado em solução de HNO_3 10%. Enxagua-se depois com muita "água quartex", guardando-se finalmente o material, depois de seco, fechado em sacos de plástico, para evitar contaminação.

Para compensar uma possível presença de metais contaminantes introduzidos durante a manipulação, principalmente através dos reagentes empregados, é necessário fazer o "branco", que consiste em repetir a marcha química da piromineralização e a análise, em ausência da amostra.

As condições polarográficas utilizadas foram as seguintes: velocidade de varredura: 5 mV/s (para o Mn: 2mV/S); amplitude: 25 mV; sensibilidade: 2 e 5 μA (x 0,1); tamanho da gota: pequena; tempo de gota: 1 s (P.P.D.); tempo de eletrólise: 60 a 150s (R.A.); tempo de equilíbrio: 15 s (R.A.).

V. RESULTADOS:

A ordem de grandeza das concentrações dos metais nas soluções obtidas variou de 2 a 700 ppb, apresentando os menores teores para o Cd e os mais elevados para o Mn. Esses resultados após serem transformados em mg/Kg (ppm) de matéria seca, são apresentados na Tabela I para amostra de solo e na Tabela II para a amostra de lama.

O baixo teor de cobre obtido na amostra de lama de esgoto (Tabela II) explica-se, em primeiro lugar pela dificuldade de mineralização desse metal, já mencionada anteriormente ⁽¹⁾, o que obrigou os autores a recomendar uma concentração elevada em cloretos (2,5M); em segundo lugar pela elevada concentração de matéria orgânica, já que boa parte do cobre fica sob forma de precipitado com o resíduo carbonado. Uma confirmação dessa hipótese são os resultados corretos para a amostra de solo (Tabela I) em que é baixo o teor de cobre e também pequena a presença de matéria orgânica. É conhecida a eficiência dos quelatos orgânicos na eliminação da toxidez das espécies iônicas de cobre em águas, reduzindo significativamente as concentrações de cobre livre. ⁽⁵⁾

A discrepância do valor para o Cd na amostra de solo (Tabela I) com o resultado da AFNOR pode ser explicado pela faixa muito baixa de concentração de Cádmiu na célula polarográfica (cerca de 2ppb) e por outro lado, porque o

TABELA I

Concentrações de metais em amostras de solo (em ppm de matéria seca – Intervalo de confiança de 90%)

ELEMENTOS	RESULTADOS (por P.P.D. e R.A.)	PRECISÃO (%)	RESULTADOS DA AFNOR	PRECISÃO (%)
Cobre	28,4 ± 4,4	15,5	27,5 ± 2,9	10,5%
Chumbo	60,7 ± 9,0	14,8	55,7 ± 7,5	13,5%
Cádmio	1,6 ± 0,4	25,0	0,35 ± 0,10	28,6%
Zinco	59,2 ± 7,1	12,0	54,8 ± 7,5	13,7%
Níquel	17,2 ± 2,4	14,0	16,6 ± 4,3	25,9%
Manganês	312,0 ± 32,0	10,3	326,0 ± 19,0	5,8%

TABELA II

Concentração de metais em amostras de lama de tratamento de esgoto
(em ppm de matéria seca – Intervalo de confiança de 90%)

ELEMENTOS	RESULTADOS (por P.P.D. e R.A.)		RESULTADOS DA AFNOR (média de 5 laboratórios)			
	ATAQUE POR LiCl-KCl	PRECISÃO (%)	ATAQUE POR HCl + HF	PRECISÃO (%)	ATAQUE POR ÁGUA RÉGIA	PRECISÃO (%)
Cobre	323,0 ± 43,8	13,6	733 ± 60	8,2	701 ± 87	12,4
Chumbo	616,8 ± 55,5	9,0	687 ± 77	11,2	551 ± 51	9,3
Cádmio	35,9 ± 12,8	35,6	41 ± 14	34,1	31 ± 5	15,1
Níquel	382 ± 14,4	3,8	—	—	—	—
Zinco	4577 ± 198	4,3	4213 ± 971	23,0	4396 ± 1155	26,3

teor da AFNOR corresponde à média de 15 determinações, número bem superior ao do trabalho, que foi de apenas cinco.

A determinação de alguns metais exige cuidados especiais. O Ni, por exemplo, praticamente não forma amálgama com o mercúrio, pois a sua solubilidade é apenas de $4.8 \cdot 10^{-5}\%$ em peso ⁽⁶⁾, não podendo assim ser determinado por voltametria de redissolução anódica (R.A.), enquanto que por polarografia de pulso diferencial (P.P.D.) apresenta um pico de redução coincidente com o zinco, a -1,0V. Determina-se sua concentração por diferença obtendo-se o total Zn + Ni por P.P.D. e apenas o Zn por R.A.

Um procedimento semelhante é sugerido por Combes ⁽¹⁾ também para o Fe e Mn. A soma Fe + Mn seria a determinada por P.P.D. e apenas o Mn por R.A.. Um Estudo cuidadoso dos limites deste procedimento será em breve submetido à publicação ⁽⁷⁾.

VI. CONCLUSÃO

Diante das inúmeras vantagens citadas e discutidas neste trabalho e considerando a precisão razoável dos resultados obtidos para os teores de metais pesados em lamas e solos,

aliada a uma exatidão muito boa comparada com as concentrações médias extraídas dos resultados de cinco laboratórios franceses especializados, julga-se estar diante de um método promissor para a análise de traços por polarografia.

Há um quarto de século, o Prof. Charlot, emérito reestruturador da química analítica na França, propôs vários ataques alcalinos seja com o NaOH concentrado, seja empregando sais fundidos como NaOH e KOH, Na_2CO_3 , Na_2O_2 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$ e Borax, dependendo do tipo de amostra e dos elementos a serem determinados⁽⁸⁾. No meio de tanta alternativa interessante para eliminar os inconvenientes do ataque ácido, acreditamos que a mineralização proposta com KCl-LiCl merece um lugar, principalmente pela sua simplicidade e inúmeras vantagens na determinação de metais pesados por polarografia, graças à feliz junção do efeito mineralizante do sal fundido e seu efeito solvante após a dissolução em água.

REFERÊNCIAS

- (¹) R. Combes et S. Kamaoun, *Anal. Letters*, 17 (A 6), 451 (1984).
(²) Janz, *Molten Salts Handbook*, Academic Press, 1967.

ARTIGO

EFEITO DE Mn^{2+} NAS ATIVIDADES DE TRANSCRIPTASE REVERSA COM DERIVADOS DE ÁCIDO POLIADENILICO COMO MATRIZES

Hiroshi Aoyama

*Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia,
Universidade Estadual de Campinas, 13100 - Campinas - (SP)*

Recebido em 12/02/85

As reações de síntese de DNA são catalisadas por enzimas genericamente denominadas DNA polimerases¹. Pelo menos três DNA polimerases distintas, α , γ e β , foram isoladas e caracterizadas de organismos eucarióticos^{2,3}. Outras DNA polimerases induzidas por vírus aparecem nas células após infecção viral; estas enzimas são mais conhecidas como transcriptases reversas^{4,5}. Todas estas enzimas necessitam de uma matriz ou molde, de um iniciador que forneça grupamentos 3'-OH livres, a partir dos quais serão adicionados desoxinucleosídeos trifosfatos e de cofatores. Além das matrizes naturais, DNA para DNA polimerases e DNA e RNA para transcriptases reversas, matrizes sintéticas podem também ser utilizadas¹⁻⁵. Assim, ácido poli desoxiadênlico, (poli dA), e ácido poli adenilico, (poli rA), podem substituir DNA e RNA, respectivamente.

Para derivados de poli A como matrizes os melhores iniciadores são oligodesoxitimilatos, (oligo dT), de 12 a 18 nucleotídeos, os quais (matrizes-iniciadores) estarão pareados através de ligações de hidrogênio. Para análogos do ácido policitidílico, (poli C), que também servem como

- (³) F. Seon, G. Picard, B. Trémillon, *Electroch. Acta*, 28-2, 209 (1983).
(⁴) QUARTEX, Appareils de Distillation sans Ebullition (série PB) 19, rue Poliveau, 75005 - Paris.
(⁵) T.M. Florence, G.E. Batley, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 9, 238 (1980).
(⁶) F. Vydra, K. Stulik, E. Julakova, *Electrochemical Stripping Analysis*, Tabela 2.1 - 1976, Ellis Horwood Limited, England.
(⁷) A.C. Barbosa e R. Combes, a ser publicado.
(⁸) G. Charlot, *Analyse Quantitative Minérale*, Paris, Masson, 161, 4a. ed., pg. 564-574.

(PIROMINERALIZAÇÃO DE AMOSTRAS COM SAIS FUNDIDOS PARA DETERMINAÇÃO POLAROGRÁFICA DE TRAÇOS)

ABSTRACT - The method for the digestion of biological samples in fused KCl-LiCl is improved by decreasing the time of the process.

It is also tested the applicability of the method to polarographic determination of soil samples.

matrizes sintéticas, os iniciadores complementares são oligo desoxiguanilatos, (oligo dG). Estes duplex matrizes-iniciadores são preparados por aquecimento (75°C para poli A-oligo dT; 90°C para poli C-oligo dG) durante 15 minutos e posterior resfriamento à temperatura ambiente⁶. Os quatro desoxinucleosídeos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP) são necessários quando DNA ou RNA são utilizados como matriz; para os sistemas poli A-oligo dT e poli C-oligo dG, serão suficientes apenas dTTP e dGTP, respectivamente. Cátions bivalentes, geralmente Mg^{2+} , são utilizados como cofatores nas reações de síntese de DNA. O papel de íons metálicos nos mecanismos de DNA e RNA polimerases vem sendo estudado pelo grupo de Loeb⁷. Substituindo-se Mg^{2+} por Mn^{2+} como cátion bivalente observou-se um aumento nas afinidades aparentes de DNA polimerase β pela matriz DNA e por dTTP⁸. DNA polimerase $\pm$ pode reconhecer poli rA (matriz sintética do tipo RNA) com uma eficiência maior em presença de Mn^{2+} que de Mg^{2+} ⁹. Entretanto, transcriptase reversa, uma DNA polimerase dependente de RNA, reconhece tanto as matri-