

ficância. De resto, parece haver heterogeneidade, como para os ♂.

TABELA LIII

Anos	n'	Coef. de correl.
7	12	0.664
8	33	0.274
9	36	0.339
10	35	0.113
11	55	0.217
12	45	0.524
13	59	0.244
14	46	0.153
15	41	0.045
16	31	0.438
17	19	0.360
18	10	-0.310
19	6	-0.126

Na Tabela LIV estão os dados para a análise da variância.

TABELA LIV

Anos	1) G. l.	2) $\Sigma(x-\bar{x}_i)^2$	3) $\Sigma(y-\bar{y}_i)^2$	4) $\Sigma(x-\bar{x}_i)(y-\bar{y}_i)$	4) ²	5)=4) ² /2)	6)=3)-5)	G. l.
7	11	9.05	355.49	37.69	1420.5361	156.97	198.52	10
8	32	63.44	226.88	32.91	1083.0681	17.27	209.61	31
9	35	40.68	404.99	43.48	1890.5104	46.47	358.52	34
10	34	26.87	337.62	10.73	115.1329	4.29	333.33	33
11	54	89.45	599.41	50.28	2528.0784	28.26	571.15	53
12	44	70.09	350.30	82.12	6743.6944	96.21	254.09	43
13	58	53.16	379.46	34.70	1204.0900	22.65	356.81	57
14	45	71.89	342.43	23.86	569.2996	7.92	334.51	44
15	40	35.78	295.20	4.64	21.5296	0.60	294.60	39
16	30	46.62	397.27	59.64	3556.9296	76.30	320.97	29
17	18	21.90	124.23	18.79	353.0641	16.12	108.11	17
18	9	13.19	84.13	-10.32	106.5024	8.07	76.06	8
19	5	4.94	26.03	-1.43	2.0449	0.41	25.62	4
						481.54	3441.90	402
	415	547.04	3923.44	387.09	149838.6681	373.98	3649.46	

A partir da tabela calcula-se para soma de produtos total

$$\begin{aligned} \Sigma \Sigma (x - \bar{x}) \cdot (y - \bar{y}) &= 3923.44 - 273.98 \\ &= 3649.46 \end{aligned}$$

e para dentro dos grupos

$$\Sigma \left\{ (y - \bar{y}_i)^2 - b_{y,x_i} \cdot [\Sigma (x - \bar{x}_i) \cdot (y - \bar{y}_i)] \right\} = 3441.90.$$

A parte final da análise encontra-se na *Tabela LV*.

TABELA LV

	S. q. p.	G l.	Var.	F	F 5%	F 1%
Total	3649.46	414				
Dentro dos grupos	3441.90	402	8.562			
Entre os grupos	207.56	12	17.297	2.020	1.78 — 1.77	2.23 — 2.22

Encontra-se nas tabelas de F :

$$\begin{aligned} \text{para } P = .05 \quad n_1 &= 12 \\ & n_2 = 400 \quad F = 1.78 \\ & n_1 = 12 \\ & n_2 = 500 \quad F = 1.77 \end{aligned}$$

e, portanto, há heterogeneidade. O F obtido está abaixo do correspondente ponto 1%. Também *para o sexo feminino não se pode calcular um só coeficiente de correlação entre o «preto» da cor do cabelo e o da cor dos olhos*. Era de esperar que os resultados quanto à correlação entre a cor do cabelo e qualquer das outras, fossem a demonstração de heterogeneidade, em virtude de o cabelo escurecer com a idade. A excepção para o sexo masculino, no caso da pele e cabelo, deve ser causada por uma variância extraordinária na cor da pele, como referi.

* * *

Sumarizando os resultados destas análises, verifica-se que eles são um pouco diferentes conforme o sexo: enquanto que todas as covariâncias são heterogéneas no sexo feminino, no masculino há homogeneidade na covariância entre a pele e cabelo, e no caso da covariância da pele e olhos há diferença entre as variâncias, devida à variância que é tomada como erro. Estas diferenças entre os dois sexos podem explicar-se por uma distribuição anormal da variância total da cor da pele pelas duas categorias — entre os grupos e dentro dos grupos. Todas as análises em que entra a cor da pele concordam com esta hipótese. Podem supor-se várias causas desta anormal distribuição da variância, umas dizendo respeito à constituição das amostras, outras ao método empregado; uma causa provável e que explicaria tam-

bém a diferença (pequena, mas significativa) entre a cor da pele nos dois sexos, consiste na desigual distribuição dos efeitos dos agentes externos sobre a epiderme do ante-braço nos dois sexos, como expuz a propósito da diferença entre a cor da pele nos σ e φ .

Outro ponto que ressalta das análises efectuadas é a impossibilidade de se calcular um só coeficiente de correlação para a maior parte dos casos; se não tivesse feito a análise da covariância era muito provável que calculasse um coeficiente geral, que, afinal, não era representativo de todos os casos.

* * *

O problema de ordem prático que causou a execução de todas estas análises — correcção aos dados de genealogias para diferentes idades — levantou uma série de outros problemas, como sejam, os que dizem respeito à própria natureza e causas do escurecimento com a idade. Desde que as curvas do escurecimento com a idade sejam conhecidas, é possível corrigir os dados das genealogias para uma determinada idade, supondo que é legítimo substituir-se a curva de escurecimento individual pela do escurecimento médio. Na discussão final voltarei novamente a este assunto, conjuntamente com a discussão de outros dados que podem ajudar a esclarecer o problema.

Num certo número de análises da variância encontrou-se heterogeneidade entre as médias dos vários grupos. Em princípio, é sempre possível num material dum certa variância conseguir-se um arranjo em grupos, de tal forma que fique existindo heterogeneidade entre as respectivas médias. A heterogeneidade está na dependência da variação do colectivo e dos grupos arbitrários em que se divide. No caso que tenho analisado trata-se de agrupamentos naturais, como é a idade, e o intervalo de um ano aparece como uma escala perfeitamente ao nível da precisão e rigor exigidos. A heterogeneidade não será, pois, causada por esta distribuição em idades. Igualmente se aplicam estas considerações à covariância: a heterogeneidade demonstrada em certas das análises deve ser devida a causas de ordem experimental ou observacional, ou derivadas da natureza do material.

Constituição química das melaninas

O estudo da constituição e propriedades químicas dos pigmentos é, sem dúvida, muito importante para a compreensão de uma série de factos biológicos relativos à pigmentação, além de que só por si a investigação dos pigmentos constitui um tema interessante. O estudo dos compostos «altos-polímeros», pelas relações directas que têm muitos deles com a vida, é de primacial importância para o avanço da Bioquímica. Terei ocasião de referir alguns dos problemas fundamentais relacionando-se com estes estudos.

Depois, a hereditariedade só se pode abordar em certos casos por analogia, pelo menos emquanto se não usarem métodos diferentes dos actuais; está neste caso o estudo de várias questões da hereditariedade no homem. Para que se possam tirar conclusões válidas por analogia, convém demonstrar que realmente a analogia existe ou é muito provável. Por exemplo, para a hereditariedade da pigmentação no homem, E. FISCHER partiu, em grande parte, dos resultados de NACHTSHEIM sobre os coelhos, procedendo por analogia — e esta analogia é muito incompletamente fundada. Não se sabia se os pigmentos existentes no coelho (pêlos) têm os seus homólogos no homem, não se sabia mesmo quantas espécies diferentes de pigmentos existem no coelho como compostos químicos diferentes. É claro que este desconhecimento não impediu a descoberta e firme estabelecimento da hereditariedade da pigmentação no coelho, mas é conveniente que, para se tirarem legitimamente analogias, se conheça um certo número de factos basilares.

Ponderando estas circunstâncias, parece que seria desejável a efectuação de algumas investigações sobre a química dos pigmentos melânicos. Contando com a natural dificuldade dos estudos neste campo, era preciso previamente executar várias tentativas com o fim de verificar até que ponto era possível com os métodos de que dispunha, aprofundar um pouco os conhecimentos sobre o assunto. Relato a seguir as investi-

gações que efectuei neste sentido, depois de uma resenha do estado actual destas questões.

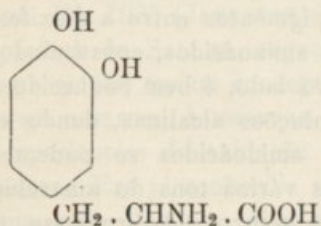
*

* *

A constituição dos pigmentos melânicos foi estudada principalmente nos pigmentos da pele do homem. Já me referi à impropriedade da pele para tais estudos, pois é difícil isolar da pele as respectivas melaninas. Pelo contrário, os cabelos e pêlos prestam-se melhor ao isolamento e ulterior investigação.

Os vários autores referem-se à melanina, ou às melaninas, da pele, quasi indistintamente, e da maneira como expõem os resultados conclui-se que alguns admitem implicitamente a existência de uma só espécie de melanina na pele.

As investigações anteriores a 1927 estão mais ou menos sumarizadas e criticadas em BLOCH 1927. BLOCH presume que o pigmento (refere-se principalmente ao pigmento da pele e escreve «pigmento»), como se considerasse um só pigmento) provém de *dioxfenilalanina*, ou abreviadamente *dopa*, por oxidação provocada por um fermento oxidante — a *dopaoxidase*. A dopa tem por fórmula:



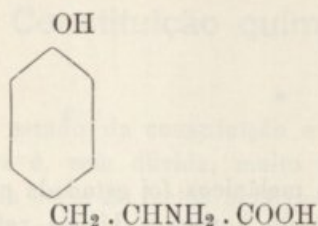
É um derivado da pirocatequina (ortodioxibenzeno).

A reacção de BLOCH, para demonstração da existência do fermento que produz o pigmento da pele, consiste no tratamento das células

com dopa. Se existe uma oxidase específica (verificou-se que substâncias vizinhas da dopa já não são oxidadas) as células mostram uma coloração escura. A reacção dá-se, tanto em pedaços da pele, como nos seus sucos («Pressaftem»).

Outros autores eram partidários da opinião que considerava os pigmentos como derivando da *tirosina* (amina do ácido

paraoxifeniloxipropiónico), um dos mais importantes e mais espalhados aminoácidos, cuja fórmula é:



Uma oxidase mais ou menos específica, a *tirosinase* faria aparecer o pigmento, por oxidação.

A teoria da dopa, de BLOCH, encontrou mais partidários, devido sobretudo à reacção dopa e ao facto de

se não demonstrar com facilidade a existência de tirosinase nos animais superiores. Por outro lado, encontram-se nas urinas dos melanúricos derivados da pirocatequina, de forma que é mais provável que existam compostos destes nos pigmentos e, segundo BLOCH, é mais provável que a dopa seja a profase do pigmento e não a tirosina. Outro facto em favor da hipótese de BLOCH consiste na ausência de reacção na pele dos albinos e nos «vitiligos». A composição elementar da melanina também se não sabe com exactidão, em virtude da impossibilidade de se obter no estado puro.

A reacção da dopa não constitui razão suficiente para se aceitar que os pigmentos melânicos derivam da dioxifenilalanina; sabe-se que a maior parte dos compostos aminados do organismo são mais complicados, e não é por simples analogias que se pode proceder nestas questões. Pode acontecer que realmente numa parte dos pigmentos entre a dioxifenilalanina em combinação com outros aminoácidos, constituindo polipeptidos ou proteínas. Por outro lado, é bem conhecido que a dopa se oxida facilmente nas soluções alcalinas, dando «melanóides»; igualmente de outros aminoácidos se podem obter «melanóides» que apresentam os vários tons do amarelado ao acastanhado e ao castanho muito escuro. A tirosinase, obtida de várias maneiras, reage com tirosina, tiramina e adrenalina, dando «melanóides» (FLORENCE, ENSELME e POZZI 1935); também com a dioxifenilalanina se podem obter os vários tons (VOGE 1935).

Recentemente LINELL e RAPER 1935 investigaram a constituição do cromogénico da melanúria, que parece ser um derivado simples do 5,6 — dioxiindol, isto é, um composto pirrólico-ben-

zénico, derivado do ácido aminoamigdálico. Portanto, a provar-se esta opinião, o argumento de BLOCH, sobre a existência de derivados da pirocatequina, na urina dos melanúricos, nada diz sobre a probabilidade de os derivados pirrólicos não entram também na melanina.

A opinião geral supõe que as melaninas são derivados de albuminas vizinhas da adrenalina, ou da dioxifenilalanina, tirosina, etc., contendo anéis aromáticos. Esta opinião é simplesmente fundada em leves analogias e suspeições. A composição química da melanina (ou melaninas) aparece, portanto, como ainda completamente por esclarecer: nem sequer se sabe se há uma ou várias, se são ou não derivados pirocatequínicos ou pirrólicos, e não se conseguiu separá-las de várias outras impurezas.

Além destas investigações sobre os pigmentos da pele, efectuadas sobretudo no homem, outras há, mais recentes, sobre os pigmentos dos pêlos nos coelhos, ratos e outros mamíferos e um certo número de estudos, principalmente de carácter especulativo, de JANKOVSKY, SALLER e outros autores. Com respeito aos pigmentos dos cabelos e pêlos, pode concluir-se que o estado dos conhecimentos até à data da publicação do citado livro de BLOCH (1927) se traduz pelas próprias palavras deste: as causas das côres qualitativamente diferentes dos cabelos, são-nos desconhecidas.

JANKOVSKY 1932 *a*) e *b*) trata das várias teorias existentes sobre a cor do cabelo, constituição e morfologia dos pigmentos, etc. Em 1935 (JANKOVSKY 1935) volta ao assunto para rebater opiniões de SALLER, segundo as quais este último autor e MAROSKE (1933) teriam conseguido, por redução, tornar cabelos claros em escuros. JANKOVSKY 1932 funda-se principalmente nas suas experiências de oxidação para procurar demonstrar várias conclusões. Era já conhecida a acção de água oxigenada, sobretudo em meio alcalino, sobre os pigmentos; JANKOVSKY estudou esta acção sistematicamente em cabelos humanos de várias cores. Verificou que os cabelos pretos se transformam em loiros e brancos com passagem sucessivamente pelo castanho-avermelhado, vermelho e vermelho-loiro. Os cabelos vermelhos ficam logo loiros e os loiros descoram directamente para o branco. Cabelos castanhos e loiro-escuros podem passar pelo vermelho, ou não, até chegarem ao loiro claro e branco; cabe-

los castanhos e loiros-escuros, muito parecidos na côr, podem, quando oxidados, dar côres diferentes, isto é, uns passam pelo vermelho outros não. A oxidação dá-se muito mais rapidamente em meio alcalino; com meio ácido ou neutro a descoloração pode levar muito tempo.

Segundo JANKOVSKY, na oxidação deve intervir uma enzima oxidase-peroxidase, visto que algumas gotas de KCN foram suficientes para causarem um retardamento da oxidação. Sabe-se, porém, que o cianeto de potássio a quente é redutor, as suas propriedades redutoras são muito menores, quasi nulas, a frio; em todo o caso, pode acontecer que não se tratasse de um fenómeno de «envenenamento» da superficie da enzima, pelo cianeto, mas de uma simples acção contrária à da H_2O_2 . O meio alcalino favorecia, segundo o autor, a acção da enzima e a penetração do oxidante no interior do cabelo. Contudo, não parece necessário admitir a acção de uma enzima quando da oxidação pela água oxigenada, e o meio alcalino favorece certamente a penetração do oxidante pela «dissolução» da queratina e ainda poderia favorecer a acção directa sobre os pigmentos, pois que os álcalis «dissolvem» (e provavelmente modificam) os pigmentos (1). Evidentemente que isto não quer dizer que não se deve aceitar a acção de uma enzima quando se formam na célula os pigmentos a partir das suas profases incolores.

Contrariamente à oxidação, as experiências sobre a redução de cabelos previamente oxidados, não levaram a resultados positivos.

A partir destas observações de oxidação, JANKOVSKY quer tirar conclusões acerca dos pigmentos naturais do cabelo. Diz que é provável que existam vários pigmentos, pelo menos três: preto, vermelho e loiro; mas também diz que é possível que exista só um pigmento. No caso de existirem vários pigmentos, poderia suceder que fossem derivados duma substância por oxidações graduais.

Como se vê por esta exposição resumida, as conclusões de

(1) Verifiquei que fervendo os cabelos a oxidação se dá da mesma maneira e aparentemente com a mesma intensidade. Sabe-se que as oxidases em regra são inactivadas, quando levadas a temperaturas de 100° em meio húmido. De forma que a intervenção de um fermento não parece necessária e parece pouco provável.

JANKOVSKY fundam-se apenas nas oxidações. No entanto, estas oxidações não constituem, só por si, uma base segura; compreende-se perfeitamente que não é muito legítimo a partir de simples oxidações de compostos tão complicados como parecem ser os pigmentos, inferir a própria natureza dos pigmentos, sem se conhecerem as substâncias oxidadas, nem os produtos de oxidação, nem a oxidação em si.

Realizei também oxidações de cabelos de homem e pêlos de coelho, com H_2O_2 amoniacal. Prêviamente eram determinadas as respectivas côres com o pigmentómetro. Verifiquei que a côr primitiva se mantinha (com menor intensidade) nas primeiras fases da oxidação, depois aparecia sempre o loiro. Em cabelos castanhos com um tom amarelo predominante, ficava sempre êste excesso de amarelo predominante, até às fases finais. No caso de haver um excesso de alaranjado (cabelos «vermelhos») continuava, nos primeiros estados da oxidação, a aparecer esta côr em excesso, depois aparecia um excesso de amarelo. Nos cabelos castanhos aparece primeiramente um excesso de côr igual à que tinham já em excesso antes da oxidação: assim se explicaria o que diz JANKOVSKY sobre a possibilidade de os castanhos passarem ou não pelo tom vermelho (na realidade alaranjado). Tal facto exprime apenas que um tom dominante, e já existente, foi posto em evidência pelo embranquecimento provocado pela oxidação.

Concordam com esta interpretação os resultados de GARDNER e MAC ADAM 1934; pela oxidação com peróxido, como dizem os autores, o comprimento de onda dominante não mudou, apenas aumentaram a pureza e o brilho. A côr dominante não se alterou, portanto. Parece que GARDNER e MAC ADAM não levaram muito longe as oxidações, visto que no caso relatado o brilho apenas passou de 0.054 para 0.086, ou seja de 5.4 para 8.6%. Se tivessem levado mais longe as oxidações, é natural que o resultado fôsse a verificação dum certo deslocamento para o lado dos menores comprimentos de onda. O comprimento de onda dominante da maioria dos castanhos está no amarelo, e nalguns castanhos com tom avermelhado está no alaranjado inferior. O tratamento com a água oxigenada pouco altera o comprimento de onda dominante, que se mantém nas primeiras fases da oxidação.

As conclusões de JANKOVSKY aparecem como pouco prováveis quando se consideram estes resultados espectrofotométricos.

cos, os mais seguros até agora obtidos. A oxidação actua principalmente destruindo os pigmentos e então fica mais em evidência a côr dominante já existente.

Os tratamentos com água oxigenada sobre pêlos de coelho, realizados por mim, levaram-me a concluir que no coelho selvagem, quando se pode distinguir um excesso de côr (quando não são completa ou quási completamente pretos) o excesso é de filtro «vermelho», correspondendo a um comprimento de onda situado no amarelo ou alaranjado inferior. Antes, como depois do tratamento, o comprimento de onda dominante é sensivelmente o mesmo. Os resultados são os mesmos, quer se considere o tom geral, quer cada uma das zonas que se distinguem nos pêlos do dorso.

Continuando a revisão da literatura: SALLER manifesta em alguns dos seus trabalhos a opinião de que se pode tratar, para o caso do homem, de um só pigmento, que dá tôdas as côres e tons apenas pelo estado de agregação, ou então, que pelo menos a côr preta e a castanha provêm de um só pigmento. SALLER funda-se principalmente sobre as suas experiências, já citadas, da redução com cloreto de zinco; JANKOVSKY, criticando-o, viu que com cabelos de vidro e nitrato de prata se obtêm vários tons de cabelos e o mesmo se consegue com permanganato de potássio. A deposição da prata ou de óxidos de manganésio fornecia os agregados, que causavam depois, por absorção da luz, as várias côres. A espectroscopia dos «cabelos artificiais» assim obtidos, levou à conclusão que a côr não difere, quer seja o nitrato de prata, quer o permanganato que dê origem aos depósitos. Nem a espectroscopia, nem as várias experiências realizadas com modelos podem, portanto, resolver a antiga questão da existência de um ou de vários pigmentos. As espectroscopias de BUNAK e SOBOLEVA também não levaram a conclusões quanto a este ponto.

Resta ainda mencionar vários trabalhos referentes aos pigmentos de alguns Mamíferos, principalmente no coelho e no rato, devidos a NACHTSHEIM, SCHULTZ, ENGELMEIER, DANEEL e colaboradores.

SCHULTZ 1932 e ENGELMEIER 1934 observando a produção da pigmentação no coelho russo (em que normalmente só as extremidades são pigmentadas), verificaram que o pigmento só se produz quando a temperatura local é inferior a 33-34° C.

Abaixo desta temperatura, que pode ser provocada por exemplo cortando os pêlos à navalha numa certa área, aparece pigmento em qualquer ponto do corpo; acima desta temperatura «crítica» o animal, ou certas áreas, ficam brancos.

DANEEL verificou que a ausência de oxigénio ou a presença de cianeto de potássio impedem a formação de pigmento. Para a formação do pigmento admitia-se, com SCHULTZ, que há duas reacções finais:

profermento → fermento

+ cromogéneo → pigmento.

Se a pele tiver já sido exposta ao frio antes da falta de oxigénio ou presença de cianeto, produz-se a pigmentação. DANEEL concluiu deste facto que o oxigénio só era empregado na 2.^a reacção. SCHULTZ também já conhecia que era preciso oxigénio para aparecer a pigmentação. Outros estudos de DANEEL (1936) com raios Roentgen, não levaram mais longe as conclusões.

ENGELMEIER investigou também o aparecimento das áreas pigmentadas em relação com outros factores, homo e heterozigotismo, etc. A temperatura mínima para o aparecimento da coloração é 30-34° C., conforme a constituição genética; com a constituição genética varia também o tempo mínimo que é necessário para que, abaixo da temperatura crítica, apareça pigmentação.

A interpretação de SCHULTZ explica, em regra, os fenómenos, embora não seja única. Em todo o caso, estes resultados não se podem generalizar a todas as raças, sem mais investigações.

Em novos estudos, DANEEL e SCHAUMANN 1938 conseguiram demonstrar, nos extractos da pele de coelhos pigmentados, a existência da dioxifenilalanina; pelo contrário, não existe esta substância nos coelhos albinos e nos russos (excepto nas extremidades destes últimos). A substância activa precipita dos extractos da pele, pela saturação com sulfato de amónio, o qual, como é sabido, precipita as albuminas. Com a tirosina não pôde ser demonstrada a mesma acção, talvez em virtude de a concentração da substância não ser suficiente — a tirosina é muito menos sensível que a dopa. Nos coelhos russos nota-se que, por arrefecimento, pode aparecer mais substância oxidante. A

substância que favorece a oxidação deve ser um fermento, visto que actua em muito pequenas quantidades.

Afinal, estas experiências correspondem às de BLOCH repetidas, para o caso dos coelhos, «in vitro», e podem-se criticar como as de BLOCH.

NEUMANN 1937 estudou os pigmentos sob o ponto de vista da sua solubilidade, espécies de pigmentos diferentes e constituição química. Os métodos de que se serviu para a resolução destes problemas não parecem, contudo, muito apropriados — e as questões postas não foram resolvidas. NEUMANN parte da idea de que há duas espécies de melaninas, diferentes quanto à solubilidade nos álcalis: feomelaninas e eumelaninas, as primeiras de cor amarela e facilmente solúveis, as segundas castanhas ou pretas e dificilmente solúveis, ou mesmo insolúveis (GÖERNITZ 1923 — cit. NEUMANN). A existência destas feo- e eumelaninas, umas solúveis outras insolúveis, é pouco provável, ou antes, muito improvável, como terei ocasião de referir adiante. NEUMANN procurou determinar a cor das soluções de pelos de várias raças, comparando-as com um padrão que o autor tinha previamente conseguido, dissolvendo um certo peso de pelos duma das raças. As comparações entre o padrão e as soluções faziam-se visualmente. Por meio deste processo creio NEUMANN ter demonstrado que as curvas da «dissolução» dos pigmentos das várias raças apresentavam formas diferentes: nas raças em que há amarelo, as curvas mostrariam duas componentes, uma dum pigmento facilmente solúvel, outra dum pigmento dificilmente solúvel. O método usado não parece, contudo, muito próprio para as determinações da intensidade da cor, pois podia acontecer, o que realmente se dá, que o padrão e a solução diferissem não só na intensidade ou «quantidade», como também na «qualidade» da cor. Observando com certo cuidado, verifica-se que realmente parece existir uma diferença de cor entre as soluções da raça «sandfarbig» que forneceu o padrão e, por exemplo, as soluções de «preto» ou de «havana». Para isolar os pigmentos, os pelos duma raça com cor amarela foram dissolvidos por NEUMANN em KOH, em seguida tratados com HCl. A parte álcool-insolúvel do precipitado foi dissolvida em NH_4OH e evaporada à secura no vazio, retomada com água e precipitada com ácido. Assim obtive a fracção que o autor supoz que era idêntica às feomelaninas. Outras fracções foram ficando que

não mereceram atenção de maior. É curioso que obteve também resíduos insolúveis (que seriam feomelaninas!) a partir de coelhos albinos. Parece natural atribuir alguns destes resultados à não-consideração da outra parte importante que forma os pêlos — a queratina.

O autor refere-se ainda a uma determinação do peso molecular da fracção que corresponde às suas « feomelaninas », supondo que apenas um átomo de prata se ligava a cada molécula, o que de forma alguma está provado, nem é sabido. Estes resultados de NEUMANN apenas se podem tomar como vagamente tentando um pouco o conhecimento de substâncias tão complicadas, como parecem ser os pigmentos e como na realidade são as queratinas ⁽¹⁾.

Outro estudo que também se refere à solubilidade é o de EINSELE 1937. Neste caso, o material constava de ratos das culturas de DUNN e o fim era a determinação quantitativa da melanina existente nos vários alelomorfos da série albina, quando combinados com as côres amarela, castanha e preta, estas últimas formando também uma outra série de alelomorfos. EINSELE usou como método de separação da queratina e melaninas a hidrólise da queratina com HCl 6 n, fervendo hora e meia em condensador de refluxo. Obtinha um preparado amarelado, formado por grânulos de melaninas com uma certa quantidade dos produtos da hidrólise da queratina adsorvida à superfície. Os grânulos deste preparado eram retomados com água destilada, por centrifugação. Este processo originava grandes perdas de pigmentos, pois que no caso de genótipos claros a quantidade de preparado era nula ou quási nula. Isto pode também significar que os pigmentos são atacados pelo HCl com a concentra-

(1) Há ainda certos aspectos do trabalho de NEUMANN que são inesperados: Pêlos de coelho albino foram tratados com NaOH n/20 durante 16 horas, e de novo tratados mais 7 dias com nova quantidade de NaOH. A 2.ª solução obtida diz o autor que era amarela. Soluções de pêlos de coelho albino por mim obtidas com NaOH n/20 durante muitos dias (até dois meses), não mostraram tal fenómeno, ficaram sempre incolores. Também não posso confirmar a obtenção de várias fracções coradas a partir dos albinos, tratando as soluções como as dos pigmentados. É notório que pequenas impurezas que vêm agarradas aos pêlos podem, ao fim de certo tempo, conferir uma coloração às soluções de albinos. Também é sabido que o contacto da potassa ou da soda cáustica com as rôlhas de cortiça pode dar produtos corados.

ção usada. Pêlos de albinos tratados da mesma maneira deixavam um resíduo insolúvel e dêles resultava uma solução turva. Juntando a esta solução turva os pigmentos obtidos da maneira descrita e deixando-os depositar, a solução tornava-se clara, o que levou à conclusão que os produtos de decomposição da queratina eram em grande parte adsorvidos pelos grânulos dos pigmentos. A quantidade de queratina, isto é, da queratina e produtos de decomposição, ou só dêstes, fornecia um termo de correcção para o julgamento da quantidade de pigmento de cada genotipo. A quantidade adsorvida depende do estado da solução de queratina hidrolisada e não da quantidade de pigmento com que se faz a adsorção.

A questão da existência de uma só ou de várias melaninas é abordada por EINSELE, mas não resolvida. Quando em solução, diz o autor que as melaninas dão tôdas a mesma côr (com tons diferentes), quer provenham de ratos amarelos, quer de castanhos ou pretos. Quando sêcos, os preparados mostram côres com diferenças da mesma ordem das existentes nos respectivos genotipos. Não se podem, portanto, tirar daqui quaisquer conclusões, tanto mais quanto é certo que o autor verificou que os grânulos dos pigmentos claros eram menores que os dos pigmentos escuros; poderia pensar-se em diferenças de ordem puramente quantitativa na agregação dos grânulos. Como resultado geral, EINSELE concluiu que a quantidade de melanina é maior para os genotipos escuros do que para os claros.

DUNN e EINSELE 1938 estudaram mais ou menos o mesmo material sob aspectos similares; verificaram que as diferenças mais tangíveis entre os vários genotipos são constituídas pelos diferentes tamanhos dos grânulos, diferenças quantitativas, portanto.

JANET 1938 estudou as curvas de absorção das melaninas preparadas por EINSELE, com um espectrofotómetro KÖNIG-MARTENS. Observou pequenas diferenças nas curvas de absorção, que podem ser devidas a impurezas. O método fotométrico não parece muito próprio para a resolução da questão da existência de um só ou de vários pigmentos; seriam precisas soluções realmente puras e não se poderia evitar o efeito da dispersão, que necessariamente deve ser considerável em soluções como as dos pigmentos, com luz de Tyndall tão forte.

Parece poder-se concluir desta breve revista da literatura, que os problemas envolvidos pelos factos químicos mais elementares relativos aos pigmentos melânicos, estão ainda por esclarecer e resolver. Discute-se se há uma só ou várias melaninas, se há ou não um pigmento difuso, e eventualmente procura-se a explicação da possível natureza dos pigmentos, por intermédio de modelos mais ou menos simplistas. O primeiro problema a resolver é o da separação dos pigmentos e queratina; em seguida, o da verificação da unidade ou diversidade dos pigmentos dentro de cada espécie e em grupos mais ou menos extensos. Outros problemas não menos importantes, como a fenogénese, com todos os seus aspectos particulares, estão dependentes da solução dos primeiros. É natural concluir-se que as soluções só poderão provir da utilização de novos métodos. Depois duma descrição sucinta do estado actual dos conhecimentos mais recentemente adquiridos sobre proteínas, é relatada a utilização de alguns destes métodos e dos resultados com eles obtidos.

Composição e estrutura das proteínas

Quero apenas referir-me aos dados recentes da química e da roentgenoscopia das proteínas que são de imediata importância para os problemas de que me ocupo no presente trabalho; conhecimentos gerais e básicos sobre as proteínas estão expostos em livros como por exemplo o de PAULI e VALKÓ 1933.

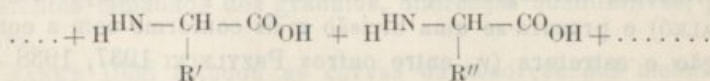
Em primeiro lugar, nota-se, logo que se procura tomar conhecimento com as proteínas, um excesso de terminologia. Assim, as classificações propostas para os corpos albuminóides são várias e todas manifestamente artificiais, baseadas mais sobre propriedades fisiológicas que químicas (v. por exemplo PAULI e VALKÓ) e procura-se uma divisão mais conforme com a constituição e estrutura (v. entre outros PRZYLECKI 1937, 1938 ou HAUROWITZ 1936). As investigações tendem a demonstrar a unidade de estrutura ou plano fundamental de constituição das proteínas e os resultados que mais influência exerceram na nova direcção impressa a estes estudos devem-se principalmente à descoberta da estrutura da queratina e alguns outros biocolóides muito importantes. Estes resultados interessam ainda e particularmente aos problemas da pigmentação, visto que é a queratina que constitui quasi todo o pêlo ou cabelo.

Com base na estrutura e composição, HAUROWITZ divide as proteínas em *esferoproteínas* e *linearproteínas*, conforme a molécula é mais ou menos esferóide, ou é alongada (ou fibrosa). Nas *esferoproteínas* ha dois grupos principais: as *não-agregantes*, que não formam agregados em meios desprovidos de sais (sem grupos negativos exoiónicos) — albuminas, hemoglobinas, pseudoglobulinas; e as *agregantes*, que não se dissolvem na água pura (com grupos exoiónicos positivos e negativos) — euglobulinas e fosfoproteínas, prolaminas. As *linearproteínas* podem dividir-se, quanto à solubilidade, em: *solúveis* em água, podendo agregar-se em certos estados desde que a água seja desprovida de sais — gelatina, fibrinogéneo; e *insolúveis* na água, com ligações em ponte dentro ou entre as «moléculas» — queratina, colagéneo, fibrina.

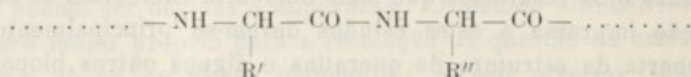
Como se vê, a solubilidade ocupa neste quadro o papel principal, depois da estrutura. Segundo parece, a solubilidade está em relação directa com a existência de grupos exoiónicos, podendo dar ligações salinas ou outras mais fortes ainda, como por exemplo as da queratina, constituídas por «pontes» entre os enxôfres de dois radicais da cystina.

A divisão em esfero e linearproteínas não é absoluta ⁽¹⁾, visto que há termos de transição, com moléculas em vareta mais ou menos longa. Mas parece, de facto, ser muito provável a unidade de tódas as proteínas no que respeita ao seu plano fundamental, quer se trate de corpusculares, quer de fibrosas.

A hipótese mais aceite quanto à composição das proteínas é a de EMIL FISCHER. Segundo FISCHER, as proteínas são formadas pela reunião de cadeias de polipeptidos. Êstes polipeptidos provêm da união de dois ou mais aminoácidos por condensação:



resultando uma cadeia:



(1) Segundo ASTBURY 1937 o nome «globular» é preferível ao de esferóide e ainda melhor (ASTBURY 1938) será o de «corpuscular».

em que R', R'', etc. indicam radicais diferentes, os *restos* dos aminoácidos. Por hidrólise das proteínas obtêm-se os α aminoácidos correspondentes, o que está de acôrdo com a ligação polipeptídea acima indicada (1). O estudo da fibroína da sêda (a que se poderá chamar também «setofibroína») pelos raios X, feito por vários autores e finalmente interpretado por MEYER e MARK em 1928 (v. HALLE 1937) veio impulsionar fortemente os estudos roentgenográficos. Outro grande impulso foi dado pela descoberta de ASTBURY da existência de dois estados diferentes da queratina. Por extensão forçada da queratina vulgar — queratina α (cabelos ou lã) — depois da acção da água a frio, obtêm-se a queratina β ; o diagrama de raios X da queratina β é muito semelhante ao da setofibroína. Nas fotografias da queratina β , como nas da fibroína da sêda, observa-se uma distância periódica de 3.5 \AA ao longo da cadeia polipeptídea. Esta distância de 3.5 \AA deve representar a distância a que se repetem os restos aminoácidos R (R', R'', R''', etc.) — v. HALLE 1937, com a sua bibliografia, ou ASTBURY 1934, 1938.

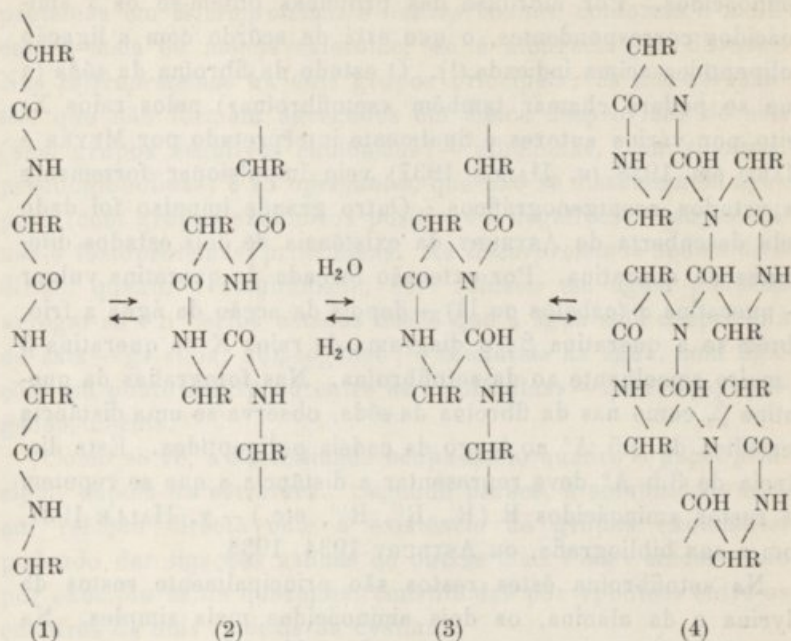
Na setofibroína êstes restos são principalmente restos da glycina e da alanina, os dois aminoácidos mais simples. Na queratina encontraram-se muitos aminoácidos (2), entre os quais a *tirosina*, com núcleo aromático, a *prolina*, com radical pirrólico, e o *triptofano*, com um anel pirrólico e benzénico condensados. A *fenilalanina* não aparece mencionada como aminoácido derivado da queratina.

A queratina β e a fibroína da sêda terão, segundo os roentgenogramas, a mesma estrutura fundamental, ao passo que a queratina α tem apenas metade da extensão da queratina β e deve ser um estereoisómero obtido da queratina α por uma transformação lactama-lactima. Tais formas de isomeria encontram-se freqüentemente nos aminoácidos e na série úrica, por exemplo em compostos contendo carbonilos e radicais amina.

(1) Convém notar que muitos autores não concordam com esta fórmula de EMIL FISCHER.

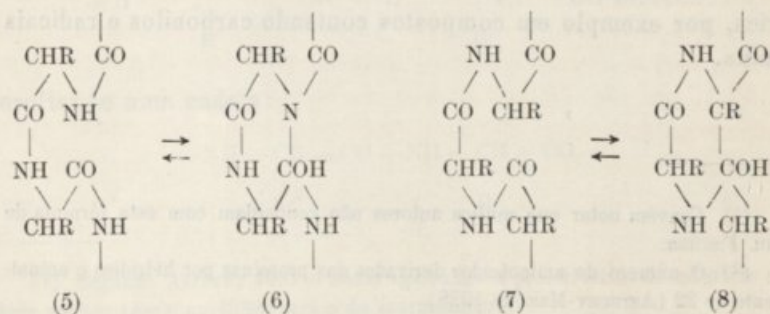
(2) O número de aminoácidos derivados das proteínas por hidrólise é actualmente de 22 (ASTBURY-Maio de 1938).

As fórmulas das queratinas são :



A fórmula (3) corresponde à *queratina* α ou queratina normal, que seria uma forma lactima; em presença da água daria origem à forma representada pela fórmula (2), a qual por extensão dá a *queratina* β , de fórmula (1).

À fórmula (2) correspondem ligações lactama facilmente abertas. Também se poderia dar uma transformação cetona-enol, que é um dos casos notórios de tautomeria. As duas possibilidades estão representadas nas fórmulas abaixo, em que (7) e (8) representam a 2.^a tautomeria (ceto-enol):



Não está ainda decidido qual das duas transformações se dá de facto (1); embora pareça provável que seja a primeira, outras observações estão mais de acôrdo com a segunda. Poderia ainda acontecer, segundo WRINCH e LLOYD 1936, que a ligação fôsse efectuada por um hidrogénio oscilando entre os dois grupos CR e CO ou N e CO.

Em água quente (vapores) obtém-se uma forma de queratina que tem apenas 2/3 do comprimento da queratina α e a que corresponderá a fórmula (4) — é a *queratina sobrecontraída*.

Os roentgenogramas são explicados por estas fórmulas da queratina, com que estão de acôrdo, igualmente, todos os factos conhecidos.

O que estabelece a distinção entre a estrutura da sêda e a da queratina (pêlos, cabelos, unhas, pele, etc.) é a existência, nesta última, da forma α , com a estrutura que foi referida. Quando se submete a queratina à acção do vapor de água ou dos álcalis e depois se expande, a fibra perde a propriedade de se contrair. Para explicar êste facto, admite-se que na queratina se formam ligações entre os restos aminoácidos de cadeias vizinhas, ligações de tipo salino entre NH_2 e COOH de dois restos vizinhos ($-\text{COO}^- - \text{N}_3\text{N} -$) e, além destas, outras ligações mais importantes entre S vizinhos, dos restos cystina, (SPEAKMANN 1933). Verificou-se que, de facto, se encontram as ligações S-S realizadas na molécula da queratina e que a sua ruptura é originada por hidrólise (v. SPEAKMANN). Êste mecanismo entra em acção quando se dissolve a queratina para a obtenção dos pigmentos, por exemplo. A sobrecontração só se dá depois de rôtas as ligações S-S, ou pelo menos uma parte destas ligações.

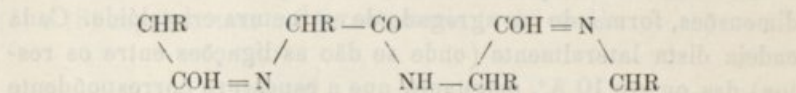
As cadeias de queratina dispõem-se lado a lado nas três dimensões, formando um agregado de estructura cristalóide. Cada cadeia dista lateralmente (onde se dão as ligações entre os restos) das outras 10 \AA , enquanto que a espessura correspondente a cada cadeia é de 4.5 \AA . Teremos, assim, uma rede em que as distâncias são, em planos perpendiculares ao eixo da fibra (e perpendiculares entre si), de 4.5 e 10 \AA , e verticalmente (paralelamente ao eixo da fibra) de 3.5 \AA .

(1) Pode mesmo acontecer que não se dê nem uma nem outra. Estas hipóteses não são aceites por vários autores.

O estudo detalhado da queratina poderia não ter grande significado para as proteínas em geral, se outros factos não viessem demonstrar que existem profundas analogias. Assim, os roentgenogramas dos músculos têm flagrantes semelhanças com os da queratina (ASTBURY e DICKINSON 1935, 1936, ASTBURY 1938). Dos resultados obtidos conclui-se que a *miosina*, a proteína responsável pelo mecanismo (não pela energia) da contracção muscular, tem uma estrutura em cadeia polipeptídea como a da queratina. A forma normal do músculo corresponde à forma α da queratina e a contracção muscular é a passagem a uma forma correspondente à da queratina sobrecontraída. Para mais completo paralelismo entre as duas proteínas, pode-se conseguir, estendendo muito a *miosina*, um roentgenograma correspondente ao da queratina β . A *miosina* tem pouco S, de forma que as ligações S-S não impedem, a contracção (sobrecontração) visto que não existem, ou existem em pequena quantidade, o que distingue a elasticidade da queratina e da *miosina*. Há até quem compare a queratina à *miosina* quási-vulcanizada (ASTBURY).

Ao mesmo grupo da queratina e *miosina* pertence a fibrina, ou proteína da coagulação do sangue (KATZ e ROOY 1933); a sua cadeia corresponde exactamente à da β -queratina.

O colagéneo e a gelatina dão um outro diagrama, diferente do da queratina, com uma distância de cerca de 2.85 \AA ($2.84\text{-}2.86$) sobre a direcção do eixo da fibra, o que se pode explicar supondo uma ligação com a forma «cis» entre os elementos da cadeia polipeptídea



de que a cadeia da β -queratina e da setofibroína é a forma «trans».

A distância calculada por esta fórmula concorda com o valor experimentalmente observado. O cauchú mostra uma conformação semelhante, com formas «cis» e «trans». Em certos reagentes e em água quente, o colagéneo contrai-se até $3/4$ do seu comprimento, correspondendo então à forma sobrecontraída da *miosina* e, como esta, mostra grande elasticidade.

Pertencem ao mesmo grupo do colagénico: a gelatina, derivado artificial do colagénico, e também a elastina e a elastoidina das fibras elásticas (tecido conjuntivo elástico). A constituição deste grupo de proteínas não está ainda, contudo, suficientemente esclarecida.

Todas as estruturas fundamentais das proteínas a que tenho feito referência se podem resumir com ASTBURY nos quatro esquemas da figura 10 (a contar da esquerda).

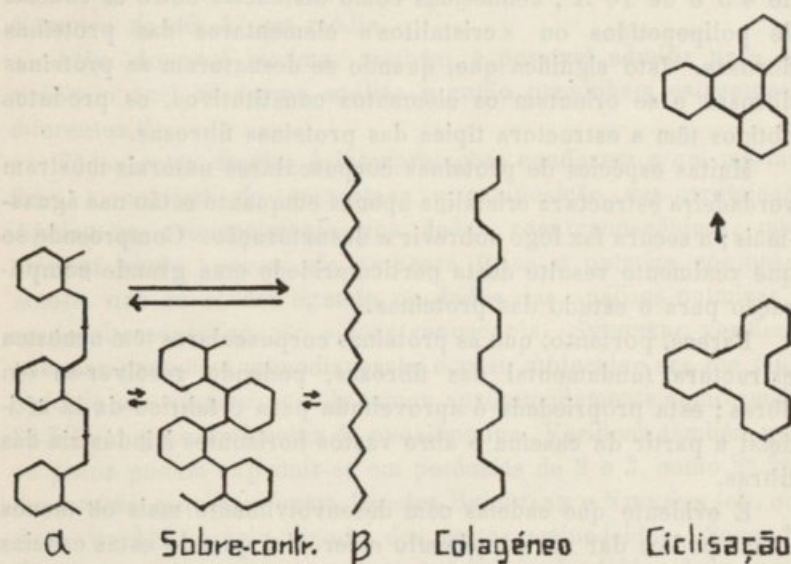


FIG. 10

Estruturas das proteínas. Da esquerda para a direita: queratina α ; queratina sobrecontraída; queratina β ; colagénico; formas cíclicas de WRINCH.

Além das proteínas fibrosas há ainda um outro grande grupo constituído pelas que têm estrutura corpuscular. Talvez, mesmo, a maior parte das proteínas pertençam a esta categoria. Podem apresentar-se cristalizadas, e quando sujeitas à acção de um campo centrífugo muito intenso comportam-se como se fôsem quási-esféricas ou esferóides (SVEDBERG 1934 e vários outros trabalhos do mesmo autor). Os roentgenogramas concordam com os dados da ultracentrifugação e demonstram um diâmetro médio de 40 Å para as moléculas. Êste mesmo tamanho se obteve pelo estudo de filmes monomoleculares.

Quando se dá a desnaturação ⁽¹⁾, obtêm-se, a partir das proteínas corpusculares, filamentos ou fibras que mostram o diagrama característico das proteínas fibrosas (o diagrama da β -queratina), desde que estejam sujeitas a uma certa tensão. Dá-se então uma orientação das partículas, o que origina o aparecimento desta estrutura; quando as partículas não estão orientadas, então a proteína desnaturada mostra um diagrama como se fôsse quasi-amorfa, no entanto já com as distâncias de 4.5 e de 10 Å , conhecidas como distâncias entre as cadeias de polipeptídicos ou «cristalitos» elementares das proteínas fibrosas. Isto significa que, quando se desnaturam as proteínas fibrosas e se orientam os elementos constitutivos, os produtos obtidos têm a estrutura típica das proteínas fibrosas.

Muitas espécies de proteínas corpusculares naturais mostram verdadeira estrutura cristalina apenas enquanto estão nas águas-mais; a secura faz logo sobrevir a desnaturação. Compreende-se que realmente resulte desta particularidade uma grande complicação para o estudo das proteínas.

Parece, portanto, que as proteínas corpusculares têm a mesma estrutura fundamental das fibrosas, podendo resolver-se em fibras; esta propriedade é aproveitada para o fabrico da lã artificial a partir da caseína e abre vastos horizontes à indústria das fibras.

É evidente que cadeias com desenvolvimento mais ou menos linear podem dar um corpúsculo esférico, quando estas cadeias e certas das suas porções estão mais ou menos enoveladas. Quanto à maneira como se faz o enovelamento destas porções de cadeia, tanto como o das várias cadeias, parece provável que seja também da forma já descrita para a queratina, isto é, que seja um desenvolvimento das uniões do tipo anel de seis membros, como deduziu WRINCH a partir da simetria dos cristais das proteínas (WRINCH 1936 *a*) e *b*) e 1937). Para explicar a unidade de comportamento, principalmente na cristalização, admitiu WRINCH que a partir da forma lactima se dá uma ciclização como está representado na figura 10 à direita; formar-se-iam assim os chamados «ciclois». Cada ciclol contém um certo

(1) Por desnaturação entendem-se mudanças no estado natural da proteína, principalmente aparentes na sua solubilidade.

número de grupos CHR, sempre múltiplos de 6 e é este número que dá o nome ao ciclól. A estrutura dos ciclois explica porque existem nas moléculas das proteínas apenas aminoácidos esquerdos, para o que é suficiente supôr que na fórmula cíclica ficam todos para o mesmo lado da cadeia, para o lado de dentro. Esta teoria presta-se a interessantes desenvolvimentos em relação, por exemplo, com a estrutura de cromosomas, substâncias carcinogénéticas, etc. As várias cadeias que compõem uma molécula estão enoveladas de maneira que resulta um diâmetro de 40 A° em média.

Além do anel lactima, também é possível admitir para os ciclois o anel de forma enólica e então provinham estruturas diferentes (1).

Tôdas estas teorias e interpretações conduzem a um mesmo fim: à unidade de estrutura e composição das proteínas. Apoiam-se principalmente nos dados roentgenoscópicos, mas existem ainda provas, de natureza física e química conjuntamente, que se obtêm ligando os dados das análises químicas e os da ultracentrifugação e roentgenoscopia. SVEDBERG verificou que nas proteínas monodispersas o pêso molecular era um múltiplo de um número que êle tomou aproximadamente como sendo 34.500, o pêso molecular da ovoalbumina. Verificou também que os pesos podem exprimir-se em potências de 2 e 3, como $2^n \cdot 3^m$. Ao mesmo esquema foram levados BERGMANN e NIEMANN (cit. em ASTBURY 1937) pelo estudo dos restos aminoácidos. Segundo BERGMANN e NIEMANN, o número total de aminoácidos, bem como o número de cada das espécies que entram numa proteína, pode exprimir-se como $2^n \cdot 3^m$, o que dá para pêso molecular das proteínas, sendo 17.600 a unidade de pêso molecular, aproximadamente os resultados que encontrou SVEDBERG.

Emquanto que o método de ultracentrifugação só pode ser aplicado no caso de monodispersão, o método analítico de BERGMANN e NIEMANN pode aplicar-se mesmo às proteínas fibrosas em que aparece polidispersão quando se dissolvem, ou que são naturalmente polidispersas e fibrosas; neste último caso estão a caseína e globulinas. Os dados analíticos existentes referem-se a duas proteínas corpusculares — ovoalbumina e

(1) Muitos autores não admitem a existência dos ciclois.

hemoglobina e a duas fibrosas — fibrina do sangue e fibroína da séda. A tôdas se adapta bem o mesmo esquema: os restos aminoácidos são em número $2^n \cdot 3^m$ e os pesos moleculares concordam com os de SVEDBERG (v. ASTBURY 1938) (1).

Além das proteínas corpusculares e fibrosas — que se mantêm com estrutura respectivamente corpuscular e fibrosa quando em solução, desde que não sobrevenha ruptura da cadeia — outras há que estabelecem transição, como por exemplo as proteínas corpusculares desnaturadas e certas proteínas naturais, principalmente entre as últimas a queratina das penas das Aves e escamas e carapaças dos Réptis. Neste caso, das Aves e Réptis, o diagrama de raios X mostra uma estrutura complicada, que se pode interpretar supondo que existe uma parte semelhante à queratina β , e uma outra corpuscular.

Os virus cristalisáveis são outro caso interessante na história da estrutura das proteínas; é curioso terem também grande interesse para o estudo do gene. Os virus são, notoriamente, proteínas solúveis e os seus «cristais» dão diagramas típicos. Por orientação numa corrente, podem obter-se dos virus roentgenogramas semelhantes aos das proteínas fibrosas, isto é, as partículas dispõem-se como se fôsem cristallitos duma fibra e não como se fôsem verdadeiros cristais. Os seus «cristais» terão apenas estrutura completamente cristalina em duas direcções e podem formar geles que interiormente são cristalinos. Os virus podem já ser classificados roentgenograficamente, mas a interpretação da sua estrutura está ainda pouco adiantada.

*

* *

Não quero passar sem me referir ainda a alguns trabalhos respeitantes à estrutura da queratina da pele. Segundo KLÖTZER e SAUPE 1936, a pele apenas mostra estrutura fibrosa nos roentgenogramas quando não está muito impregnada de água; quando está muito embebida a estrutura é amorfa. GIROUD e CHAMPETIER 1936 dizem que no extracto mucoso e nos apêndices

(1) As determinações de BERGMANN e NIEMANN estão, porém, sujeitas a muitos erros, o que torna os resultados um tanto incertos.

da pele se obtém o mesmo diagrama da α -queratina. Os autores interpretam este resultado supondo que as fibrilhas existentes no extracto mucoso é que contêm a queratina, visto que são comuns a esta camada e à córnea, e assim se explicaria que ambas as camadas mostrassem o mesmo diagrama. A formação da camada córnea não alteraria, portanto, a cadeia polipeptídea, mas talvez as cadeias laterais ou o plasma em volta.

No que respeita à análise do extracto córneo, WILKERSON 1934 verificou a existência de arginina, lisina e histidina na proporção molecular de, respectivamente, 15:5:1. Deve notar-se que esta análise foi feita na epiderme de um doente com «dermatite exfoliativa»; o que analisou o autor foi, portanto, a queratina das células ainda com núcleos, ou paraqueratina. Estas proporções não serão válidas para a queratina vulgar e necessitam confirmação.

*

*

*

Finalmente, como particularidade, mas, para as questões de que me ocupo, muito importante, deve mencionar-se a diferenciação das proteínas segundo a origem, obtida também pelos raios X.

A maior parte dos trabalhos sobre proteínas têm sido efectuados principalmente com o fim de demonstrar que as proteínas têm tódas, fundamentalmente, o mesmo tipo de estrutura, o que parece muito provável. A luz Roentgen dá as linhas gerais, pelos menos em primeira análise, mas particularidades há que são muito importantes. Assim, sabe-se que nos cabelos a queratina mostra uma estrutura própria: dispõe-se em zonas e, dentro destas, em camadas aparentemente um pouco diferentes umas das outras. Os diagramas não dão essas diferenças; contudo, notam-se outras diferenças apreciáveis e que dependem da espécie de que provém a queratina. CLARK e WICKOFF (cit. em HALLE 1937) verificaram a existência de períodos mais longos do que os habitualmente considerados, múltiplos 10 a 100 vezes de 3.5 \AA , e que são característicos de cada espécie. Diferenciam-se bem, por exemplo, as queratinas de homem e de porco-espinho, quanto ao tamanho e estrutura destes macroperíodos múltiplos de 3.5 \AA . Trata-se, provavelmente, de restos aminoácidos que só se repetem de longe em longe, ou

então, de arranjos diferentes e característicos. As roentgenografias das proteínas ganham, assim, um novo papel analítico (já me referi também às análises de vírus feita por meio dos roentgenogramas).

*

* *

Esta menção, na verdade um tanto longa, dos dados novos relativos às proteínas, teve por fim o exame das bases sobre que poderá assentar o estudo das melaninas. Os resultados adquiridos são importantes: Assim, sabe-se que a substância em que estão incluídos os grânulos ou outros depósitos de melaninas é uma proteína fibrosa complexa e de estrutura interessante. Nas análises desta proteína não se revelou a existência de fenilalanina. Por outro lado, está demonstrado que há várias espécies de queratinas com diferenças relativamente pequenas, mas nítidas. Outra conclusão, de importância geral, é a que se refere à unidade do plano de estrutura de todas as proteínas. Sabe-se, também, que a solubilidade indica alguma coisa sobre a composição da proteína.

Nota-se qual a importância que pode adquirir o estudo detalhado de casos particulares — o exemplo da queratina é elucidativo — para a interpretação da estrutura das proteínas em geral, e é fácil imaginar-se a importância que o estudo das proteínas tem para toda a Biologia, ligados como andam estes problemas aos próprios fundamentos da vida.

Composição das melaninas

Material e métodos. — Foram estudados os pigmentos melânicos em pêlos e em cabelos, respectivamente no coelho e no homem.

Nos coelhos, foram estudadas as melaninas existentes nos pêlos do dorso de animais cujo genotipo, quanto à cor, era conhecido; as peles foram amavelmente cedidas pelo Prof. H. NACHTSHEIM⁽¹⁾,

⁽¹⁾ Exceptuando o coelho azulado, que foi obsequiosamente oferecido pelo Prof. E. Tamagnini (Coimbra).

de Berlim. Há, portanto, segurança quanto à raça a que pertencem os coelhos.

Os cabelos de homem que serviram para as várias análises provinham de amostras com côres características.

As diferentes raças de coelhos analisadas são, empregando para os genes a representação alemã (NACHTSHEIM):

raça	fórmula
selvagem (wild)	A B C D G
preto (schwarz)	A B C D g
azulado (blau)	A B C d g
castanho (braun)	A B e D g
cinzento (Marburger Feh)	A B c d g
amarelo (Madagaskarfarbig)	A b C D g
alaranjado (orange)	A b c D g
côr de areia (sandfarbig)	A b c d g
albino (weiss)	a (B C D G)

A descrição da distribuição da côr nos diferentes genótipos encontra-se feita no trabalho de HADJIDIMITROFF 1933, de forma que não vale a pena referir-me a ela.

Não foram ainda analisadas tôdas as raças que poderiam ter interesse: faltam, por exemplo, as raças em que entra o factor G (excepto a selvagem) e aquelas em que existem, em vez de A, factores chinchila (a_{chi}), etc., os outros termos da série albina, que aparentemente causam diferenças de ordem quantitativa (cf. trabalhos de DUNN e associados).

Segundo DANEEL, os pigmentos existentes nos coelhos, são, como já referi, de três espécies: preto, castanho e amarelo. O pigmento amarelo existiria em todos os coelhos com G e b desde que estivesse presente também o factor A. Adiante exporei os resultados a que fui levado, um tanto diferentes destes.

*

*

*

Os cabelos de homem eram de três côres: *preto*, sem vestígio de qualquer tom; *ruivo*, isto é, *vermelho* a tender para o alaranjado; e cabelos *loiros*, de tom amarelo-claro. O número de côres analisadas é relativamente pequeno e, como se não

conhece o genotipo, é impossível qualquer suposição em relação à pureza racial dos indivíduos que forneceram os cabelos.

*

Os pêlos e cabelos foram dissolvidos em NaOH n/20 e, nalguns casos, NaOH n/10. Prêviamente eram lavados com sabão e água e, em certos casos, com éter (depois da limpeza com sabão) em aparelho de extracção Soxhlet. Em todos os casos em que não houve uma extracção das gorduras no Soxhlet, era feita uma «lavagem» com NaOH n/20 a quente, e a acção da NaOH era terminada antes que começasse a aparecer pigmento em solução. Em seguida a estas operações de limpeza, efectua-va-se a dissolução em balões bem fechados. Era expulso o ar do solvente levando-o quási à fervura. No espaço entre a rôlha e o cimo do líquido ficava uma camada de parafina líquida, a fim de impedir o contacto com o ar. Estas precauções são justificadas, como adiante se verá.

Dissolvem-se mais rápidamente os pêlos e cabelos quando se ferve. Em certos casos usei êste processo para provocar uma dissolução com alteração dos pigmentos; nos restantes casos os balões foram colocados em um termostato de 37° C ou ficavam à temperatura ambiente. Em tôdas as experiências de separação cromatográfica a dissolução deu-se a temperaturas de 37° C ou menos.

As precipitações dos pigmentos, quando usei o processo de precipitação pelo HCl, foram feitas com HCl aproximadamente 2n.

*

Separação da queratina e melaninas. — A separação da queratina (ou seus produtos de decomposição) e melaninas, bem como das espécies de melaninas, foi feita pelo método da adsorção cromatográfica de TSWETT. Como adsorventes empreguei colunas de alumina MERCK «Aluminiumoxyd standard. nach Brockmann» e CaCO₃ «prec. leve», também MERCK, além de outros carbonatos conseguidos a partir de mármore triturado e depois crivado pelos crivos 100 e 120 e carbonato obtido de cal viva

MERCK «e. marmore» (1). Serviu sempre como dissolvente NaOH de determinadas concentrações. Para o caso do CaCO_3 serviu de eluente HCl cêrca de 2n.

A adsorção foi feita em colunas de vários tamanhos, de preferência de pequeno diâmetro (2-2,5 cm.) e suficiente altura (15-10 cm.), empregando, ou não, pressões reduzidas. Nos casos em que era requerida a pressão reduzida foi usada uma bomba eléctrica de óleo, que dá um vazio bastante alto. Duração das cromatografias: variável conforme as condições e a quantidade do líquido.

Os produtos resultantes da precipitação ou da elução, eram retomados com água destilada, centrifugando várias vezes e lavando para eliminar o excesso de HCl e o NaCl. Outras particularidades inerentes à técnica da adsorção cromatográfica foram seguidas como está exposto em ZECHMEISTER e CHOLNOKY 1937.

Resultados obtidos

Dissolução das melaninas. — Desde que a quantidade de soda seja suficiente, os cabelos e pêlos dissolvem-se completamente. Fervendo, por exemplo, uma pequena quantidade de pêlos de coelho preto ou selvagem com muita NaOH n/10 ou n/20, passados 15 a 20 minutos não resta aparentemente nada por dissolver. Se se continuar muito a fervura, ou se a quantidade de pêlos for muito grande, já aparecem restos insolúveis.

Quando se procede à dissolução, nota-se que a solução se começa a mostrar corada antes de se quebrarem os pêlos, quando apenas se observa neles um inchaço. Depois de uma dissolução prolongada, observa-se, por vezes, que aparecem pêlos incolores, inchados, que perderam o seu pigmento. Conclui-se daqui que é provável que os pigmentos sejam mais facilmente solúveis que a queratina. A dissolução desta última consiste numa decomposição (principalmente hidrólise) provocada pela soda cáustica.

O aspecto final das soluções depende, no caso do coelho, do

(1) Foram ainda experimentados outros adsorventes, como gesso e gele de sílica, mas sem resultado. Outros meios, corados, como as «Fullererden», estão naturalmente contra-indicados.

genotipo de que se trata, emquanto que as soluções de cabelos humanos (das três côres: preto, vermelho e amarelo) apresentavam tôdas uma côr semelhante, diferindo apenas na intensidade ou tom. A objectivação destas diferenças só se pode fazer por métodos apropriados, espectrofotométricos, que serão possivelmente abordados noutra trabalho.

Observei também que as raças de coelhos de côr clara, amarelada, têm pigmento mais solúvel do que as de côr escura, correspondendo às diferenças de solubilidade expressas em NEUMANN 1937, a que já fiz referência. Estas diferenças de solubilidade não implicam, porém, a existência de dois pigmentos diferentes, pois podem igualmente explicar-se supondo que o estado de agregação, o tamanho e arranjo dos grânulos pigmentares, é diferente.

O que não se pode verificar é a existência de feo- e eumelaninas, estas últimas insolúveis no álcalis. São tôdas solúveis desde que o tempo e a quantidade de dissolvente, bem como a concentração dêste, estejam entre certos limites.

Sobre a acção da soda cáustica, deve supor-se que as melaninas são, pelo menos em parte, atacadas, sendo a queratina completa ou parcialmente decomposta em aminoácidos e provavelmente outros compostos mais elevados.

Sabe-se das experiências de EINSELE 1937 que os grânulos de melanina adsorvem os produtos de decomposição da queratina pelo HCl 6n. A quantidade de derivados da decomposição da queratina, que são adsorvidos, vai até 7% do pêso de melanina nos genotipos mais escuros. Certamente, EINSELE não teria conseguido pelo seu processo separar completamente as melaninas da queratina. Há ainda a contar com os produtos de decomposição das melaninas, decomposição que parece será inevitável quando se usa HCl 6n e se ferve. O processo seguido por EINSELE é demasiado brusco para o tratamento dêstes compostos. Pelo contrário, o tratamento usado neste trabalho é menos brusco e, como mostrarei adiante, pelo menos uma grande parte dos pigmentos parece ficar inalterada.

As soluções só de queratina (ou dos seus produtos de decomposição — hidrólise) apresentam luz de Tyndall muito forte. As soluções dos cabelos e pêlos corados, com queratina e melaninas, também apresentam luz de Tyndall muito intensa, e igualmente as soluções de melanina «purificada» pelo pro-

cesso de EINSELE ou as separadas cromatograficamente. Ao ultramicroscópio veem-se numerosos corpúsculos com movimento browniano, o que denota a existência de corpúsculos relativamente grandes.

Quando se precipitam os pigmentos com HCl 2n a partir das soluções em NaOH n/20, fica sempre, mesmo depois de uma centrifugação prolongada, um líquido amarelado. Esta cor é devida, segundo a opinião de vários autores, a «melanoides» formados pela acção dos reagentes (NaOH e HCl) sobre a queratina. Dissolvendo uma certa quantidade de pêlos de coelho albino (depois de cuidadosamente limpos, como ficou exposto atrás) em NaOH n/10 e em NaOH n/20, as soluções ficam incolores, mesmo depois de tratadas, da mesma forma que as de melanina, com HCl 2n. A conclusão a tirar é, portanto, que o amarelado do líquido centrifugado é devido ou a produtos de decomposição dos pigmentos, ou a partículas destes que ficaram ainda em solução e mais ou menos alteradas, ou inalteradas. Há probabilidade que se passem conjuntamente os dois fenómenos.

Outra observação que efectuei nas soluções dos pigmentos (pigmentos mais queratina) é a da sua fácil oxidação com H_2O_2 . A solução fica finalmente incolor ou quasi incolor, depois de 12 a 24 ou mais horas, conforme as quantidades empregadas.

Em conclusão, pode dizer-se que o método de precipitação pelo HCl é muito incompleto e, embora seja melhor que o processo de hidrólise pelos ácidos fortes e concentrados, usado por exemplo por EINSELE, conduz apenas a resultados quantitativamente pouco seguros. Não se sabe se por este processo da precipitação se poderão obter provas da existência de uma só ou de várias melaninas; permite, no entanto, a effectuação de algumas observações que passo a expor.

Melaninas obtidas por precipitação. — A partir das respectivas soluções em NaOH n/20, foram precipitadas as melaninas dos cabelos de homem das três cores já descritas. Obtive precipitados de cor semelhante à do cabelo de que tinha partido. O precipitado obtido do cabelo preto tinha cor castanha-escura, não era completamente preto, enquanto que o do cabelo vermelho era castanho-claro com um tom vermelho evidente. Do cabelo amarelo provinha um precipitado acastanhado, mais claro que o dos outros dois.

Considerações de várias espécies, levam a concluir que a queratina tem um papel importante no grau de agregação das melaninas (v. adiante o resultado das cromatografias) e, como se sabe, dá-se uma adsorção da queratina, ou melhor, dos seus produtos de decomposição. De forma que a cor diferente dos precipitados pode simplesmente ser devida ao tamanho dos grânulos e à maneira como estes estão ligados ⁽¹⁾ aos produtos de hidrólise da queratina, o que dependeria das concentrações relativas dos pigmentos e queratina, diferentes para cada caso.

Os precipitados foram de novo dissolvidos em NaOH n/20 e estas soluções serviram para a determinação no ultra-violeta e visível, utilizando um espectrofotómetro Hilger com um fotómetro Spekker para o ultra-violeta. O estudo das curvas, obtidas pelo processo da determinação dos pontos de igual escurecimento de chapas fotográficas, revelou uniformidade ou quasi uniformidade na forma das curvas. Só em outros trabalhos se poderão considerar em detalhe estas curvas, ao mesmo tempo que o tratamento de outros dados.

Separação das melaninas

I. A teoria da adsorção cromatográfica e o caso presente. — Vista a impossibilidade de separar as melaninas, ou a melanina, dos produtos de hidrólise da queratina, pelos métodos empregados, tentei um outro ainda não aplicado a estes compostos e que é usado com bons resultados em outros grupos de corantes naturais; este método é o da adsorção cromatográfica de TSWETT.

O método da separação cromatográfica foi empregado pela primeira vez em 1906 pelo botânico russo TSWETT; ficou esquecido até 1931, data em que recomeçou a ser usado (v. ZECHMEISTER e CHOLNOKY 1937). Depois de 1931 o método tem sido cada vez mais usado e alargado, sobretudo pela introdução da observação em luz ultravioleta (as chamadas ultracromatografias), cromatograma líquido, etc.

As bases teóricas da adsorção cromatográfica são ainda mal conhecidas, devido às dificuldades inerentes à investigação dos

(1) Sem significado preciso; talvez por adsorção?

fenómenos respeitantes às superfícies, a maior parte de difícil explicação. Todo o processo cromatográfico se funda na possibilidade da existência de afinidades diferentes dos vários corpos existentes numa solução para um mesmo adsorvente, como já sabia TSWETT. A adsorção depende do adsorvente, do dissolvente ou dissolventes empregados e suas concentrações, além da natureza do adsorvente e do adsorvido. A temperatura tem pouca influência (v. LOTTERMOSER e EDELMANN 1938: no caso analisado de aminas e aminoácidos, as temperaturas baixas favoreciam a adsorção).

Para um mesmo adsorvente e iguais condições de adsorção, a constituição do adsorvido é que em grande parte condiciona o lugar que irá ocupar a substância na coluna. É desempenhado um papel preponderante pelas duplas ligações e pelo número de anéis ou cadeias fechadas: a adsorção é tanto mais forte quanto maior é o número de duplas ligações, quando as outras condições são mais ou menos constantes; a mesma acção tem o número de anéis, embora as duas acções sejam independentes. A existência de hidroxilos, carboxilos e outros radicais, desempenha também um papel importante. Para um mesmo tipo de constituição, a afinidade entre adsorvente e adsorvido cresce também com o tamanho da molécula deste.

No conjunto, pode dizer-se que os mais variados elementos influem na adsorção, podendo esta ser tão selectiva que se separam estereoisómeros (WINTERSTEIN e STEIN, WINTERSTEIN — *cits.* em ZECHMEISTER e CHOLNOKY 1937). Para um determinado grupo de compostos ainda não investigados, tem que se proceder experimentalmente quando se pretenda saber se a separação dos elementos de uma mistura é possível cromatograficamente, pois não há nenhuma regra geral que seja válida para todos os grupos.

As proteínas têm sido muito pouco separadas cromatograficamente, possivelmente em grande parte porque as adsorções têm que se fazer em meio aquoso, o que constitui quasi sempre uma circunstância desfavorável. Recentemente, LOTTERMOSER e EDELMANN 1938 procuraram investigar a adsorção de aminas alifáticas e produtos de desintegração das proteínas — uma série de aminoácidos de varias constituições, além de amoníaco e sais de amónio. Como adsorvente para todos os compostos, foi empregado principalmente Al_2O_3 , e os autores procuraram apenas traçar as isotérmicas da adsorção para os compostos estu-

dados, agitando a solução com o adsorvente. A maior parte dos aminoácidos são adsorvidos pela alumina. Nos ácidos aminomonocarboxílicos a adsorção diminui quando aumenta a molécula, as ramificações da cadeia e a estereoisomeria não têm influência aparente. Os vários ácidos aminodicarboxílicos são também adsorvidos, excepto o dicloreto de lisina, a tirosina e o seu derivado diiodado 3,5-diiodotirosina.

A maior parte dos aminoácidos são, portanto, adsorvidos pelos óxidos de alumínio, mas, como frisam LOTTERMOSER e EDELMANN, a partir destas observações nada se pode dizer sobre o comportamento dos aminoácidos em coluna, de forma que a cromatografia dos produtos de hidrólise das proteínas ainda não tem as suas bases estabelecidas.

Com as proteínas sucede a mesma coisa: poucas ainda estão investigadas e não se possuem bases que permitam qualquer teoria sobre o seu comportamento em coluna. Entre as mais estudadas contam-se as enzimas, muitas das quais são substâncias albuminoides ou a elas ligadas, cuja presença se reconhece pela acção catalisadora sobre sistemas apropriados. As investigações de WILLSTAETER e outros, fundam-se principalmente na adsorção cromatográfica, e em certos casos tem-se conseguido isolar as enzimas do meio em que estão e separá-las umas das outras. O adsorvente para estas separações tem sido principalmente Al_2O_3 .

A partir do que se sabe sobre a solubilidade, bem como das restantes observações a seguir relatadas, parece poder-se concluir que as melaninas são proteínas mais ou menos afins da queratina. Prèviamente, nada se podia dizer sobre uma possível separação cromatográfica dos pigmentos e queratina, que até agora não tinha sido conseguida. Pode-se concluir das experiências da precipitação das soluções em NaOH n/20, com HCl 2n, que há probabilidade de uma grande parte das melaninas ficarem aproximadamente no estado nativo, isto é, há probabilidade de se conseguir um produto igual ou muito semelhante aos pigmentos existentes antes da dissolução. Convém, no entanto, que o número de tratamentos antes da cromatografia seja no menor número possível, a fim de se evitar o fenómeno, tão frequente nas proteínas, da desnaturação.

Como se verá no relato das várias cromatografias, em qual-

quer dos dissolventes empregados obtém-se logo à superfície, progredindo depois na seqüência da cromatografia, uma zona escura, de côr diferente conforme a raça (cf. resultados obtidos), e por elução desta zona obtém-se um preparado que deve ser muito semelhante à melanina natural de que se partiu. Além desta zona superior, existem, conforme a raça (isto é, conforme a côr dos pêlos) uma zona muito extensa e difusa e ainda, em alguns casos, zonas que se destacam e vão no líquido que passa a coluna quando da revelação. Estas zonas móveis e difusas devem ser formadas por vários produtos de desintegração das melaninas, obtidos pelo tratamento, mais ou menos hidrolisante, da dissolução. Que não se trata para êstes produtos côrados de derivados da hidrólise da queratina, é demonstrado pelas cromatografias da queratina. Uma discussão mais completa será efectuada após o relato das cromatografias.

II. Cromatografias. — Pigmentos existentes nos pêlos de coelhos de várias raças. — 1. Coelho albino. — Solução de pêlos de coelho albino (queratina pura ou quási pura) foram cromatografados sobre Al_2O_3 Merck stand. n. Brockmann e sobre $CaCO_3$ Merck prec. lev. Só a cromatografia sobre $CaCO_3$ é que será relatada mais minuciosamente, visto que só com êste adsorvente é que se podem fazer as adsorções dos pigmentos de forma que seja possível a elução.

As soluções de queratina (produtos da sua hidrólise) mostram à luz ultravioleta uma fluorescência azul que se observa também facilmente na pele ou nas unhas. A adsorção estuda-se, portanto, iluminando com uma lâmpada usual de ultra-violeta.

Solução: Queratina (de coelho albino) em NaOH n/20 à temperatura do laboratório, em dissolução aproximadamente durante um mês, tendo havido os cuidados anteriormente descritos. *Adsorvente:* $CaCO_3$ Merck prec. lev. tratado com NaOH. Foi usada uma coluna estreita, de cêrca de 2 cm. de diâmetro. *Revelação* também com NaOH.

Logo desde o início da adsorção passa líquido com fluorescência azul. Na região superior da coluna vai ficando uma zona, de fluorescência azul intensa, que aumenta até ficar relativamente extensa. Quando da revelação, destaca-se, logo na parte superior, uma zona ou anel característico de fluorescência azul intensa, que vai progredindo até passar para o líquido

inferior. A zona superior esbate-se cada vez mais, até a fluorescência desaparecer.

A zona ou anel «móvel», que se destaca quando da revelação, é característica das cromatografias de tôdas as soluções em que entra a queratina.

Não há coloração no visível, em qualquer parte da coluna, ou do líquido que passa.

A prova da existência de derivados proteínicos na coluna, foi feita eluindo várias regiões com HCl 2n e efectuando as reacções das proteínas descritas na discussão das cromatografias. Verifiquei que quanto maior era a quantidade de NaOH empregada para a revelação, menor ia sendo a quantidade de desintegrados queratínicos que ficava na coluna (a julgar pela intensidade das reacções), até que finalmente pelos processos usados se não demonstravam mais. No líquido que passa a coluna, as reacções das proteínas são positivas e muito intensas.

*

* * *

1. *Melanina escura* — Os pêlos do dorso de coelho preto foram dissolvidos em NaOH n/20 durante aproximadamente 3 semanas, com os cuidados descritos quando expuz a técnica seguida. A solução que se obtém tem uma cor castanha de tom intenso. As cromatografias foram feitas como para a queratina, primeiro sobre alumina e depois sobre CaCO₃ Merck prec. lev.

Cromatografia com alumina: Adsorvente Al₂O₃ stand. n. Brock., tratada com NaOH. Revelação como para a cromatografia da queratina.

O resultado antes da revelação é conseguir-se uma zona logo desde o limite superior da coluna, de cor castanha-escura, e abaixo desta zona fica uma outra de cor também castanha, mas muito pouco intensa e difusa, e que rapidamente ocupá todo o resto da coluna, passando em seguida ao filtrado. A revelação não altera o aspecto da coluna.

A *elução* com vários meios não se pôde fazer: nem NaOH, nem outros reagentes e misturas, conseguiram retirar ao adsorvente uma porção das melaninas que corasse o líquido. Por esta razão, a alumina foi posta de parte para as outras cromatografias, no que respeita à elução.

Cromatografia com CaCO_3 : A coluna foi preparada como está descrito para o caso da queratina. O resto da técnica é exactamente o mesmo. Os resultados antes e depois da revelação são muito semelhantes; apenas, quando se revela a zona superior torna-se mais nítida, e a zona difusa passa em parte ao filtrado. O aspecto final, depois da revelação, está representado na figura 11. Obtém-se: Uma zona superior (zona 1) castanha-escura, que se estende desde o limite superior da coluna; logo em seguida ou quasi (leve separação? — difícil de precisar em virtude do tom difuso da zona inferior) está uma zona inferior muito extensa (zona 2), difusa e de cor acastanhada, que se estende finalmente quasi até ao extremo inferior da coluna. O tom desta zona difusa é pouco intenso.

No início da revelação destaca-se uma zona «móvel» queratínica, só visível ao ultra-violeta.

Elução com HCl, da forma descrita. Obtém-se preparados que serão mais demoradamente descritos adiante, na discussão das cromatografias.

Tal como o coelho preto, comportam-se igualmente as soluções dos pêlos do dorso de coelho *selvagem*, *azulado*, *cinzento* (*Marburger Feh*) e *castanho*. Para todos eles o aspecto das cromatografias era o mesmo. As eluções também forneceram para todos preparados aparentemente iguais.

As cromatografias foram repetidas com soluções de diferentes concentrações e levaram sempre aos mesmos resultados.

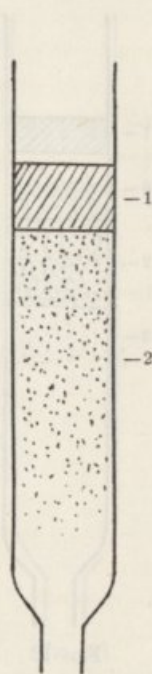


FIG 11

Cromatograma da melanina «escura» de coelho: 1—zona superior, castanha escura; 2—zona difusa, levemente castanha.

3. *Melanina clara* — Pêlos do dorso de coelho cor de areia (sandfarbig) foram dissolvidos em NaOH n/20, como para o coelho preto. A solução ficou com uma cor diferente da dos

coelhos escuros (grupo anterior). A diferença na cor não é devida a concentração diferente: diluindo a solução mais escura, a diferença mantém-se, isto é, é uma diferença de cor e não de tom (intensidade).

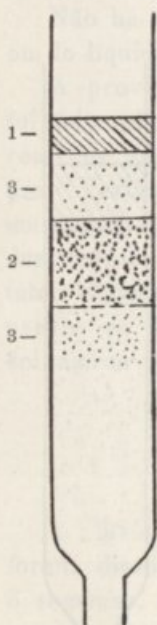


Fig. 12

Chromatograma da melanina « clara » de coelho: 1—zona superior, castanha-amarelada; 2—zona móvel, mais clara que a zona 1; 3—zona difusa, de tom levíssimo (talvez não existente).

Cromatografia com alumina: O resultado foi muito semelhante ao da melanina escura. Separou-se uma zona superior e uma zona contígua, difusa e mais clara que a superior. A zona superior tinha um tom mais claro do que a correspondente zona da melanina escura. Parecia que haveria uma zona muito pequena e levemente diferente do resto, situada na parte inferior da zona superior.

Esta cromatografia não levou a resultados seguros.

Cromatografia com CaCO_3 : Foi executada como para a melanina escura. Antes da revelação aparece uma zona desde o início da coluna, relativamente pouco intensa no tom, menos intensa, ainda, na parte inferior. Quando se revela, separa-se nitidamente uma zona inferior, de maneira que resulta o aspecto representado na figura 12: uma zona superior (zona 1), desde o limite superior da coluna, pouco extensa, de cor castanha-amarelada (menos escura que a zona superior da melanina escura, e de outra cor); e uma zona inferior (zona 2), que vai progredindo à medida que se revela, até ficar difusa na coluna e passar finalmente ao filtrado.

Como o coelho cor de areia, comportam-se exactamente as soluções dos pêlos do dorso dos coelhos *alaranjado e amarelo*. Constituem, portanto, um segundo grupo de cromatografias, diferente do primeiro e iguais entre si. As várias concentrações forneceram o mesmo resultado.

Como para a melanina escura, separa-se, logo no início da revelação, uma zona ou anel de fluorescência azul, característica da queratina e só visível à luz ultra-violeta.

Há ainda a notar que é possível que exista um levíssimo acastanhado na coluna, abaixo e acima da zona «móvel». Na figura 12 este tom problemático está representado por um leve pontuado (zona 3). É provável, porém, que tal tom seja apenas ilusório.

Pigmentos existentes nos cabelos de homem. — 1. *Cabelos ruivos.* — Cabelos vermelhos foram tratados como os pêlos de coelho, dissolvendo-os em NaOH n/20. Com alumina obtém-se uma coluna que finalmente mostra a seguinte composição: uma zona superior (talvez um pouco mais intensamente corada na sua parte superior) de cor castanha avermelhada; passa para o filtrado um líquido amarelado.

Cromatografia com CaCO_3 : Antes da revelação há uma zona desde a parte superior da coluna, muito extensa. Na parte superior desta zona distingue-se com dificuldade um tom mais intenso. O resto da coluna era incolor ou muito levemente amarelada (da solução que estava passando?). Quási desde o início do cromatografia, portanto antes da revelação, passava um líquido amarelado.

Quando se revela, a grande zona existente divide-se em duas: uma superior (zona 1) de cor acastanhada-avermelhada, que fica; e uma zona móvel (zona 2) de cor intensamente amarelada, que se destaca e vai progredindo até passar ao filtrado. Resta, entre a zona superior e a zona móvel, uma porção difusa (zona 3) de tom amarelado-acastanhado muito pouco intenso. O aspecto final obtido é o da figura 13. É possível que à superfície da zona superior, no limite da coluna, haja uma zona muito estreita de cor castanha mais escura. Característico desta cromatografia é, porém, a zona «móvel» com o tom intensamente amarelo, de limites nítidos, e a passagem de líquido corado quási desde o início da cromatografia.

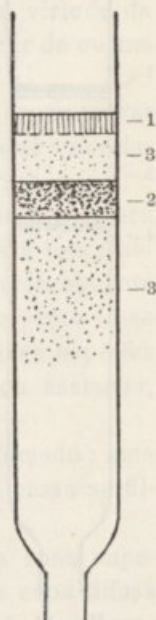


FIG. 13

Cromatograma da solução de cabelo ruivo, de homem: 1 - zona superior, castanha-avermelhada; 2 - zona móvel, amarela intensa; 3 - zona difusa, levemente acastanhada.

Soluções diluídas e concentradas forneceram o mesmo resultado. Uma solução em NaOH n/10 deu também o mesmo aspecto (apenas, a zona superior — zona 1 — apareceu com um limite inferior menos nítido depois da revelação, e parece que aumentou o tom difuso — zona 2).

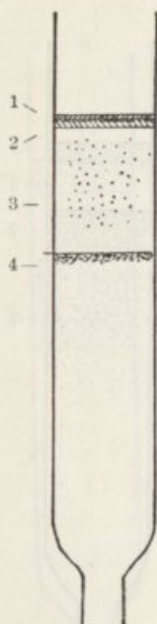


Fig. 14

Cromatograma da solução de cabelo loiro, de homem: 1 — zona superior, de cor castanha-escura; 2 — zona amarelada; 3 — zona difusa, de leve cor amarela-clara; 4 — zona móvel, queratínica com, conjuntamente, levíssimo tom amarelado.

de pigmento (zona 4), pois que há nesta zona um tom muito leve amarelo claro. Entre a zona 2 e a móvel (zona 4), vai ficando uma leve zona difusa (zona 3).

2. *Cabelo loiro.* — A dissolução foi feita, como habitualmente, em NaOH n/20; a solução ficou com um tom amarelado claro. Em coluna de *alumina* dá apenas uma zona superior castanha e passa um líquido amarelo palha; quando se revela, o aspecto fica sensivelmente o mesmo.

Cromatografia com CaCO₃: Cromatografia executada como está descrito anteriormente e observada ao ultra-violeta. A solução estava tão pouco concentrada que tôdas as zonas ficaram com pequena intensidade.

Antes de revelar vêem-se parte na superior da coluna duas zonas pouco extensas: uma no limite superior da coluna, (zona 1), de cor castanha-escura; outra logo em seguida, de cor amarelada (zona 2). Era abaixo desta zona que se notava a zona queratínica de fluorescência azul.

Quando se procede à revelação resulta o aspecto representado na figura 14: Superiormente ficam as duas zonas já descritas, contíguas ou com pequeníssima solução de continuidade; em seguida às duas zonas destaca-se um anel ou zona queratínica móvel, de fluorescência azul, e conjuntamente com o anel queratínico vai uma pequeníssima quantidade

Os resultados para o cabelo loiro não são, de forma alguma, definitivos. A distinção entre as zonas era difícil, dada a sua pequena extensão e intensidade de coloração. A zona difusa e a zona móvel eram tão debilmente coradas que resultava incerteza desde que se não observasse cuidadosamente. Foi repetida várias vezes a cromatografia sem melhores resultados, em virtude da diluição dos pigmentos na solução. É necessário partir de outras soluções para se conseguirem melhores resultados.

Contudo, verifica-se que há distinção entre esta cromatografia e a dos cabelos ruivos. A característica zona móvel amarela-intensa não aparece aqui.

3. *Cabelo preto.* — A cor da solução de cabelos pretos era sensivelmente a mesma da dos cabelos ruivos, com um tom mais intenso (mais escura). A cor também não diferia apreciavelmente da solução dos cabelos loiros, embora a solução do preto fosse muito mais intensamente corada que aquela. As três espécies de soluções tinham todas cor castanha-amarelada ou castanha, conforme a intensidade.

A cromatografia em alumina deu o resultado costumeiro: uma zona superior castanha e uma difusa, inferior, e que passa ao filtrado.

Na cromatografia com CaCO_3 depositou-se uma zona superior (zona 1) um tanto extensa, e em seguida uma zona difusa (zona 2) também muito extensa. Depois da revelação o aspecto não se alterou sensivelmente. Pode-se representar o resultado pela mesma figura que serviu para o caso da melanina escura — figura 11. Aparentemente, as duas cromatografias são idênticas.

*

*

*

III. Significado das cromatografias. — Como se deduz facilmente das considerações teóricas sobre a cromatografia, não é possível a partir da não-separação de dois ou mais compostos concluir a sua identidade, isto é, a unidade da mistura.

Pelo contrário, desde que duas misturas mostram cromatografias diferentes, quando as condições de experimentação são as mesmas ou aproximadas, as duas misturas têm componentes diferentes — há diferença pelo menos num componente. A par-

tir das cromatografias que efectuei é possível, portanto, concluir que há mais de um pigmento, tanto no homem como no coelho. *Há mais que uma melanina, as diferenças entre as melaninas contidas em pêlos e cabelos de cores diferentes são quantitativas e qualitativas.* Esta conclusão parece-me importante, pois resolve a velha questão da existência de um só ou de vários pigmentos. Não se podem explicar tôdas as diferenças entre as várias cromatografias supondo que as melaninas diferem apenas quantitativamente.

Nas raças de coelho que foram analisadas aparecem sòmente duas espécies de cromatografias, uma para o grupo «escuro», outra para o «claro». Convém saber, contudo, se, existindo as duas espécies diferentes de melaninas (correspondentes às duas espécies de cromatografias) numa mesma raça, se poderiam demonstrar cromatograficamente. Com êste fim, efectuei cromatografias de misturas de soluções de pigmentos escuros e de pigmentos claros.

Cromatografia da mistura de pêlos de coelho preto e de coelho côr de areia. — Quando se misturam as duas soluções, resulta uma côr idêntica à da solução escura; uma pequena porção de solução de raça escura é suficiente para esconder a côr própria das raças claras. Também é de esperar que nas cromatografias a distinção seja difficil, em virtude de a solução das raças escuras dar zonas que ocupam quási tôda a coluna e que são muito mais intensas e mais escuras que as correspondentes dos pigmentos claros.

A cromatografia foi feita com CaCO_3 da maneira habitual. Já antes da revelação se notava, mas com certa difficuldade, a existência, na parte superior da coluna, de duas zonas levemente distintas. Destas duas zonas, a inferior (zona 2) era mais clara e de côr um pouco diferente. A seguir vinha uma zona difusa igual na aparência à correspondente para a melanina escura (zona 3). Depois da revelação acentua-se a separação das duas zonas superiores, que, no entanto, ficam separadas apenas por uma zona levemente mais clara e muito pequena. O aspecto que se observa à luz ultravioleta está representado na figura 15. Quando da revelação, separou-se a zona móvel característica da queratina, representada também na figura (zona 4); parecia que esta zona tinha uma leve côr amarelada que se vai esbatendo com a pro-

gressão da revelação. Esta última particularidade é, porém, incerta.

Na figura estão representadas: uma zona superior mais escura (zona 1); uma zona mais clara a seguir a esta (zona 2), com uma separação; depois um pontuado correspondente à zona difusa (zona 3); e na parte média da zona difusa, a zona móvel queratínica (zona 4), com a possível cor amarelada.

Compreende-se que a 2.^a zona a contar de cima (zona 2), existindo num fundo relativamente escuro como é a zona difusa da melanina escura, não se veja bem. A observação em luz ultravioleta intensa favorece a distinção. No entanto, necessitam-se mais observações para um completo esclarecimento desta questão.

A verificarem-se em várias misturas e em várias condições as diferenças que assinalai, é possível distinguir-se numa solução a existência da melanina clara, mesmo em presença da escura. Tudo parece passar-se como se a adsorção ao nível da zona difusa não impedisse uma ulterior adsorção da melanina clara.

Uma mistura das soluções de pêlos de coelho castanho e de coelho amarelo (Madagaskarfarbig) cromatografada sobre CaCO_3 , deu resultados semelhantes aos acima descritos. A zona queratínica não apresentava cor visível. Na região superior da coluna notava-se uma diferença entre a parte superior e a inferior, correspondendo a duas zonas, como na mistura de preto e cor de areia. As duas zonas eram contíguas.

Segundo os resultados das cromatografias, conclui-se que nos pêlos do dorso dos coelhos analisados existem duas melaninas, uma melanina clara nas raças claras e uma melanina escura nas

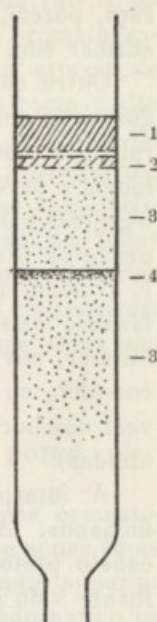


Fig. 15

Cromatograma da mistura das soluções de melanina «escura» e melanina «clara» de coelho: 1-zona superior, castanha escura; 2-zona mais clara e de cor um pouco diferente da zona 1; 3-zona difusa, acastanhada; 4-zona móvel queratínica (com leve tom amarelado?).

raças escuras⁽¹⁾. As observações até agora efectuadas não são a favor da existência de mais de uma espécie de melanina em cada raça, porém, são necessárias mais cromatografias para se poder afirmar com segurança esta proposição.

Outra questão importante é a da separação das melaninas e dos produtos de hidrólise da queratina. Como expuz quando relatei a cromatografia da queratina, depois duma revelação prolongada parece que todos ou quasi todos os produtos de desintegração passaram ao filtrado. De resto, a maior parte desses produtos passam a coluna logo desde o início da cromatografia. É evidente que se pode conseguir uma separação mais completa fazendo mais uma cromatografia das melaninas isoladas. Pode-se afirmar, portanto, que se consegue por este método a separação completa ou quasi, da queratina e melanina. O que digo adiante vem colaborar nesta conclusão (cf. a solubilidade das melaninas obtidas).

A interpretação é muito mais difficil no caso dos cabelos humanos. A julgar pelo seu comportamento na adsorção, o cabelo preto tem uma só espécie de melanina, idêntica ou semelhante à do grupo escuro dos coelhos.

O cabelo loiro analisado parece ter duas melaninas: uma escura, em pequena quantidade e correspondente talvez à melanina do cabelo preto; uma outra, melanina clara correspondente à melanina clara dos coelhos (ou diferente dela?). A melanina do cabelo preto é que mostra mais semelhanças com as do coelho, na verdade com a melanina escura do coelho. São necessárias outras cromatografias de cabelos castanhos com vários tons, para um melhor esclarecimento destas questões. Convém também analisar cabelos loiros com diferentes tons e que permitam a obtenção de soluções mais intensamente coradas.

Finalmente, os cabelos ruivos de homem mostraram um resultado diferente do que se poderia esperar. A cor alaranjada dos cabelos ruivos, (ou melhor, vermelhos ou alaranjados) podia ser causada por uma mistura nas proporções convenientes do pigmento escuro com o pigmento claro. A conclusão que permitem as cromatografias efectuadas é, porém, diferente — deve

(1) Cf. as descrições das cromatografias para o significado de «raças claras» e «raças escuras».

existir nos cabelos ruivos analisados uma melanina «alaranjada», ou «avermelhada».

Verificando-se em ulteriores estudos que cabelos ruivos de vários tons mostram as mesmas características nas cromatografias, concluir-se á que no homem existe mais uma espécie de pigmento que no coelho. Esta conclusão aparece como muito provável a partir das minhas actuais observações e estaria de acôrdo com várias particularidades que mostram os ruivos, como por exemplo a existência de sardas e outras características da pele. É evidente que no homem as análises feitas pelo método usado neste trabalho serão muito mais incertas que nos coelhos, em vista da impossibilidade de se conseguirem raças puras. Muitas mais observações são precisas antes que se esclareçam várias questões.

Algumas características das melaninas puras

1 — A zona superior. — Das fracções separadas cromatograficamente, apenas a zona superior — zona 1 — (ou zonas superiores — caso do cabelo loiro), que começa no limite superior da coluna, deve corresponder às melaninas no estado nativo ou aproximadamente no estado nativo. Pelo contrário, as fracções com menor afinidade para o adsorvente devem ser produtos de desintegração das melaninas, talvez em ligação, de qualquer maneira, com derivados da hidrólise da queratina. O aquecimento das soluções e possivelmente a exposição ao ar (oxidação), devem transformar as melaninas em compostos mais simples e de côr mais clara. Que assim é, de facto, demonstram-no as experiências de oxidação dos pêlos e cabelos, bem como das soluções de melaninas, que dão produtos finais incolores.

Executei algumas cromatografias com o fim de esclarecer este ponto. Assim, depois de ferver por 40 minutos uma solução de pêlos do dorso de coelho selvagem em NaOH n/20 (levada de quando em quando ao volume inicial) procedi a uma cromatografia em coluna de alumina. A coluna foi preparada como habitualmente. Deposita-se durante a execução da cromatografia uma zona larga castanha-escura em cima, e em todo o resto da coluna uma zona difusa de côr também levemente acastanhada, que de-prensa chega à parte inferior da coluna; então começa a passar um líquido amarelado.

Quando começa a revelação, destaca-se próximo da zona superior uma zona móvel (zona 2) castanha clara, e fica na parte superior da coluna uma zona (zona 1) aparentemente como a correspondente para o caso em que a solução não foi fervida, característica da melanina escura. Na figura 16 está representado o aspecto da coluna, com a zona superior castanha-escura, em seguida a zona difusa (zona 3) em tóda a coluna, e a certa altura a zona móvel castanha-clara.

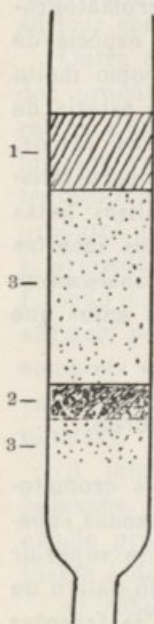


Fig. 16

Cromatograma da solução de cabelos de coelho de raça «escura», depois de fervida: 1-zona superior, castanha escura; 2-zona móvel castanha clara; 3-zona difusa. Zona 1 aparentemente igual à zona 1 da figura 11, zona 3 aparentemente igual à zona 2 da figura 11

A zona móvel (zona 2) vai progredindo até passar ao filtrado. A côr desta zona móvel era diferente da zona móvel que se obtém nas cromatografias das raças claras sobre CaCO_3 .

A mesma solução antes de fervida não mostrou nas cromatografias com alumina a zona móvel castanha, mas apenas a zona superior e a zona difusa própria da melanina escura. É lógico atribuir-se o aparecimento desta zona móvel à decomposição da melanina quando da fervura. Portanto, os produtos da decomposição têm menor afinidade para o adsorvente que a melanina nativa. É natural pensar que a zona superior representa a melanina no estado nativo ou aproximadamente.

Outras cromatografias de soluções mais fortemente decompostas (fervura com NaOH n/10 durante duas horas) deram ainda mais fracções em zonas móveis de tons castanhos mais claros e pouco diferentes umas das outras.

Este processo da cromatografia, associado a decomposições apropriadas, pode prestar bons serviços em relação com o esclarecimento de várias questões sobre as melaninas.

Admitindo que a interpretação que acabo de efectuar é correcta, conclui-se que os produtos de decomposição aparecem inevitavelmente, nas condições em que se realizou

a dissolução dos pigmentos. É possível que noutras condições não haja ataque aos pigmentos. O estabelecimento dessas condições e a análise das soluções obtidas, constitui um dos temas de futuras investigações.

Com respeito à zona superior das cromatografias da melanina clara e da melanina escura de coelho, apresentam-se, entre outras, as seguintes possibilidades: 1 — a zona superior compõe-se de melanina pura ou quási pura; 2 — compõe-se de melanina de composição quási idêntica à natural, mas desnaturada; 3 — compõe-se de uma das fracções ou de um conjunto de fracções em que a melanina se cinde, sendo outra ou outras das fracções constituídas pelas zonas inferiores, difusas ou móveis. A 2.^a possibilidade parece pouco provável em virtude da fácil dissolução dos produtos obtidos. A 3.^a possibilidade também não está de acôrdo com as cromatografias antes relatadas (em que se ferveram as soluções) nem com as novas precipitações efectuadas a partir das soluções do produto e as observações que vão seguir-se. Deve, portanto, prevalecer a 1.^a possibilidade.

2 — Côr dos produtos obtidos — No coelho. — Depois das cromatografias fez-se a eluição pelo processo descrito. Emprega-se uma quantidade de HCl que não fique muito em excesso em relação à quantidade de CaCO_3 , sabido como é que o HCl ataca as melaninas.

Da fracção correspondente à *zona superior da melanina escura* obtém-se um preparado insolúvel no HCl diluído e na água destilada. Retoma-se o produto em água, centrifugando. O produto obtido tem a mesma côr para todos os coelhos do grupo escuro, e depois de sêco é intensamente castanho, quási preto. A côr é mais próxima do castanho-avermelhado que do amarelado. Quando ainda com água, mostra uma côr caracteristicamente castanha avermelhada, escura.

O produto obtido da *zona superior (zona 1) do grupo claro (melanina clara)* é também castanho, mas com côr tendendo para o amarelado e é menos escuro que o correspondente da melanina escura. Mesmo depois de sêcos os dois produtos, ainda se conhece a diferença.

A *zona inferior (zona 2), difusa, da melanina escura*, depois de eluída forneceu um preparado semelhante ao da zona supe-

rior, mas muito mais claro, embora fundamentalmente da mesma côr; aconteceu o mesmo com a *zona inferior (zona 2) da melanina clara*, em relação à respectiva zona superior (zona 1).

No homem. — Da elução da *zona superior do cabelo vermelho* obtém-se um produto de côr castanha-avermelhada bastante escura. A *zona móvel* da mesma cromatografia deu uma pequena quantidade de um produto avermelhado-alaranjado claro. Certamente esta substância estava junta a derivados queratínicos, o que lhe podia alterar a côr. Da *zona difusa* resultou um produto em pequena quantidade, semelhante ao da zona superior, mas mais claro.

As colunas de adsorção do *cabelo loiro* tinham zonas pouco extensas e pouco intensas na coloração, de forma que da elução delas provieram pequenas quantidades de substâncias em que mal se podia apreciar a côr. A *zona do limite superior* deu um produto castanho-escuro, emquanto que a *zona imediatamente a seguir* forneceu uma substância amarelada-acastanhada pouco intensamente côrada. Outras cromatografias poderão esclarecer melhor a côr dos eluatos.

Do *cabelo preto* vieram fracções semelhantes às das correspondentes zonas do cabelo ruivo, apenas, segundo parece, de côr mais intensa emquanto húmidas; depois de sêcas diferenciam-se um pouco mais e aproximam-se das correspondentes do grupo escuro dos coelhos.

Em suma, quanto ao homem pode dizer-se que para tirar conclusões definitivas são necessárias, como já tinha exposto atrás, mais observações. Como para os coelhos, os dados da elução tornam muito provável a hipótese de se tratar para a zona superior de produtos idênticos, ou próximos, das melaninas naturais.

3 — Solubilidade e reacções. — Foram apenas investigadas a êste respeito as melaninas nos coelhos.

As melaninas puras (preparado da fracção superior das cromatografias) têm uma solubilidade diferente dos precipitados obtidos simplesmente por precipitação pelo HCl a partir das soluções totais dos pêlos. Já relatei a observação de que os pigmentos são mais solúveis que a queratina; no entanto, as melaninas obtidas por precipitação pelo HCl das soluções totais, são difficilmente solúveis, quási tão difficilmente como os pêlos.

Como se sabe, estas melaninas têm adsorvidos, ou de outra forma ligados, produtos da decomposição da queratina, ou mesmo queratina íntegra. As melaninas obtidas cromatograficamente mostram, contrariamente às impuras de precipitação, uma notável solubilidade nos alcalis. Dissolvem-se prontamente nos alcalis diluídos: desde que se juntem umas gotas de NaOH n/20 a uma pequena porção de água destilada, dissolvem-se imediatamente. Isto é válido tanto para a melanina escura como para a melanina clara, e significa que não deve ter havido desnaturação (que em regra torna as proteínas menos solúveis) além de que representa uma prova em favor da hipótese de se tratar de melaninas puras. Outra conclusão a tirar diz respeito ao efeito inibitório que parece ter a queratina, ou seus produtos de decomposição, sobre as melaninas, quando adsorvida nos grânulos destas últimas. A acção da queratina tem um significado biológico interessante e merece ser mais convenientemente esclarecida.

A forte luz de Tyndall das soluções de queratina em NaOH n/20 leva a crer que devem ainda existir na solução cadeias longas intactas ou quási, (v. PAULI e WALKÓ 1933 — *Optische Eigenschaften der Eiweisslösungen*). Quando se evapora um pouco desta solução no vazio e depois se retoma com água destilada, obtém-se pequenos flocos de uma substância branca, ao microscópio com um tom amarelado, e que ainda parece ter estrutura fibrosa. Ter-se-ia talvez tornado a formar uma estrutura semelhante à da queratina (para se estudar melhor esta questão são necessárias outras experiências) o que significa que nem toda a queratina ainda estava decomposta em aminoácidos. Na solução, com um forte efeito Tyndall, devem, portanto, existir pedaços da fibra queratínica capazes de evitar ou retardar a dissolução das melaninas, acção que deve ser importante para estas últimas⁽¹⁾. Compreende-se também, que é possível que a quantidade de queratina e derivados queratínicos, que estão adsorvidos ou combinados com as melaninas, pode ter uma grande influência sobre a cor dos pêlos e dos precipitados em que existem conjuntamente.

(1) Além de outras acções protectoras contra oxidações, etc.

*

* *

As melaninas puras obtidas cromatograficamente têm a reacção das proteínas descrita em FEIGL 1937. A reacção consiste no seguinte: A uma gota de solução, de preferência hidrolisada, junta-se uma gota de solução alcoólica a 0.2% de α -nitroso- β -naphtol e aquece-se num microcadinho. Emquanto quente, junta-se uma gota de HNO_3 ($D=1.4$). Havendo tirosina aparece uma cor púrpura. Como quasi todas as proteínas têm tirosina, a reacção pode servir para caracterizar as proteínas. A reacção tem ainda a vantagem de ser muito sensível (v. FEIGL 1937).

Tanto a queratina como as melaninas puras davam reacção positiva (sempre comparadas com um ensaio em branco).

Um outro processo de demonstrar a existencia de proteínas ou seus derivados consiste em neutralizar a solução alcalina com HCl diluído até ficar um excesso de ácido. Depois evapora-se à secura a quente num microcadinho. Havendo matéria orgânica ficam depósitos carbonáceos quando se termina o aquecimento a tempo. As soluções de queratina mostram uma propriedade interessante quando assim tratadas: se o aquecimento é conveniente, formam-se, desde que se junte uma nova pequena porção de HCl diluído, pequenos filamentos com a aparência de cabelos ou pêlos, por vezes de 0.5 cm. de comprimento, e com várias tonalidades do amarelo e castanho até ao preto, conforme a carbonisação, isto é, conforme o aquecimento.

As habituais reacções das proteínas não são em regra exequíveis, sem mais modificações, nas soluções em NaOH.

As soluções de melaninas puras obtidas nas cromatografias, precipitam de novo quando se neutraliza a solução com um excesso de HCl 2n. O precipitado é em tudo semelhante, aparentemente, à melanina pura da cromatografia. O líquido que fica não apresenta qualquer coloração ou turvação aparente. Estes factos constituem mais uma prova da pureza das melaninas obtidas na zona superior das cromatografias.

4 — Propriedades ópticas. — As melaninas iluminavam o campo quando observadas em luz polarizada ao microscópio, entre nicóis cruzados. Um pouco do preparado obtido da eluição da zona superior, tanto da cromatografia da melanina escura como da clara, quando colocado sobre uma lâmina e observado entre nicóis cruzados ainda na água com que foi retomado, à primeira vista parece amorfo. Substituindo a fonte luminosa vulgar por um arco voltaico, o campo ilumina-se em raros pontos dos grumos de cor castanha que constituem o preparado da melanina pura. A intensa coloração (absorção da luz) das melaninas torna necessário o emprêgo do arco.

Se se deixar o preparado sobre a lâmina, em câmara húmida, até ao dia seguinte, os grumos aderem mais ou menos à lâmina e na nova observação aparecem iluminados quasi todos os pontos dos grumos da melanina. Quando se deixa secar a melanina sobre a lâmina, a iluminação é então muito manifesta. É natural pensar-se que a adesão das partículas à lâmina causou uma orientação destas, donde resultou um aumento da dupla refração. Tanto a melanina clara como a escura apresentam o mesmo aspecto.

Como é sabido (v. por exemplo AMBRONN e FREY 1926) há uma «dupla refração de forma» e «uma dupla refração própria das partículas». Um dos processos para a distinção das duas propriedades é o «método da embebição», que consiste essencialmente em introduzir o corpo que se quer comprovar numa série de líquidos com índice de refração apropriado, por tempo suficiente, de forma a que os espaços interparticulares fiquem preenchidos pelo líquido.

Embebendo as melaninas sobre lâmina na série dos líquidos água-anilina descrita a pág. 154 de AMBRONN e FREY 1926 (1), a dupla refração continua a notar-se. Trata-se, portanto, de dupla refração própria; há corpúsculos alongados, provavelmente de natureza fibrosa.

Estas observações estão de acôrdo com o que se sabe da estrutura das proteínas. Pela sua solubilidade e lugar de formação no organismo, as melaninas devem ser próximamente como a queratina. Distinguem-se desta, além da cor, pela mais

(1) Não foi usado o álcool benzílico, o que não deve introduzir grande diferença.

fácil dissolução em meio alcalino e possibilidade de precipitação sem aparentemente ter havido alterações profundas na sua constituição.

As soluções de queratina, ou de queratina e melaninas conjuntamente, ou de melaninas puras — não mostram dupla refração de corrente quando observadas no aparelho de Zocher (v. ZOCHER 1921). Empregando vários dispositivos, não consegui o aparecimento da cruz de dupla refração que se observa tão facilmente, por exemplo nos soles de pentóxido de vanádio. BOEHM e SIEGNER (cit. HAUROWITZ 1936) observaram dupla refração de corrente em proteínas fibrosas tais como gelatina e fibrinogéneo, o que significaria que mesmo em solução continuavam a ter estrutura fibrosa. KUHN 1934 estuda o assunto teoricamente e conclui que, quando moléculas longas se encontram em solução, há probabilidade de estarem enoveladas irregularmente sob a forma exterior de um elipsoide. Em certos casos, os altos-polímeros teriam tais moléculas em solução. Segundo os dados de SVEDBERG existem autênticas moléculas esféricas nas soluções das proteínas. No caso das melaninas é muito provável que se trata de moléculas alongadas mesmo em solução, dado o que se sabe sobre a dupla refração dos precipitados e o parentesco com a queratina. O resultado negativo das minhas observações sobre a dupla refração de corrente, pode apenas significar que o aparelho de Zocher não é suficientemente sensível e talvez seja possível observar dupla refração com outro dispositivo.

Também é possível e talvez provável que os pedaços das partículas fibrosas alongadas, quando estão em solução, formem novamente a primitiva estrutura em contacto com o adsorvente nas colunas, dando a fracção superior, que representará, então, a melanina pura e no estado nativo.

Discussão — Conclusões

O que está exposto anteriormente é um estudo sobre a pigmentação melânica no homem e no coelho e pode considerar-se dividido em três partes.

Na primeira parte foram discutidos os processos usados para a determinação da pigmentação em casos em que a cor forma uma série, aparentemente contínua, desde os tons mais claros aos mais escuros. Tem que se recorrer a tais processos quando se estudam populações de Mamíferos, principalmente quando o objecto de estudo é o homem.

O processo dos tinto-fotómetros pode ser empregado com vantagem a todos os outros, para determinações com uma precisão suficiente para estes estudos. Os aparelhos (pelo menos o que foi detalhadamente verificado) ainda não correspondem aos requisitos impostos quando se desejam determinações seguras e em que o critério pessoal entre no menor grau possível. Algumas modificações dos filtros e dos padrões «brancos» fariam aumentar muito a precisão do aparelho. Além disso, é necessário que se possa com facilidade exprimir a cor observada, segundo as regras internacionais; a construção dos aparelhos deve também ter em vista facilitar uma uniformização da nomenclatura.

Conclui-se da análise efectuada espectrofotometricamente, que os filtros do pigmentómetro são relativamente pouco selectivos, isto é, que absorvem incompletamente durante uma gama de comprimentos de onda relativamente grande; tais filtros têm, ainda, a desvantagem de não serem equivalentes quanto às características de cor calculadas segundo um dos métodos colorimétricos internacionais.

Expuz detalhadamente a maneira como as constantes colorimétricas foram determinadas. O processo usado é susceptível de introduzir erros, que em regra são da ordem de 2-3% na marcação das chapas (além dos erros propriamente instrumentais), e, nos piores casos, pode dar um erro de 5% ou um pouco mais. Examinando as curvas obtidas para as três espécies de filtros, verifica-se que realmente o erro envolvido em toda a determinação não é de molde a alterar sensivelmente os

resultados. Pode acontecer que, em parte, os erros se possam também atribuir a leves diferenças na graduação das escalas. Mas, duma maneira geral, pode-se dizer que as escalas estão bem graduadas e que os desvios encontrados entre as curvas por unidade de filtro, para cada côr, estão perfeitamente contidos no que se supõe ser o limite do êrro envolvido.

As determinações efectuadas com aparelhos semelhantes ao que usei são, em rigor, apenas válidas para um mesmo observador. A pequena selectividade dos filtros induz a julgamentos um tanto diferentes dos que seriam obtidos pelo «observador-padrão» e a erros sistemáticos que serão diferentes para cada pessoa. Com um observador treinado segundo os princípios da nomenclatura internacional, talvez se pudesse evitar a maior parte dêstes erros.

Para a determinação da côr dos olhos tive que usar um processo indirecto, comparando a pigmentação com os termos da escala de SALLER e medindo depois as côres da escala com o pigmentómetro. É evidente que as causas de êrro foram, assim, aumentadas e que se obterá, em média, uma menor precisão. Os números obtidos devem vir apenas com uma aproximação de 0.5 da escala, enquanto que o processo directo permitia 0.1 — 0.3. Seria interessante verificar experimental e estatisticamente qual o êrro envolvido conforme as diferentes condições em que se efectua a determinação, mas apenas com outras escalas, mais selectivas quanto à sua absorção, se conseguiriam resultados geralmente applicáveis para a maior parte dos observadores.

Em conclusão, o pigmentómetro (ou os aparelhos semelhantes) deve sofrer transformações que o tornem mais eficaz e permitam que as determinações sejam directamente comparáveis de uns para outros observadores, embora trabalhem independentemente.

Para tornar as determinações mais rigorosas era conveniente usar o iluminante C recomendado pela Comissão Internacional de Iluminação (C. I. E.) pelo menos nas determinações efectuadas no Laboratório; as condições de iluminação influem bastante nos resultados e uma luz incerta faz perder muito tempo ao observador, pois é preciso escolher as horas do dia e os dias em que a luz é aproximadamente de côr «média diária» diante da janela que fornece a luz.

Conclui-se também da análise que efectuei, que não é pos-

sível exprimir a côr a partir das medições com o pigmentómetro como indicam os fabricantes do aparelho.

*

* *

Com o pigmentómetro, efectuei determinações em rapazes e raparigas de várias escolas, desde os 7 aos 22 anos. O número de observações para cada idade (as observações foram agrupadas por anos) é relativamente pequeno nalguns casos, mas, duma maneira geral, os estatísticos calculados são representativos.

Estas determinações tiveram por fim a obtenção de curvas de *escurecimento com a idade* que permitam corrigir os dados das genealogias quando se estuda a hereditariedade da pigmentação no homem. O ajustamento das curvas foi efectuado por processos semelhantes aos da análise da variância de FISHER.

Como são as primeiras determinações de ordem quantitativa sobre este assunto, procurei sempre extrair dos dados certas informações que eles podiam conter. Assim, verifiquei se era possível supor um escurecimento com a idade para cada sexo e para a côr da pele, cabelo e olhos. No caso da pigmentação da pele e da zona interna da iris, as análises da variância demonstraram que as variações entre as médias das várias idades estão dentro do limite dos erros. Entre os 8 e os 22 anos para os ♂, e entre os 7 e os 19 para as ♀, não se pode verificar qualquer escurecimento médio por meio do pigmentómetro.

É muito provável que nas primeiras idades após o nascimento a pele escureça e se torne menos rosada, mas depois dos 7 anos não se demonstram alterações que se tornem sensíveis pela análise de populações.

O escurecimento da côr dos olhos foi analisado apenas a partir das determinações respeitantes à zona interna da iris. Foi necessário escolher esta região em virtude da grande heterogeneidade da côr da maioria das iris. A zona interna tem, quasi constantemente, uma côr uniforme, e é sempre tanto ou mais escura que o resto da iris (excluindo as pequenas manchas existentes em certos indivíduos, comparáveis aos «nevos» do resto do corpo). Certamente, há alterações na coloração da

iris, umas leves, outras mais ou menos profundas, dependentes de causas várias. Pode acontecer que a côr, já existente na zona interna nas primeiras idades, se estenda a uma maior porção da iris, mas depois dos 7 anos a zona interna parece não sofrer alterações de côr que se possam revelar com o pigmentómetro estudando populações. É provável, também aqui, que a côr da zona interna logo nos primeiros tempos de vida extrauterina seja diferente da que resulta aos 7 anos, ou mesmo antes desta idade. O que se pode afirmar com os métodos usados é que depois dos 7 anos não se demonstra, com as únicas determinações quantitativas levadas a efeito, um escurecimento médio evidente.

Depois dos 7 anos parece que não é preciso, portanto, introduzir correcções nas genealogias para evitar o efeito do escurecimento com a idade, no que respeita à pigmentação da pele e da zona interna da côr dos olhos.

A côr da pele pode sofrer alterações profundas, sobretudo na sua componente vermelha-alaranjada, causada pela hemoglobina do sangue. Estas alterações não foram consideradas no presente trabalho e devem, por outro lado, ter pequena acção sobre o «preto» da pele, desde que as determinações se efectuem em indivíduos «normais» e da maneira indicada.

Outras alterações da côr da pele, mais ou menos profundas, podem provir de uma maior ou menor exposição aos agentes externos, principalmente ao calor e à luz solar. Por isso, as determinações têm que se efectuar naquela parte do ano em que é licito supor que os efeitos do verão anterior já desapareceram, isto é, depois de Fevereiro e antes do fim da primavera. O calor e a luz fazem aumentar muito a componente amarela da côr da pele e, duma maneira geral, toda a pigmentação incluindo o respectivo «preto». O efeito dos agentes externos merece, só por si, ser objecto de estudos demorados, em que se relacione o efeito com a constituição dos pigmentos, etc.

É possível, e mesmo provável, que o resultado da acção dos agentes externos sobre a pele do ante-braço esquerdo seja um pouco diferente nos conjuntos dos dois sexos que constituem as amostras analisadas, o que explicaria a diferença sexual encontrada para o caso da côr média da pele (para as gradações dos três filtros). A diferença entre as médias respeitantes ao «preto» é da ordem de 1 décima da escala do pigmentómetro, diferença

na realidade pequena, mas estatisticamente assegurada. A grandeza da diferença não justifica que se procurem explicações quanto a uma diferente distribuição de genes para a pigmentação nos dois sexos.

O «preto» da zona interna da íris apresenta também uma diferença da ordem de 1 décima da escala do pigmentómetro, mas que não é estatisticamente assegurada. Não se podem, portanto, fazer quaisquer conjecturas a seu respeito.

O escurecimento com a idade da cor do cabelo forneceu resultados mais interessantes para uma ulterior análise. Em ambos os sexos se revelou heterogeneidade entre as médias das várias idades. Procurei, depois, ajustar uma recta de regressão. Procedendo pela análise da variância, verifiquei que havia evidência de não linearidade: uma equação diferente da recta de regressão devia ajustar-se melhor aos dados. Por semelhança com outros fenómenos de crescimento, calculei uma equação logarítmica simples. A atestação da significância desta equação provou que ela era significativa. Para o caso dos ♂ parece que houve uma evidente melhoria no ajustamento da curva logarítmica quando comparado com o da recta; no caso das ♀ a melhoria foi pequena.

Os resultados demonstram que há um escurecimento médio da cor do cabelo, que se torna evidente pelas análises a que procedi; demonstram, mais, que as curvas de escurecimento médio são semelhantes às do crescimento em geral.

Seria interessante procurar ajustar curvas como a logística, ou outras usadas para o crescimento de populações e de indivíduos, porém, a falta de dados na parte inicial e média da curva, faz com que tal problema seja reservado, possivelmente, para futuros trabalhos.

É evidente que pelos processos usados apenas se obteve a «curva do escurecimento médio», ou seja, a que diz respeito ao escurecimento de populações e não ao de indivíduos. Poder-se-ia obter uma curva semelhante desde que o escurecimento da maioria dos indivíduos fôsse rápido e se desse com muito mais frequência nas primeiras idades, até aos 5 ou 6 anos. Neste caso, a curva média não teria a mesma forma das curvas individuais. Porém, observa-se directamente que o escurecimento da cor do cabelo é gradual e deve seguir aproximadamente uma curva como a que foi achada, de forma que a

«curva de escurecimento médio» pode ser usada para se calcularem correcções às genealogias.

Na resenha da literatura referi-me a um processo de correcção de dados para as genealogias, usado por ROUTH. Tal método exagera muito as diferenças individuais, pois supõe um crescimento «em linha recta» que pode não existir de facto, e que em regra não existe. O processo de substituição da curva de escurecimento individual pela de escurecimento médio parece-me o mais correcto (exceptuando o método directo, das curvas individuais, quási impraticável para o caso do homem, pelo menos para aplicação imediata).

Os dados obtidos para o «preto» da côr da pele, cabelo e zona interna dos olhos, serviram para calcular coeficientes de correlação para cada idade. Procurei, depois, calcular para cada combinação um único coeficiente que abrangesse todo o colectivo. Para se proceder legitimamente ao cálculo de um coeficiente geral é preciso demonstrar que não há heterogeneidade na covariância. Procedi, pois, a análises da covariância.

Há heterogeneidade em todos os casos estudados, excepto na covariância entre a pele e o cabelo para o caso dos ♂, de forma que só neste último caso é que se pode calcular um coeficiente geral. Por outro lado, como o número de indivíduos observados em cada idade é relativamente pequeno, estes resultados não se podem tomar como definitivos. Em todo o caso, verifica-se que nas amostras estudadas há pequena pureza na compleição, tal como é apreciada pelo método usado. Pode supor-se, ainda, que a compleição sofre alterações com a idade, visto que se revelou heterogeneidade em quási tôdas as análises.

Nas duas análises da covariância em que entra a côr da pele nota-se um comportamento particular: num caso (pele e cabelo) resultou heterogeneidade, enquanto que na mesma covariância do outro sexo a conclusão foi a oposta; no outro caso (pele e olhos) a heterogeneidade resulta, não da soma de produtos «entre os grupos», mas sim da proveniente de «dentro dos grupos» — esta última tomada como erro. Também se demonstrou uma maior pigmentação média na pele dos ♂, comparada com a das ♀: a diferença é da ordem de 0,1 da escala, para o «preto», mas é significativa. Quando da discussão das possíveis causas desta diferença, notei que ela poderia provir da maior expo-

sição dos braços (onde se faz a determinação da coloração) aos agentes externos, no sexo masculino. É provável que a mesma causa possa ser responsável pelos resultados, diferentes conforme o sexo, para as covariâncias em que entra a cor da pele.

*

* *

Muitas das questões respeitantes à pigmentação só poderão ser satisfatoriamente resolvidas quando se conhecerem os factos basilares sobre a composição das melaninas.

Passando em revista a literatura, reconhece-se que se dispõe quasi só de conjecturas do que poderá ser a composição química das melaninas, tanto no homem como em outros Mamíferos. Havia algumas investigações sobre os pigmentos da pele do homem, feitas principalmente por médicos; destaca-se entre os resultados a «reação da dopa», de BLOCH.

Possuem-se, também, alguns dados sobre a fisiologia da chamada «pigmentação pelo frio» nos coelhos russos, e algumas vagas conjecturas sobre as espécies de melaninas nos pêlos dos coelhos.

No presente trabalho, o problema da composição e variedades das melaninas nos pêlos de coelhos e nos cabelos da cabeça de homens foi abordado com novos métodos e sob diferentes pontos de vista.

O conhecimento do estado actual das investigações sobre as proteínas é dum grande interesse para o estudo das melaninas. Com efeito, as melaninas são pigmentos em relação com as proteínas do organismo, isto é, são elas próprias corpos albuminóides. Devem, por outro lado, ter um certo parentesco com a queratina, dadas as suas relações na mesma célula e no mesmo pêlo ou cabelo. Atendendo a estas razões, procurei passar uma revista à literatura mais recente sobre proteínas.

O processo que serviu para o estudo das melaninas consiste essencialmente na dissolução de pêlos ou cabelos em soda cáustica de determinada concentração e na cromatografia das soluções, em colunas de alumina e de carbonato de cálcio. A técnica cromatográfica foi utilizada para a separação e caracterização das variedades de melaninas. Em certos casos foram ainda

empregados outros processos de obtenção das melaninas, como por exemplo por precipitação.

É sabido que a separação em coluna pode ser duma grande eficiência: por vezes separam-se estereoisómeros. Mas nada se pode dizer «a priori» sobre o comportamento de um grupo de compostos ainda por estudar.

Verifiquei que nas raças de coelho estudadas havia dois aspectos diferentes de cromatografias — as raças repartiam-se em dois grupos: um o grupo «escuro», outro o «claro». Haverá, portanto, *uma melanina escura e uma melanina clara*. A melanina clara encontra-se nas raças em que existe o factor *bb* (no estado recessivo — notação de NACHTSHEIM), a melanina escura encontra-se nas restantes raças (com *BB* ou *Bb*, isto é, *B* no estado dominante).

Entre as duas cromatografias há distinções suficientemente nítidas para que realmente se possa afirmar que existe mais de uma espécie de melaninas nos pêlos dos coelhos.

Nos estudos de proteínas é necessário ter sempre em vista o usual fenómeno da «desnaturação», que pode depender de causas aparentemente insignificantes. Possivelmente dá-se uma desnaturação, mais ou menos intensa e extensa, nas melaninas dissolvidas, devido ao ataque da soda cáustica. Até que ponto e de que natureza são os efeitos da soda cáustica — não se sabe bem. No entanto, verifiquei a êste respeito que a fervura e acção do ar (oxidações) faz aumentar uma das fracções das cromatografias, de forma que é natural supôr-se que esta fracção representa melanina pelo menos desnaturada, e muito provavelmente alterada profundamente (produtos de decomposição).

Outro resultado interessante é o da separação das melaninas e queratina pelo método cromatográfico. Tudo leva a concluir que a separação é completa.

As cromatografias efectuadas até ao presente não permitem supor que em cada raça de coelhos haja mais de uma melanina diferente (nos pêlos do dorso, pelo menos). As colunas em que foram cromatografadas misturas de duas raças com melaninas diferentes são a favor desta conclusão. No entanto, reconhece-se que são precisas mais análises para uma completa resposta a esta questão.

Para o homem, as cromatografias são mais difíceis de interpretar: emquanto que para os cabelos pretos o aspecto é apa-

rentemente o mesmo que o da melanina escura dos coelhos, para o cabelo alaranjado (também chamado vermelho e ruivo) e para o cabelo loiro, a coluna fica diferente. O cabelo alaranjado parece que tem uma melanina própria, pois o aspecto é diferente de qualquer das outras cromatografias. O cabelo loiro parece, na realidade, ter uma melanina clara e uma porção menor de melanina escura.

Para o esclarecimento destas questões, no caso do homem, são precisas muitas mais observações em diferentes colorações de cabelos de várias populações. Pelas análises cromatográficas, parece que existem três melaninas diferentes: escura, ruiva e clara; mas é evidente que estes resultados são preliminares, ainda.

O *escurecimento com a idade* da cor do cabelo no homem pode ser interpretado com base nestes resultados. O escurecimento deve provir do aumento da quantidade de pigmento ou de pigmentos existentes. Em casos em que há mais do que um dos pigmentos (parece que no homem podem coexistir dois pigmentos diferentes) a princípio poderá dominar um, depois o outro. A diferente afinidade para a oxidase poderia explicar a mudança de cor. Esta hipótese explica os factos, mas reconhece-se facilmente que os seus fundamentos não estão ainda sólidamente estabelecidos.

Nas melaninas de coelho obtidas cromatograficamente efectuei algumas observações respeitantes à solubilidade e propriedades ópticas. O produto obtido é muito mais facilmente solúvel que os cabelos ou as melaninas de precipitação. É provável que a queratina exerça influência sobre a solubilidade das melaninas.

Verifiquei que os preparados obtidos, e que devem representar as melaninas puras, apresentavam dupla refração «própria», o que é bastante interessante para o estudo da estrutura.

Muitas questões ficam em aberto, outras foram apenas levemente enunciadas.

A técnica que usei parece-me susceptível de, combinada com outras, levar a bom termo algumas investigações sobre a composição das melaninas. Em futuros trabalhos serão abordados vários dos problemas que estão para resolver.

Uma das conseqüências que podem ter estes estudos é a de aclararem a hereditariedade e fenogénese da pigmentação. Para

a hereditariedade da pigmentação no homem utilizam-se quasi só as analogias com outros Mamíferos, principalmente com o coelho (E. FISCHER); é muito provável que por largo tempo se continue ainda a tratar da hereditariedade da maioria dos caracteres «normais» no homem por analogia e por outros processos indirectos. Um esclarecimento da composição das melaninas seria do máximo interesse. As cromatografias demonstram que não há paralelismo completo entre as variedades de melaninas no coelho e no homem: neste último há outras melaninas. É conveniente, portanto, não querer forçar analogias que são, segundo parece, muito vagas.

Compreende-se também, que o esclarecimento da composição das melaninas ou, pelo menos, de alguns dos factores basilares que lhes dizem respeito, tem muita importância para a explicação da fenogénese da pigmentação.

É necessário que se realizem muitos mais estudos sobre estas questões. Particularmente, convém alargar tais estudos com novos métodos, de forma a englobarem também a pigmentação da pele e dos olhos, no caso do homem, além de tantos outros problemas sobre a pigmentação melânica noutros Mamíferos.

BIBLIOGRAFIA

Da 1.^a e 2.^a partes

- BAUR, E., FISCHER, E. e LENZ, F. — 1936 — Menschliche Erblehre. — München.
- BELLAMY, R. — 1930 — Measuring hair color. — Amer. J. Phys. Anthrop. **14**, 75.
- BLUNN, C. T. e GREGORY, P. W. — 1937 — Linkage studies with Curly₂ in the rat. — J. Hered. **28**, 43.
- BOAS, F. e MICHELSON, N. — 1933 — The graying of hair. — Amer. J. Phys. Anthrop. **17**, 213.
- BOWMANN, H. A. — 1930 — The color-top method of estimating skin pigmentation. — Amer. J. Phys. Anthrop. **14**, 59.
- BUNAK, V. V. — Opit' videleniia fenotipov okrasski voloss po dannim spektro-fotometricheskogo issledovaniia. — Moskva.
- CASTLE, W. C. — 1930. — The genetics of rabbits — Cambridge, Mass.
- CLEMENTS, F. — 1931 — Relation between skin colour and degree of tanning. — Amer. J. Phys. Anthrop. **15**, 493.
- CONITZER, H. — 1931 — Die Rothaarigkeit. — Zeitsch. Morph. Anthrop. **29**, 85.
- CREW, F. A. E. e SMITH, A. D. B. — 1930 — The genetics of the horse. — Bibliogr. Genet. **6**, 123.
- CUÉNOT, L. — 1928 — Génétique des souris. — Bibliogr. Genet. **4**, 179.
- DANEEL, R. — 1934 — Physiologie der Kälteschwärzung beim Russenkaninchen. — Biol. Zentralbl. **54**, 287.
- — 1936 — Physiologie der Kälteschwärzung beim Russenkaninchen. — Biol. Zentralbl. **56**, 572.
- DAVENPORT, C. — 1925 — Notes on physical anthropology of Australian aborigines and black-white crosses. — Amer. J. Phys. Anthrop. **8**, 73.
- ENGELSMEIER, W. — 1934 — Nachweis der alternativen Modificabilität der Haarfärbung beim Russenkaninchen. — Zeitsch. Ind. Abst. Vererb. Lehre. **48**, 361.
- FISHER, R. A. — 1932 — Statistical methods for research workers. — London.
- — 1935 — The design of experiment. — London.
- GARDNER, B. B. e MAC ADAM, D. L. — 1934 — Colorimetric analysis of hair colour. — Amer. J. Phys. Anthrop. **19**, 187.
- GODIN, P. — 1935 — Recherches anthropométriques sur la croissance des diverses parties du corps. — Paris.
- GOULDEN, C. H. — 1937 — Methods of statistical analysis. — Mineapolis.
- GOUVEIA, A. J. A. de — 1935 — Contributions to the study of the rôle of the double bond on the absorption spectra of organic compounds. — Rev. Fac. Ciênc. Univ. Coimbra. **5**, 309.

- GRAY, J. — 1908 — A new instrument for determining the colour of the hair, eyes and skin. — *Man*, **8**, 27.
- HARDY, A. C. — 1935 — A new recording spectrophotometer. — *J. Opt. Soc. Amer.* **25**, 305.
- HARRIS, R. G. — 1926 — The San-Blas Indians. — *Amer. J. Phys. Anthropol.* **9**, 17.
- HERSKOVITS, M. J. — 1926 — Age changes of pigmentation of American Negroes. — *Amer. J. Phys. Anthropol.* **9**, 321.
- Hesch, M. — 1931 — Über Pigmentierungsverhältnisse der menschlichen Iris, nach Alter und Geschlecht... — *Verh. deut. Gesellsch. Phys. Anthropol.* **5**, 9.
- JUDD, D. B. — 1933 — The 1931 I. C. I. standard observer and coordinate system for colorimetry. — *J. Opt. Soc. Amer.* **23**, 359.
- KARVÉ, I. — 1931 — Beobachtungen über die Augenfarbe an Chitpavan-Brahmanen. — *Zeitsch. Morph. Anthropol.* **29**, 498.
- LENZ, F. — 1925 — Muss das Nachdunkeln der Haare als Dominanzwechsel aufgefasst werden? — *Arch. Rassen Gesellsch. Biol.* **16**.
- LOTKA, A. J. — 1932 — The structure of a growing population. — *Problems of Population* — *Proc. Int. U. Sc. Inv. Pop. Probl.* — London, 1932.
- NACHTSHEIM, H. — 1929 — Die Entstehung der Kaninchenrassen im Lichte ihrer Genetik. — *Zeitsch. Tierzucht.* **14**.
- — 1933 — Die genetischen Beziehungen zwischen Körperfarbe und Augenfarbe beim Kaninchen. — *Biol. Zentralbl.* **53**, 99.
- NEDRIGAĬLOVA, O. V. — 1926 — Fizicheskie priznaki rabotnists g. Xarkova. — *Materiali po Antropologii Ukraini*.
- NEUMANN, P. — 1937 — Haarpigmentuntersuchungen an verschieden Farbrassen des Kaninchens — *Biol. Zentralbl.* **57**, 522.
- PEARL, R. — 1924 — *Studies in human biology.* — Baltimore.
- — 1931 — *The biology of population growth.* — New York.
- PEARSON, K. — 1904 — On the correlation between hair colour and eye colour in Man. — *Biometr.* **3**, 459.
- PETERS, H. B. — 1936 — Über Augenfarbentafeln und ihre diagnostischen Wert. — *Zeitsch. Rassenk.* **3**, 87.
- ROBERTS, E. — 1937 — Color inheritance in short-horn cattle. — *J. Hered.* **28**, 167.
- SCHIEBE, G. — 1933 — Spektroskopische und radiometrische Analyse. — *Physikalische Methoden der analytischen Chemie.* — Leipzig.
- SCHULTZ, W. — 1932 — Haarmelaninerzeugung bei Albinos... — *Arch. Dermat.* **165**.
- SCHMIDTMANN, M. — 1928 — Mikroskopische Nachweis der Zellpigmente und Lipoide in tierischen und menschlichen Geweben. — *PETERFI Methodik der Wiss. Biol.*
- SNEDECOR, G. W. — 1934 — Calculation and interpretation of analysis of variance and covariance. — Ames, Iowa.
- STANUS, H. S. — 1913 — Anomalies of pigmentation among natives of Nyasaland. — *Biometr.* **9**, 333.
- SUMNER, F. B. — 1932 — Genetic, distributional and evolutionary studies of the subspecies of deer mice *Peromyscus*. — *Bibliogr. Genet.* **9**, 1.
- TAMAGNINI, E. — 1938 a) — A heterogeneidade da variação — Análise da variância. — *Rev. Fac. Ciên. Univ. Coimbra*, **6**.

- TAMAGNINI, E — 1938 *b*) A pigmentação dos Portugueses — *Contr. Antrop. Port.* — *Rev. Fac. Ciên. Univ. Coimbra*, **6**.
- TIPETT, L. H. C. — 1931 — *The Methods of statistics.* — London.
- TOCHER, J. F. — 1908 — Pigmentation survey of school children in Scotland. — *Biometr.* **6**, 129.
- TODD, T. W., BLACKWOOD, B. e BEECHER, H. — 1928 — Skin pigmentation. The color top method of recording. — *Amer. J. Phys. Anthrop.* **11**, 127.
- TODD, T. W. e GORDER, L. v. — 1921 — The quantitative determination of the skin colour of the American Negro. — *Amer. J. Phys. Anthrop.* **4**, 239.
- UCHIDA, G. — 1904 — On the correlation between age and colour of hair and eyes in man. — *Biometr.* **3**, 462.
- VIRCHOW, R. — 1886 — *Gesamtbericht über die von der deutschen Anthropologisch Gesellschaft... über die Farbe der Haut, Haare und Augen... in Schulkindern...* — *Arch. Anthrop.* **16**, 1275.
- WEISSENBERG, S. — 1911 — *Das Wachstum des Menschen.* — Stuttgart.
- WENINGER, J. — 1934 — Irisstruktur und Vererbung. — *Zeitsch. Morph. Anthrop.* **34**, 469.
- YULE, G. U. e KENDALL, M. G. — 1937 — *An introduction to the theory of statistics.* — London.

Da 3.ª parte

- AMBRONN, H. e FREY, A. — 1926 — *Das Polarisationsmikroskop* — Leipzig.
- ASTBURY, W. T. — 1934 — Roentgenoskopie von Proteinfasern. — *Koll. Zeitsch.* **69**, 340.
- ASTBURY, W. T. — 1936 — X-ray studies of protein structure. — *Nature*. **137**, 803.
- — 1937 — Relation between « fibrous » and « globular » proteins. — *Nature*. **140**, 968.
- — 1938 — Röntgenstrahlen Abenteuer unter den Eiweisskörpern. — *Koll. Zeitsch.* **83**, 130.
- ASTBURY, W. T. e DICKINSON, S. — 1935 — α - β intramolecular transformation of myosin. — *Nature*. **135**, 95.
- — — 1936 — X-rays study of myosin — *Nature*. **137**, 909.
- ASTBURY W. T. e LOMAX, R. — 1934 — X-ray photographs of crystalline pepsin. — *Nature*. **133**, 795.
- BLOCH, B. — 1927 — *Das Pigment. Handbuch der Haut-und Geschlechtskrankheiten.*
- COUCEIRO DA COSTA, R. G. — 1936 — Noções gerais sobre colóides-Tyxotropia do pentóxido de vanádio. — *Rev. Fac. Ciên. Univ. Coimbra*, **5**, 1.
- DANEEL, R. e SCHAUMANN, K. — 1938 — Zur Physiologie der Kälteschwärzung beim Russenkaninchen III. — *Biol. Zentralbl.* **58**, 242.
- DANIEL, J. — 1938 — Studies of multiple allelomorphous series in the house-mouse III-A spektrophotometric study of house-mouse melanin. — *J. Genet.* **36**, 139.

- DRY, F. W. — 1936 — The genetics of the Wensbydale breed of sheep. II—Colour, fertility and intensity of selection. — *J. Genet.* **33**, 123.
- DUNN, L. C. — 1936 — Studies of allelomorphic series in the house-mouse. II—Description of agouti and albino series... — *J. Genet.* **36**, 443.
- DUNN, L. C. e EINSELE, W. — 1938 — Studies of multiple allelomorphic series in the house-mouse. IV—Quantitative comparison of melanin from members of the albino series. — *J. Genet.* **36**.
- EINSELE, W. — 1937 — Studies of multiple allelomorphic series in the house-mouse. II—Method for the quantitative estimation of melanin. — *J. Genet.* **34**, 1.
- ENGELSMER, W. — 1934 — Nachweis der alternativen Modificabilität der Haarfärbung beim Russenkaninchen. — *Zeitsch. Ind. Abst. Vererb.* **48**, 361.
- FEIGL, F. — 1937 — Qualitative analysis by spot tests. — New York.
- FLORENCE, G., ENSELME, J. e POZZI, M. — 1935 — Spektrographische Untersuchungen über die Reaktion der Tyrosinase und Tyrosin und verschieden verwandten biologische Verbindungen. — *Bull. Soc. Chim. Biol. Florence-de-Chem. Zentrabl.* 1935.
- GARDNER, B. B. e MAC ADAM, D. L. — 1934 — Colorimetric analysis of hair colour. — *Amer. J. Phys. Anthropol.* **19**, 187.
- GIBROUD, A. e CHAMPETIER, C. — 1936 — Recherches sur le roentgenogramme de la kératine. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **18**, 656.
- HADJIDIMITROFF, P. — 1933 — Die Pigmentverteilung im Kaninchenhaar. — *Zeitsch. Zücht.* **27**, 243.
- HALLE, F. — 1937 — Über den Aufbau der Eiweissmoleküle. — *Koll. Zeitsch.* **81**, 334.
- HAUROWITZ, F. — 1936 — Ionenstruktur, Löslichkeit und Flockung der Proteine—Ein Beitrag zur Sistematik der Proteine.—*Koll. Zeitsch.* **74**, 208.
- JANKOVSKY, W. — 1932 a) — Zur Frage der Haarpigmente. — *Zeitsch. Rassenphys.* **5**, 1.
- — 1932 b) — Beitrag zur Frage der Haarpigmente. — *Zeitsch. Rassenphys.* **5**, 111.
- — 1935 — Zusammenhänge zwischen Farbe und Pigmente des Haares. — *Verh. deuts. Gesellsch. Phys. Anthropol.* **7**, 2.
- KATZ, J. R. e ROOY, A. DE — 1933 — Über des Röntgenspektrum des Fibrins. — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.* **52**, 742.
- KLÖTZER, F. e SCAPE, E. — 1935 — Röntgendiagramme von menschlichen Haut. — *Fortsch. Geb. Roentgen.* **52**, 576.
- KUHN, W. — 1934 — Über die Gestalt fadenförmiger Moleküle in Lösungen. — *Koll. Zeitsch.* **68**, 12.
- LEDERER, E. — 1935 — L'adsorption chromatographique et ses applications. — *Chim. Industrie.* **33**, 1072.
- LINELL, L. e RAPER, H. S. — 1935 — The chromogen of melanurie. — *Bioch. J.* **29**, 76.
- LOTTERMOSER, A. e EDELMANN, K. — 1938 — Über die Adsorption von aliphatischen Aminen und von Eiweisspaltprodukten an Aluminiumoxyd aus wässriger Lösung. — *Koll. Zeitsch.* **83**, 262.
- PAULI, W. e VALKÓ, E. — 1933 — Kolloidchemie der Eiweisskörper. — Dresden.

- PRZILECKY, St. J. von — 1937 — Versuch einer Klassifikation der biologischen Kolloide, I — Koll. Zeitsch. **79**, 129.
- — 1938 — Versuch einer Klassifikation der biologischen Kolloide. II — Koll. Zeitsch. **83**, 51.
- SALLER, K. — 1930 — Leitfaden der Anthropologie. — Berlin.
- SALLER, K. e MAROSKE, F. — 1933 — Chemische und genetische Untersuchungen am menschlichen Pigmente, speziell demjenigen des Haares. — Zeitsch. Konst.-Lehr. **17**, 279.
- SCHMIDTMANN, M. — 1938 — Mikroskopischer Nachweis der Zellpigmente und Lipide in tierischen und menschlichen Geweben. — PÉTERFI Methodik der wissenschaftlichen Biologie.
- SCHULTZ, W. — 1932 — Haarmelaninerzeugung bei Albinos innerhalb 5 Minuten ... — Arch. Dermat. **165**.
- SPEAKMAN, J. B. — 1933 — Reactivity of the sulphur linkage in wool. — Nature. **132**, 930.
- SVEDBERG, T. — 1931 — The determination of the molecular weight of insulin. — Nature. **77**, 438.
- — 1934 — Die Molekulargewichtsanalyse im Zentrifugalfeld. — Kol. Zeitsch. **67**, 2.
- — 1937 — The ultracentrifuge and the study of high-molecular compounds — Nature. **139**, 1051.
- VOGE, C. B. — 1935 — Pigmentation and the « Dopareaction ». — Manuf. Chemist. Pharm. Cosmet. Trade J.-1935.
- WILKERSON, V. A. — 1934 — The chemistry of the human epidermis. — J. Biol. Chem. **107**, 377.
- WHIRNCH, D. — 1936 — a) The pattern of proteins. — Nature. **137**, 411.
- — 1936 — b) Structure of proteins and physiological active compounds. — Nature. **138**, 651.
- — 1937 — The cyclol theory and the globular proteins. — Nature. **139**, 972.
- WRINCH, D. e LLOYD, D. J. — 1936 — The hydrogen bond and the structure of proteins. — Nature. **138**, 758.
- ZECHMEISTER, L. e CHOLNOKY, L. v. — 1937 — Die Chromatographische Adsorptionsmethode. — Wien.
- ZOCHER, H. — 1921 — Über Sole mit nichtkugeligen Teilchen. — Zeitsch. phys. Chem. **98**, 293.

CORRECÇÕES

Entre outras correcções, que qualquer leitor facilmente efectuará, notem-se as seguintes:

pág.	linha	onde se lê	deve-se ler
237	5	e Prof. sr.	e sr. Prof.
255	última	a que é maior)	a que é menor)
256	"	023	0.23
266	22	graduação e que dá	graduação é que dá
"	35	020	0.20
272	38	iridiana	das íris
273	28 e 29	disigual distribuição do pigmento ou pigmentos em classes, distintas	desigual distribuição do pigmento (ou pigmentos) em classes distintas,
277	12 e 13	em classes, distintas	em classes distintas,
279	última	STANUS 1313	STANUS 1913
283	3	a que (1);	a que (1)
285	21	grupos à igual	grupos é igual
288	27	$\bar{x} = 2.58$	$\bar{x} = 2.581$
"	28	$\bar{x} = 3.06$	$\bar{x} = 3.063$
289	9	Desvio-padrão	Desvio-padrão
"	28	T_i^2/n'_i	T_i^2/n'_i
"	cimo da 5. ^a coluna da Tab. XIII	—	$\sum_1^{n'_i} x^2$
293	30	<i>pigmentados do</i>	<i>pigmentados na pele do</i>
297	1	$\bar{x} = 18.81$	$\bar{x} = 18.811$
"	"	$\bar{x} = 16.92$	$\bar{x} = 16.923$
303	25	F 0/0 F 0/0	F 5 0/0 F 1 0/0
310	7	$= \sum n'_p (y_p - \bar{y})^2$	$= \sum n'_p (\bar{y}_p - \bar{y})^2$
311	22	= 39.387	= 39.397
316	na fig. 7	10 (em ordenadas)	12
318	20	que este último é	que aquele é
321	penúltima	= 429.92 —	= 429.98 —
322	25	$\Sigma (x^2)$	$\Sigma (x_1)^2$

pág.	linha	onde se lê	devo-se ler
332	37	somas de quadrados de produtos	somas de produtos
336	23	$r = 02044$	$r = 0.2044$
"	28	$(1 - 2044)^2$	$(1 - 0.2044)^2$
363	33	HIEMANN	NIMANN
372	11	a determinação no	a determinação da sua absorção no
374	36 e 38	seja no menor número possível	seja o menor possível
380	18	parte na supe-	na parte supe-
396	16	zona interna da côr dos olhos	zona interna das íris

Estudos sôbre o gerador assíncrono auto-excitado

(CONTINUAÇÃO DA PUBLICAÇÃO FEITA NO VOL. VI — N.º 4)

D) Aplicações da teoria exposta

Como aplicação da teoria que fica exposta vamos proceder ao cálculo dos diagramas teóricos, para certos regimes de carga, relativos à máquina assíncrona que utilizámos para os estudos experimentais. Desta maneira ser-nos-á possível submeter os nossos resultados teóricos a uma verificação experimental.

A máquina assíncrona utilizada nas nossas experiências é tetrapolar, tem estator trifásico e rotor com anéis também trifásico.

Dados inscritos na placa da máquina e relativos ao seu funcionamento como motor:

V.....	380 λ		n...	1390
A.....	5,4		f...	50
KW...	2,2			

Dados relativos aos enrolamentos:

	Estator		Rotor
Número de ranhuras	36	48
Fios em série por ranhura ...	48	9
Fios em paralelo	—	—

Quadrado da relação entre o número de espiras de uma fase do rotor e o número de espiras de uma fase do estator (relação 58):

$$A = \frac{1}{16}$$

Ligações:

Estator: em estréla com o ponto neutro ligado a um terminal.

Rotor: em estréla com seis anéis constituindo três déles o ponto neutro.

Dados determinados experimentalmente:

Resistências.Resistência de uma fase do estator $r_s = 2,60 \Omega$.Resistência de uma fase do rotor $r_R = 0,19 \Omega$.

Coeficientes de indução.

O coeficiente de indução trifásica do estator está representado na fig. 2 em função do valor eficaz da força electromotriz induzida numa fase do estator. O coeficiente de indução trifásica do rotor, obtem-se a partir do coeficiente relativo ao estator aplicando a relação (56).

Factor de ligação magnética (relação 59):

Para dois estados de saturação magnética obtivemos:

Saturação fraca correspondente à tensão por fase $E_1 = 180 \text{ V}$ (rotor aberto)..... $K = \sqrt{0,95}$.

Saturação forte correspondente à tensão por fase $E_1 = 260 \text{ V}$ (rotor aberto)..... $K = \sqrt{0,87}$.

Para o cálculo dos diagramas teóricos supomos que K se mantem constante e igual a $K = \sqrt{0,91}$ que é um valor intermédio aos acima indicados.

Na teoria exposta considerámos os condensadores ligados em estréla enquanto que na parte experimental do nosso estudo trabalhámos com uma ligação em triângulo (fig. 5). Designando por C_Δ a capacidade ligada em cada um dos lados do triângulo e por C a capacidade ligada em cada um dos lados da estréla, vê-se fácilmente que as duas ligações são equivalentes quando tiver logar a relação

$$C = 3 C_\Delta. \quad (93)$$

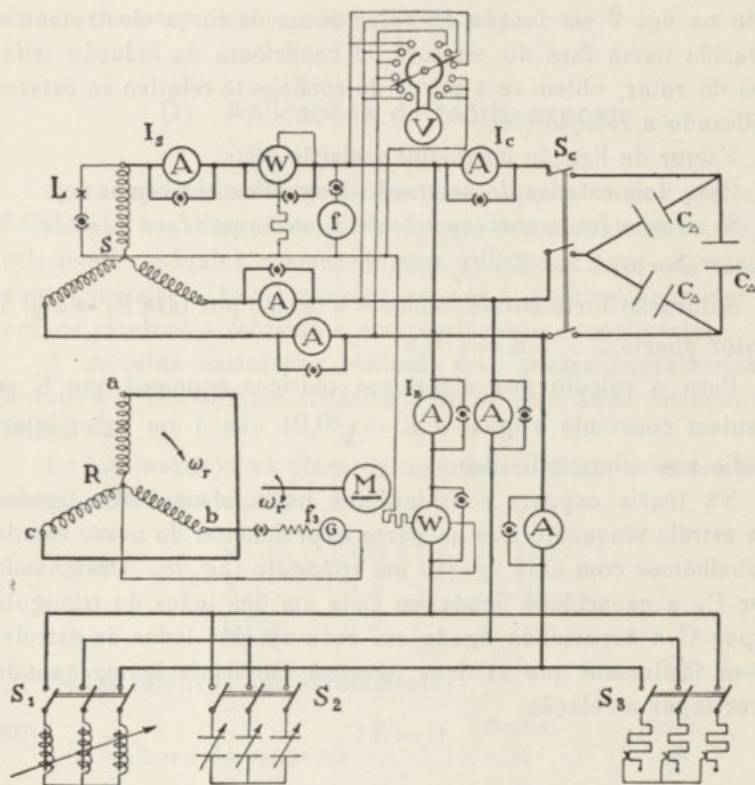
Tôdas as relações obtidas pela teoria exposta considerando a ligação dos condensadores em estréla têm portanto também validade para a ligação dos mesmos em triângulo desde que seja respeitada a relação (93).

Podemos agora passar pròpriamente às applicações da teoria.

1.^a Applicação. Vamos em primeiro logar estudar teòricamente o caso típico do regímen de carga não indutiva ($\cos \varphi_B = 1$) conservando constante a freqüência das oscilações do estator e a capacidade C_Δ dos condensadores e variando sòmente a resistência R_B do circuito de carga.

Dados: $\cos \varphi_B = 1$, $C_\Delta = 18 \mu \text{ F}$, $f = 50 \text{ Hz}$.

Começamos por determinar o diagrama de impedância que segundo a teoria exposta é uma circunferência passando pela origem e cujo diâmetro e coordenadas do centro são dadas pelas relações (87).



Esquema experimental

FIG. 5

No caso presente obtém-se :

$$C = 3 C_{\Delta} = 54 \mu F$$

$$D = \frac{1}{\omega c} = 58,6 \Omega$$

$$M_x = 0 \quad , \quad M_y = +j \frac{1}{2} \frac{1}{\omega c} = +j 29,3 \Omega.$$

Esta circunferência de impedência está traçada na fig. 6 e designada pela notação I. Só metade desta circunferência (a que está traçada a cheio) é que corresponde a valores positivos de R_B e portanto fisicamente possíveis. A cada ponto deste diagrama corresponde um vector de impedência $Z_A = -a + jb$ ficando assim determinados os valores das suas componentes a

Diagrama de impedência e diagrama de corrente do gerador em carga não indutiva ($\cos \varphi_A = 1$)

I Diagrama teórico de impedência

II " " " " corrente (gerador sem perdas no ferro)

III " " experimental de corrente

IV " " teórico de impedência a tensão constante

○ Valores experimentais (impedência)

● " " " " (corrente)

$f = \text{const.} = 50 \text{ Hz}$

$C_0 = \mu = 10 \mu\text{F}$

$R_B = \text{variável}$

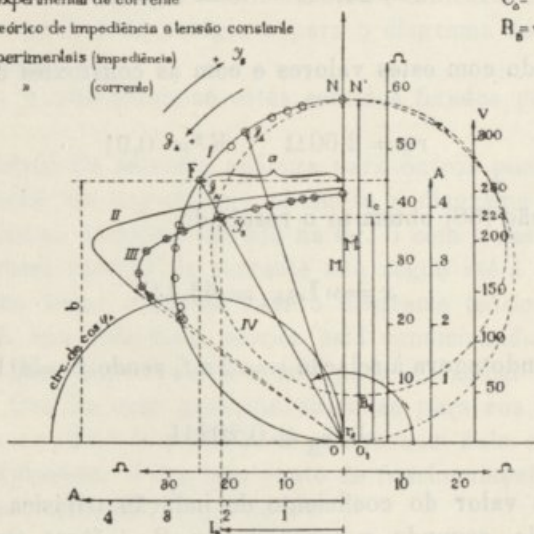


Fig. 6

e b , a diferença de fase φ_A e o factor de potência do gerador assíncrono $\cos \varphi_A = \frac{a}{Z_A}$ em que $Z_A = |Z_A| = \sqrt{a^2 + b^2}$. Os vectores Z_{A0} definidos pela equação (75) obtêm-se igualmente do mesmo diagrama, com a simples mudança da origem de O para O_1 (fig. 6).

O valor correspondente de R_B é determinado no caso presente ($X_B = 0$) pela expressão:

$$R_B = + \sqrt{\frac{b}{\omega c} \left(\frac{1}{1 - b \omega c} \right)} \quad (94)$$

que se deduz facilmente dos circuitos ligados ao estator da máquina assíncrona.

O diagrama teórico de corrente obtém-se ponto por ponto a partir do diagrama de impedância e com auxílio das relações (68) e (76) e da curva devida à saturação magnética e representada na fig. 2. Para exemplificar vamos aqui reproduzir os resultados teóricos correspondentes ao ponto F do diagrama de impedância (fig. 6).

Para este ponto obtém-se a partir do diagrama os seguintes valores

$$a = 24,6 \Omega \quad b = 45,0 \Omega.$$

Entrando com estes valores e com as constantes da máquina

$$r_s = 2,60 \Omega \quad K^2 = 0,91$$

na expressão (68) obtém-se o resultado

$$x = \omega L_{ss\Delta} = 63,4 \Omega.$$

Atendendo agora à relação $\omega = 2\pi f$, sendo $f = 50 \text{ Hz}$, resulta

$$L_{ss\Delta} = 0,202 \text{ H}.$$

A este valor do coeficiente de indução trifásica do estator corresponde, segundo a curva da fig. 2, a força electromotriz

$$E_{I0} = 247,5 \text{ V}.$$

Para os módulos dos vectores impedâncias Z_A e Z_{A0} (equação 75) obtém-se, a partir do diagrama de impedância, os seguintes valores

$$Z_A = 51 \Omega \quad Z_{A0} = 52,6 \Omega.$$

Igualmente se obtém o factor de potência $\cos \varphi_A = 0,486$. Das expressões (76) e (77) resultam para a corrente e tensão por fase respectivamente os valores

$$I_s = 4,7 \text{ A} \quad E_I = 240 \text{ V}.$$

Da expressão (94) resulta para a resistência do circuito de carga o valor

$$R_B = 106 \Omega.$$

Fixando o vector \mathcal{E}_1 na direcção do eixo real e no seu sentido negativo obtem-se a partir da equação (73) para o vector \mathcal{I}_S a mesma direcção e o mesmo sentido do vector impedância \mathcal{Z}_A desde que se tomem sinais contrários para o sentido de avanço de cada um destes dois vectores.

Para o diagrama de impedância tomou-se (fig. 6) como sentido de avanço o sentido habitual, isto é, contrário ao do movimento das agulhas do relógio e para o diagrama de corrente o sentido oposto.

Na fig. 6 encontram-se estes sentidos fixados por meio de setas.

Procedendo de maneira análoga para outros pontos do diagrama teórico de impedância obtem-se o diagrama teórico de corrente que se encontra traçado na fig. 6 com a designação II. Este diagrama teórico de corrente não segue até à origem das coordenadas como acontece com o diagrama teórico de impedância. A sua existência teórica está condicionada pela relação (71) que exige valores reais para o radical da expressão (68). Ora no caso presente obtem-se para $\cos \varphi_A = 0,815$ os valores $a = 27,8 \Omega$ e $b = 20 \Omega$ que tornam nulo o radical da referida expressão. Para este ponto de funcionamento obtem-se a partir da expressão (68) o valor:

$$x = \omega L_{SS_A} = \frac{b(2 - K^2)}{2(1 - K^2)} = 121 \Omega$$

e da expressão (94) o valor:

$$R_B = 42,1 \Omega.$$

Procedendo como para o ponto anterior obtém-se os resultados:

$$\begin{array}{lll} L_{SS_A} = 0,385 \text{ H}, & Z_A = 34,5 \Omega, & Z_{A0} = 36,8 \Omega, \\ E_{10} = 155 \text{ V}, & I_S = 4,25 \text{ A}, & E_1 = 145 \text{ V}. \end{array}$$

Tornando R_B inferior a este valor achado ($R_B = 42,1 \Omega$) obtêm-se valores para a e b que tornam imaginário o radical da expressão (68) perdendo assim o gerador a sua excitação. Este ponto é portanto o último teòricamente possível do diagrama de corrente e encontra-se marcado com uma seta que designa o fim do mesmo diagrama (curva II fig. 6).

Traçado assim o diagrama de corrente interessa ver quais as grandezas que se podem obter a partir do mesmo. A cada ponto do diagrama corresponde um vector \mathfrak{I}_S ficando assim determinado o seu módulo I_S e a diferença de fase φ_A entre \mathfrak{I}_S e a tensão por fase correspondente \mathfrak{E}_1 . Os valores das correntes:

$$\begin{aligned} I_B &= I_S \cos \varphi_A \dots \text{corrente no circuito de carga,} \\ I_C &= I_S \sin \varphi_A \dots \text{corrente no circuito dos condensadores,} \end{aligned}$$

obtêm-se directamente a partir do mesmo diagrama como módulos das componentes do vector \mathfrak{I}_S respectivamente sôbre o eixo real e eixo imaginário.

Atendendo à expressão

$$E_1 = I_C \frac{1}{\omega c}$$

conclui-se que, basta traçar a devida escala sôbre o eixo imaginário (fig. 6) para tornar possível a leitura directa da tensão por fase correspondente a cada ponto do diagrama de corrente.

Atendendo à mesma expressão conclui-se, igualmente, que a curva do diagrama de corrente coincide com a característica exterior do gerador:

$$E_1 = f(I_B).$$

A potência P_1 fornecida pelo gerador e relativa a uma fase é dada pela expressão bem conhecida:

$$P_1 = E_1 \cdot I_S \cdot \cos \varphi_A$$

obtendo-se portanto facilmente o seu valor a partir do diagrama.

Para estudar a estabilidade de funcionamento do gerador

num ponto de carga correspondente a um certo valor de R_B basta traçar as características:

$$E_1 = f(I_C) \dots \text{ para } R_B = \text{const.}, \omega = \text{const.}, C = \text{variável}$$

$$E_C = f(I_C) \dots \text{ para } \omega = \text{const.}, C = \text{const.}$$

em que esta última representa a tensão E_C nos condensadores em função da respectiva corrente e é portanto uma recta.

Se no ponto de funcionamento, isto é, no ponto de encontro da recta da capacidade com a característica $E_1 = f(I_C)$, a tangente a esta última tem um coeficiente angular inferior ao coeficiente angular da recta da capacidade, então o funcionamento é estável. Caso contrário, trata-se de pontos instáveis de funcionamento. O raciocínio que justifica esta afirmação é análogo ao exposto num trabalho nosso já citado. Aplicando-o ao caso presente verifica-se que os pontos de funcionamento correspondentes ao diagrama de corrente (fig. 6) são todos estáveis.

Para completar o cálculo das grandezas que caracterizam o funcionamento do gerador, no ponto F considerado (fig. 6), resta-nos, a partir das expressões (64), (62) e (24) calcular o escorregamento S , a corrente I_R do rotor e a pulsação ω_r .

Entrando com os valores já achados na expressão (64) obtem-se:

$$S = -3,24\%.$$

Introduzindo este valor na expressão (62) resulta:

$$H^2 = \left(\frac{I_R}{I_S} \right)^2 = 4,5$$

e atendendo ao valor já determinado $I_S = 4,7$ A obtem-se

$$I_R = 9,96 \text{ A.}$$

Com o auxílio da relação (24) obtem-se finalmente a pulsação

$$\omega_r = 1,032 \cdot \omega.$$

Os resultados dos cálculos numéricos relativos ao estudo teórico do regimen de carga não indutiva que acabamos de esclarecer encontram-se na tabela I.

TABELA I

Valores teóricos relativos à carga não indutiva

$$\cos \varphi_B = 1, \quad f = 50 \text{ Hz}, \quad C_A = 18 \mu\text{F}.$$

Nr.	Z_A	$\cos \varphi_A$	a	b	$(1/R_B) 10^3$	$L_{SS\Delta}$	I_S	E_I	$S\%$	H^2
	Ω	—	Ω	Ω	Ω^{-1}	H	A	V	—	—
1	58,6	0	0	58,6	0	0,187	4,32	254	0,40	0,08
2	57,1	0,228	12,2	55,9	3,9	0,191	4,36	250	1,40	1,03
3	55,8	0,310	16,7	53,3	5,3	0,192	4,44	247	1,88	1,80
4	51,0	0,486	24,6	45,0	9,4	0,202	4,70	240	3,24	4,50
5	46,8	0,610	28,2	37,1	13,0	0,218	4,96	232	4,52	7,40
6	44,0	0,660	29,5	33,2	14,8	0,226	5,14	226	5,03	8,40
7	40,2	0,720	29,2	28,4	17,6	0,242	5,38	216	6,00	10,0
8	36,4	0,772	28,7	23,8	20,6	0,269	5,54	210	6,81	11,3
9	35,2	0,797	28,4	21,8	22,1	0,297	5,42	194	7,50	12,2
10	34,7	0,803	28,2	21,4	22,6	0,310	5,26	188	7,66	12,4
11	34,5	0,815	27,8	20,0	23,7	0,385	4,25	145	8,33	13,4

Na fig. 6 encontram-se marcados os valores experimentais relativos ao diagrama de impediência e ao diagrama de corrente.

Quanto ao diagrama de impediência há um bom acôrdo entre a teoria e a experiência. Os pontos experimentais do diagrama de corrente não coincidem, porém, com o diagrama teórico e formam uma nova curva — o diagrama experimental de corrente — designado pela notação III na fig. 6.

Considerando o diagrama de corrente como característica exterior do gerador $E_I = f(I_B)$ e comparando o diagrama teórico II com o diagrama experimental III nota-se que neste último a tensão do gerador decresce mais rapidamente do que a teoria prevê.

Este facto tem a sua explicação: Na teoria que estabelecemos para o diagrama de corrente não tomámos em linha de conta as perdas no ferro. Ora a influência destas no funcionamento do gerador equivale, em parte, a um aumento da sua

resistência r_s , o que implica, atendendo à relação (68), um aumento de $L_{SS\Delta}$ e portanto uma diminuição de E_{10} que acarreta por sua vez (equações (76) e (77)) uma diminuição de I_s e E_1 .

Além disso considerámos o factor de ligação magnética K como constante quando, na verdade, êle varia com o próprio estado de saturação.

A curva II da fig. 6 representa portanto, exprimindo-nos com maior rigor, o diagrama de corrente do gerador assíncrono auto-excitado em regimen ideal de funcionamento sem perdas no ferro e com um factor de ligação magnética constante.

Na fig. 7 encontram-se traçadas a cheio as características teóricas do gerador que foram calculadas pelo método já indicado. Estas curvas representam as diferentes grandezas, que caracterizam o funcionamento do gerador, em função do inverso da resistência R_B do circuito de carga.

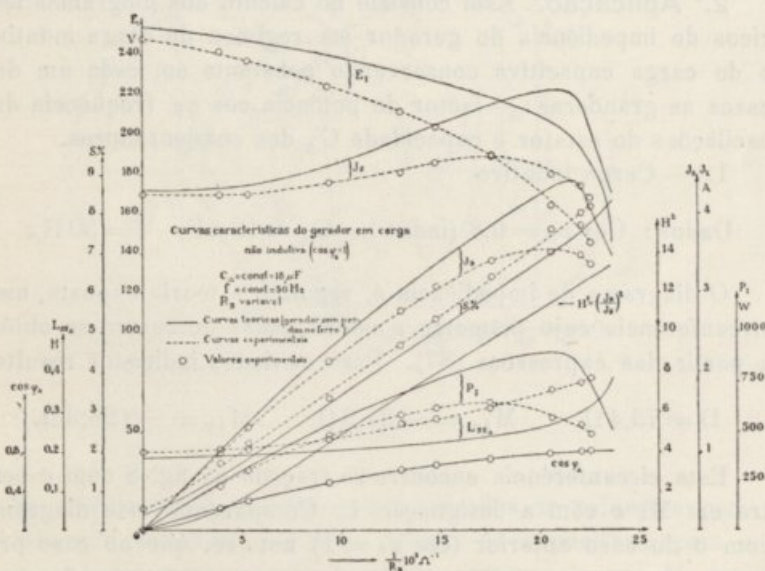


FIG. 7

As curvas do coeficiente de indução trifásica $L_{SS\Delta}$ e do escorregamento S , mostram que estas duas grandezas aumentam sempre à medida que a resistência do circuito de carga

diminui. O mesmo acontece à relação $H^2 = \left(\frac{I_R}{I_S}\right)^2$ e ao factor de potência $\cos \varphi_A$ que, para cada vector impedância, se lê directamente a partir do diagrama (fig. 6), com auxílio da respectiva circunferência.

A tensão por fase E_1 decresce sempre à medida que a resistência do circuito de carga diminui. As outras grandezas I_S , I_B e P_1 crescem à medida que R_B diminui até passarem por um máximo para depois decrescerem até ao ponto $R_B = 42,1 \Omega$.

Para uma resistência do circuito de carga inferior a este valor o gerador perde a sua excitação. Esta forma das curvas é condicionada pela forma do diagrama de corrente.

Na mesma fig. 7 encontram-se traçadas a ponteados as curvas experimentais que apresentam a mesma forma das teóricas correspondentes mas se afastam delas pelas razões já expostas a respeito do diagrama de corrente.

2.^a Aplicação. Esta consiste no cálculo dos diagramas teóricos de impedância do gerador em regimen de carga indutiva e de carga capacitiva conservando constante em cada um dos casos as grandezas: — factor de potência $\cos \varphi_B$, frequência das oscilações do estator e capacidade C_Δ dos condensadores.

1.^o — Carga indutiva.

Dados: $\cos \varphi_B = 0,8$ (indut.), $C_\Delta = 18 \mu F$, $f = 50 \text{ Hz}$.

O diagrama de impedância é, segundo a teoria exposta, uma circunferência cujo diâmetro e coordenadas do centro se obtêm a partir das expressões (87). Para os dados indicados resulta:

$$D = 73,4 \Omega, \quad M_{1x} = -21,9 \Omega, \quad M_{1y} = +j29,3 \Omega.$$

Esta circunferência encontra-se traçada na fig. 8 com o centro em M_1 e com a designação I. Comparando este diagrama com o do caso anterior ($\cos \varphi_B = 1$) nota-se, que no caso presente, para a mesma diferença de fase φ_A o gerador tem de obter uma impedância maior do que no caso de carga não indutiva.

Isto implica um aumento mais rápido do seu coeficiente σ_p indução L_{SS_Δ} , determinando assim uma diminuição, também mais rápida, do estado de saturação do seu circuito magnético. Nestas condições o gerador perde a sua excitação para um valor do

factor de potência $\cos \varphi_A$ inferior ao correspondente do caso anterior.

A sua corrente e tensão por fase decrescem mais rapidamente e o maior valor da potência fornecida ao circuito de carga é inferior ao correspondente do caso anterior. Deve-se notar (fig. 8) que a partir do ponto N a impedância começa por aumentar até atingir um máximo — o diâmetro da circunferência —, para depois voltar a diminuir. No caso anterior, curva II a impedância diminui sempre.

Diagramas de impedância e de corrente do gerador

$$C_0 = \text{const} = 15,7 \text{ F} \quad f = \text{const} = 50 \text{ Hz} \quad \cos \varphi_B = \text{const.} \quad |\beta_1| = Z_0 \text{ variavel}$$

Diagramas teóricos de impedância I, II, III I, I' - Carga indutiva $\cos \varphi_B = 0,8$ O Valores experimentais (impedância)
 # experimentais de corrente I, II, III II, II' - " não indutiva $\cos \varphi_B = 1$ @ " " " (corrente)
 III, III' - " carga capacitiva $\cos \varphi_B = 0,8$

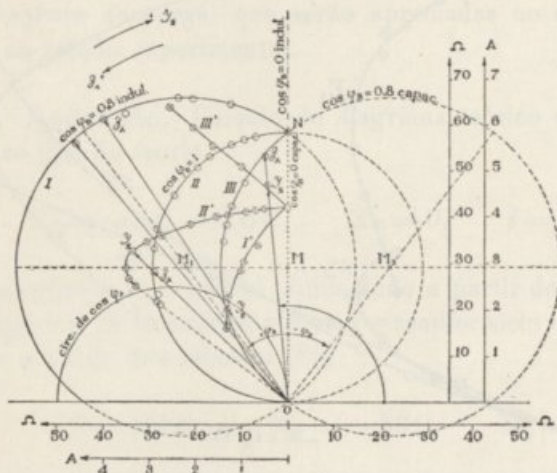


FIG. 8

Na mesma fig. 8 encontram-se marcados os valores experimentais que mostram um bom acôrdo da experiência com a teoria. O diagrama experimental de corrente, curva I', está também de acôrdo com as conclusões que acabámos de tirar do diagrama teórico de impedância.

2.º Carga capacitiva: $\cos \varphi_B = 0,8$ (capac.).

Os dados restantes são iguais aos do caso anterior. O diagrama de impedância é também neste caso uma circunferência

cujo diâmetro e coordenadas do centro se obtêm igualmente a partir das relações (87). Os resultados dos cálculos são:

$$D = 73,4 \Omega, \quad M_{2x} = +21,9 \Omega, \quad M_{2y} = +j29,3 \Omega.$$

Características do gerador

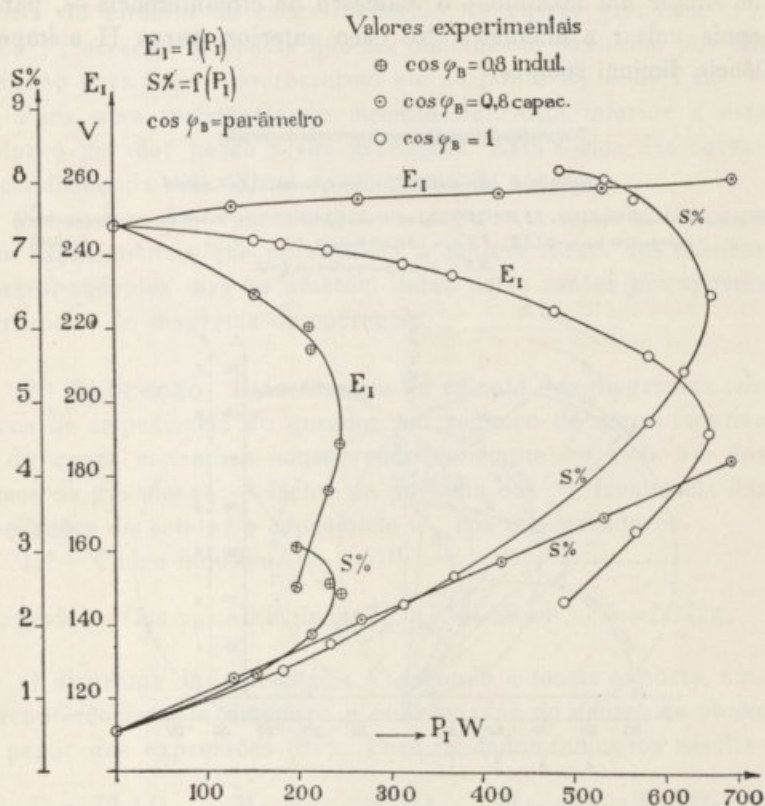


FIG. 9

Esta circunferência encontra-se também traçada na fig. 8 com o centro em M_2 e com a designação III. Da fig. 8 conclui-se que, neste caso, a impedância do gerador tem de diminuir mais rapidamente do que no caso da carga não indutiva. A saturação do seu circuito magnético terá portanto de aumentar, o que no caso presente condiciona uma corrente e tensão por fase crescentes com a corrente do circuito de carga.

A característica exterior do gerador será portanto neste caso crescente e o gerador não perderá a sua excitação fornecendo, ao contrário, cada vez mais energia ao circuito de carga. Esta energia será no caso presente, sómente limitada pelo aquecimento do gerador.

Os valores experimentais (fig. 8) mostram um bom acôrdo da experiência com o diagrama teórico. O diagrama experimental de corrente, curva III', está de acôrdo com as conclusões tiradas da teoria.

Na fig. 8 encontra-se também representado o diagrama teórico de impediência, curva II, relativo ao caso já estudado da carga não indutiva e bem assim o diagrama experimental de corrente (curva II'). Isto permite uma comparação rápida do comportamento do gerador nos três regimes de carga. Na fig. 9 encontram-se traçadas curvas experimentais, relativas a estes três regimes de carga, que serão apreciadas no capítulo destinado ao estudo experimental.

3.^a Aplicação. Cálculo do diagrama teórico de impediência no caso (b_1) da teoria.

$$R_B = \text{const.} = 106 \Omega, \quad X_B = 0, \quad f = 50 \text{ Hz.}$$

Capacidade C_A variável, diminuindo a partir de $C_A = 18 \mu \text{ F}$. O diagrama de impediência é uma circunferência cujos dados se obtêm a partir das relações (89):

$$D = 106 \Omega, \quad M_x = -53 \Omega, \quad M_y = 0.$$

Esta circunferência encontra-se traçada na fig. 10, curva III, e representa também, segundo a teoria exposta, o diagrama de impediência para o regimen de carga:

$R_B = \text{const.} = 106 \Omega$, $X_B = 0$, $C_A = 18 \mu \text{ F}$ e frequência variável diminuindo a partir de $f = 50 \text{ Hz}$.

Os valores experimentais correspondentes a estes dois regimes mostram um bom acôrdo com o diagrama teórico.

Na mesma fig. 10 encontram-se traçados os diagramas de corrente:

Curva I... capacidade variável,

Curva II... frequência variável.

A-pesar-do diagrama de impediência ser o mesmo, os diagramas experimentais de corrente diferem. As curvas I e II partem do mesmo ponto ($C_{\Delta} = 18 \mu F$, $f = 50 \text{ Hz}$) mas afastam-se logo decrescendo a corrente por fase segundo a curva II mais rapidamente do que segundo a curva I.

A explicação teórica é a seguinte: Sendo o vector impediência o mesmo, a expressão (68) fornece o mesmo valor para

Diagramas de impediência e de corrente do gerador em carga não indutiva ($\cos \varphi_2 = 1$)

$$R_B = \text{const} = 106 \Omega$$

- o I) Diagrama experimental de corrente para $f = \text{const} = 50 \text{ Hz}$ $C_{\Delta} = \text{var}$ ivel
- o II) " " " " " " $C_{\Delta} = \text{const} = 18 \mu F$ $f = \text{var}$
- o III) " teórico de impediência comum aos dois casos
- o o Valores experimentais

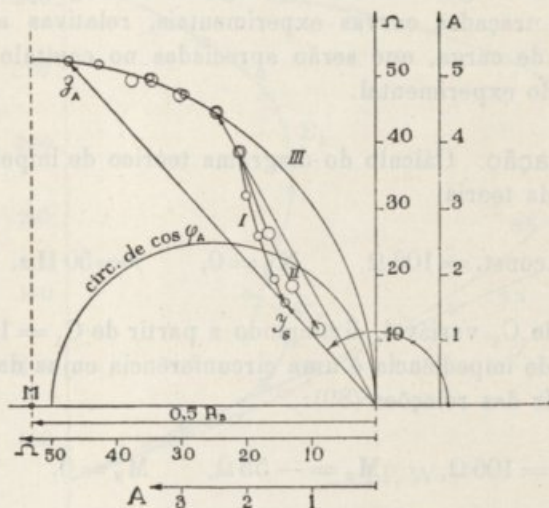


FIG. 10

$X = \omega L_{SS_{\Delta}}$ nos casos I e II. Se a pulsação ω é a mesma nos dois regimes o ponto de funcionamento é o mesmo. É o que acontece no ponto de confluência dos dois diagramas I e II para $f = 50 \text{ Hz}$. Se, porém, no regimen da curva II a pulsação é, para a mesma impediência, inferior à do regimen da curva I, conclui-se, da equação (68), que o valor do coeficiente de indução trifásica $L_{SS_{\Delta}}$ tem de ser no caso da curva II superior ao do caso da curva I. Isto implica porém uma diminuição do estado de saturação do circuito magnético, o que acarreta

para a mesma impedância uma corrente menor no caso II do que no caso I.

Pelas mesmas razões se vê que a perda de excitação do gerador corresponde no caso II a uma impedância menor do que no caso I.

4.^a Aplicação. Cálculo do diagrama teórico de impedância no caso (d) da teoria:

$$X_B = 0, \quad f = \text{const} = 50 \text{ Hz.}$$

Estado de saturação do circuito magnético constante e correspondente a

$$E_{10} = 254 \text{ V} \quad L_{SS_\Delta} = 0,187 \text{ H.}$$

Este estado de saturação corresponde ao ponto de funcionamento em vazio do gerador para $C_\Delta = 18 \mu\text{F}$, $f = 50 \text{ Hz}$, isto é, ao ponto N do diagrama de impedância da Fig. 6.

O diagrama de impedância é, neste regimen de funcionamento, segundo a teoria exposta, uma circunferência cujos dados são expressos pelas relações (92).

Os valores necessários para efectuar os cálculos expressos pelas relações (92) são fornecidos por medidas correspondentes ao referido estado de saturação magnética:

$$\begin{aligned} L_{SS_\Delta} &= 0,187 \text{ H.} & L_{RR_\Delta} &= 0,0117 \text{ H,} \\ L_{RS_\Delta} &= L_{SR_\Delta} = 0,0435 \text{ H,} & r_S &= 2,6 \Omega. \end{aligned}$$

Introduzindo nas expressões (92) estes valores, obtém-se:

$$\begin{aligned} \omega L_{SS_\Delta} &= 58,8 \Omega, & D &= 50,8 \Omega, \\ M'_x &= +2,6 \Omega, & M'_y &= +j33,4 \Omega. \end{aligned}$$

Esta circunferência de impedância encontra-se traçada a ponteadado na fig. 6 (diagrama IV) com centro em M' . Tem de comum com o diagrama de impedância I da mesma figura, na região de funcionamento como gerador, só um ponto. É o ponto N de funcionamento em vazio do gerador auto-excitado. O ponto N' do diagrama IV corresponde ao ponto de sincro-

nismo ($\omega_r = \omega$) que não é possível obter em regimen auto-excitado devido a êste exigir, mesmo em vazio, um escorregamento negativo.

II) Estudo experimental do gerador assíncrono auto-excitado em regimen estacionário de carga

O estudo experimental que realizámos teve por fim tornar possível uma verificação da teoria exposta por meio de medidas eléctricas.

Os dados relativos à máquina assíncrona que utilizámos nas nossas experiências, foram já indicados no último parágrafo do capítulo anterior.

Como máquina motriz empregámos uma máquina de corrente contínua, excitada em derivação, de maneira a permitir uma variação fácil do número de voltas.

O esquema experimental de ligações encontra-se representado na fig. 5. Os condensadores estão ligados em triângulo e o circuito de carga permite, por meio de interruptores S_1 , S_2 e S_3 , obter regimes de carga indutiva, capacitiva e ohmica.

Tanto as resistências, como os coeficientes de indução e capacidades do circuito de carga são variáveis sem interrupção de serviço, permitindo assim conservar constante durante as experiências o factor de potência do mesmo circuito.

Estando desligados os interruptores do circuito de carga e ligado o interruptor dos condensadores o gerador excita-se desde que o número de voltas do rotor ultrapasse um certo limite.

O fenómeno de excitação é provocado pelo magnetismo remanescente. A simetria dos sistemas trifásicos de correntes e tensões do estator é verificada respectivamente por três amperímetros e por um voltímetro que, por meio dum comutador, permite ler com rapidez as três tensões por fase e as três tensões entre fases.

O freqüencímetro f indica-nos a freqüência das oscilações dos circuitos do estator que juntamente com a medida do número de voltas do rotor nos permite identificar o carácter negativo do escorregamento do gerador. Querendo passar ao

regímen de carga basta ligar o respectivo circuito. Os três amperímetros intercalados nas fases do circuito de carga servem para verificar em cada momento a simetria das três correntes de carga.

O wattímetro ligado ao circuito de carga serve para medir e verificar a constância do factor de potência do mesmo circuito.

O wattímetro ligado ao circuito do estator indica a potência por fase fornecida pelo gerador ao circuito receptor.

Nos circuitos do estator verificamos, portanto, a simetria dos condensadores e a simetria dos circuitos de carga. O esquema de ligações permite-nos medir nestes circuitos as grandezas fundamentais para o estabelecimento dos diagramas experimentais de impedância e de corrente. Estas grandezas são :

- E_1 tensão por fase,
- I_s corrente por fase,
- P_1 potência por fase,
- f frequência das oscilações dos circuitos do estator,
- $\cos \varphi_B$. factor de potência do circuito de carga.

Uma simples medida em vazio permite determinar o valor da capacidade C_Δ .

Desprezando as perdas nos condensadores obtemos as expressões:

$$\left\{ \begin{array}{l} I_C = E_1 \omega C \\ I_B = I_s \frac{\cos \varphi_A}{\cos \varphi_B} \end{array} \right. \left\{ \begin{array}{l} \cos \varphi_A = \frac{a}{Z_A} \\ \cos \varphi_B = \frac{R_B}{Z_B} \end{array} \right.$$

em que $\cos \varphi_A$ e $\cos \varphi_B$ representam respectivamente o factor de potência da máquina assíncrona e do circuito de carga.

Com o fim de excluir dos circuitos do rotor as resistências de contacto das escovas, procedeu-se ao curto-circuito do rotor antes destas. O escorregamento do gerador foi medido, conforme o seu valor, por três métodos diferentes :

1.º método; adoptado para valores do escorregamento até 2%.

Até este valor obteve-se o escorregamento por medida directa da frequência da força electromotriz da terceira harmónica que existe entre o ponto neutro do rotor e o ponto do curto-circuito das três fases. Esta frequência mediu-se directamente com

o auxilio dum galvanómetro, indicado no esquema de ligações com a letra G, e dum cronómetro.

2.º método; adoptado para valores do escorregamento desde 2% até 4%.

Neste domínio empregou-se o método estroboscópico para o que serviu a lâmpada de eflúvio indicada no esquema com a letra L.

3.º método; adoptado para valores do escorregamento superiores a 4%.

Para estes valores obteve-se o escorregamento a partir da frequência das oscilações dos circuitos do estator e da velocidade angular de rotação do rotor. Esta última obteve-se por meio de um conta voltas de precisão.

Indicamos a seguir o tipo e precisão dos instrumentos de medida utilizados na determinação dos valores das grandezas fundamentais já enumeradas.

Medição de tensões:

Voltímetro electromagnético. Limites do erro de indicação do instrumento ligado em série a uma resistência exterior: $\pm 0,4\%$ do valor final da escala.

Nas medições efectuadas são estes limites de ± 1 V.

Este instrumento foi aplicado na medição da tensão por fase E_1 .

Medição da corrente:

Amperímetro electromagnético.

Limites do erro de indicação do instrumento: $\pm 0,4\%$ do valor final da escala. Nas medidas efectuadas são estes limites de $\pm 0,02$ A.

Este instrumento foi aplicado na medida da corrente por fase do estator I_s .

Medição de potência:

Wattímetro electrodinâmico sem ferro.

Limites do erro de indicação do instrumento estando o seu circuito de tensão ligado em série a uma resistência exterior: $\pm 0,4\%$ do valor final da escala.

Nas medições efectuadas são estes limites de ± 5 W.

Este instrumento foi aplicado na medição da potência P_1 fornecida por uma fase do gerador. Qualquer destes três instrumentos têm protecção astática contra campos magnéticos estranhos e é utilizável no domínio das frequências em que os empregámos.

Os instrumentos utilizados no circuito de carga são do mesmo tipo dos correspondentes do circuito do estator não possuindo porém protecção astática. Os limites do erro de indicação são para o amperímetro de $\pm 1\%$ e para o wattímetro de $\pm 0,4\%$ do valor final da escala, o que corresponde nas escalas utilizadas a limites cujos valores para o amperímetro são cerca do dobro, e para o wattímetro iguais aos indicados nos casos anteriores.

Medição de frequência:

Frequencímetro de linguetas, sistema de construção Frahm.

Limites do erro de indicação do instrumento: $\pm 1,0\%$ do valor indicado.

Medição do número de voltas por minuto:

Contador de voltas com o erro de indicação constante de ± 2 voltas por minuto.

Medição de tempo:

Conta-segundos permitindo leituras até à décima de segundo.

Passamos agora à enumeração dos regimes de carga do gerador que foram objecto do nosso estudo experimental.

Em cada um dos casos medimos as grandezas já indicadas cujos valores se encontram nas respectivas tabelas. Os gráficos correspondentes encontram-se nas figuras a seguir indicadas de maneira a permitir uma comparação com os resultados teóricos já estudados.

a) Regimes de carga conservando constantes as grandezas: $f = \text{const.} = 50 \text{ Hz}$, $C_A = \text{const.} = 18 \mu \text{ F}$, $\cos \varphi_B = \text{parâmetro}$.

Faz-se aumentar o factor de potência $\cos \varphi_A$ do gerador, partindo do ponto em vazio até que o gerador perca a sua excitação.

α_1) Carga ohmica ou praticamente não indutiva $\cos \varphi_B = 1$.

Neste regimen conserva-se ligado no circuito de carga unicamente o interruptor S_3 e fazem-se variar, por meio de cursor, as resistências respectivas. Os valores relativos a esta experiência encontram-se marcados nas figs. 6, 7 e 8 e constam da tabela II. Na fig. 6 constituem estes valores os diagramas de impedância e de corrente do gerador. O último ponto experimental marcado no diagrama de corrente, (fig. 6), representa o fim do mesmo diagrama. Diminuindo mais a resistência do circuito de carga o gerador perde a excitação.

Na fig. 7 encontram-se traçadas a ponteado as curvas características do gerador correspondentes aos valores experimentais

que se encontram igualmente marcados na respectiva figura. Estas curvas já foram apreciadas, em comparação com as curvas teóricas, no último parágrafo do capítulo anterior. Na fig. 8 encontram-se igualmente traçados os diagramas experimentais de impedância e de corrente do gerador, neste regímen de

TABELA II

Valores experimentais relativos à carga não indutiva

$$\cos \varphi_B = 1, \quad f = 50 \text{ Hz}, \quad C_A = 18 \mu \text{ F}.$$

Nr.	E_I	I_{IS}	P_I	n	$S \%$	Z_A	$\cos \varphi_A$
	V	A	W	$\frac{\text{voltas}}{\text{minuto}}$	—	Ω	—
1	248,0	4,24	13,6	1508	0,55	58,6	0,012
2	241,6	4,23	233,6	1526	1,73	57,1	0,228
3	237,0	4,25	313,6	1536	2,24	55,8	0,310
4	224,0	4,40	480,0	1550	3,32	51,0	0,486
5	211,6	4,52	584,0	1570	4,67	46,8	0,610
6	204,0	4,64	624,0	1580	5,32	44,0	0,660
7	190,0	4,71	648,0	1596	6,40	40,2	0,720
8	164,0	4,50	570,0	1616	7,73	36,4	0,772
9	154,0	4,36	536,0	1620	8,00	35,2	0,797
10	145,0	4,16	488,0	1622	8,13	34,7	0,803

carga ohmica, curvas II e II', com o fim de os poder comparar com os diagramas relativos à carga indutiva e capacitiva que passamos a enumerar.

a₂) Carga indutiva: $\cos \varphi_B = 0,8$.

Neste regímen conservam-se ligados no circuito de carga os interruptores S_1 e S_3 e procede-se a uma variação das resistências e coeficientes de indução de maneira a aumentar o factor de potência do gerador conservando porém constante o factor de potência do circuito de carga. Esta variação fez-se até o gerador perder a sua excitação, representando assim o último valor medido o fim dos diagramas experimentais.

Os valores relativos a esta experiência constam da tabela III e encontram-se marcados na fig. 8, constituindo os diagramas experimentais de impedância e de corrente que são respectivamente designados pelas notações I e I'.

De acôrdo com as conclusões teóricas, o gerador perde a sua excitação, neste regimen de carga indutiva, muito mais rapidamente do que no caso anterior.

a₃) Carga capacitiva: $\cos \varphi_B = 0,8$.

Neste regimen conservam-se ligados os interruptores S₂ e S₃ e fazem-se variar as resistências e capacidades do circuito

TABELA III

Valores experimentais relativos à carga indutiva

$\cos \varphi_B = 0,8$, $f = 50 \text{ Hz}$, $C_A = 18 \mu \text{ F}$.

Nr.	E _I	I _{IS}	P _I	n	S %	Z _A	Cos φ_A
	V	A	W			—	
1	248,0	4,24	13,6	1508	0,55	58,6	0,012
2	229,0	3,46	154,0	1512	1,33	66,0	0,194
3	220,0	3,19	213,0	1520	1,85	69,0	0,304
4	214,0	3,03	215,0	1518	1,78	70,5	0,331
5	188,4	2,62	246,0	1526	2,40	72,0	0,496
6	176,0	2,40	233,0	1530	2,52	73,2	0,550
7	150,0	2,06	198,0	1536	3,03	72,6	0,640

de carga de maneira a aumentar o factor de potência do gerador e conservar constante o do circuito de carga. A experiência mostra, de acôrdo com a teoria exposta, que o gerador não perde a sua excitação e a potência fornecida ao circuito de carga é simplesmente limitada pelo aquecimento do gerador e pela potência da máquina motriz.

Os valores relativos a esta experiência constam da tabela IV e encontram-se igualmente marcados na fig. 8, curvas III e III', constituindo respectivamente os diagramas de impedância e de corrente do gerador em regimen de carga capacitiva.

Na fig. 9 encontram-se traçadas as curvas experimentais, relativas aos três regimes de carga já indicados, da tensão por fase E₁ e do escorregamento S % em função da potência por fase P₁ fornecida pelo gerador.

Verifica-se no caso da carga ohmica e da carga indutiva uma

que da detensão à medida que se efectua o regímen de carga. Esta queda de tensão é muito maior no caso da carga indutiva do que no caso da carga ohmica. A potência fornecida pelo gerador aumenta até atingir um máximo para depois diminuir até o gerador perder a sua excitação. No caso da carga capacitiva a tensão do gerador aumenta sempre com a potência fornecida pelo mesmo. O escorregamento aumenta sempre nos três casos à medida que se descreve o regímen de carga.

TABELA IV

Valores experimentais relativos à carga capacitiva

$$\cos \varphi_B = 0,8, \quad f = 50 \text{ Hz}, \quad C_A = 18 \mu \text{ F}.$$

Nr.	E_I	I_{IS}	P_I	n	$S \%$	Z_A	$\cos \varphi_A$
	V	A	W	$\frac{\text{voltas}}{\text{min.}}$	—	Ω	—
1	248,0	4,24	13,6	1508	0,55	58,6	0,012
2	253,0	4,75	128,0	1512	1,26	53,2	0,106
3	255,0	5,22	266,0	1520	2,02	48,6	0,200
4	256,0	5,80	420,0	1542	2,80	44,2	0,282
5	258,6	6,31	534,0	1550	3,36	40,8	0,327
6	260,0	6,91	675,0	1566	4,12	37,5	0,375

b) Regímen de carga conservando constantes as grandezas: $f = \text{const.} = 50 \text{ Hz}$, $R_B = \text{const.} = 106 \Omega$, $X_B = 0$ e fazendo variar a capacidade C_A .

Neste regímen conserva-se ligado no circuito de carga somente o interruptor S_3 e mantem-se constantes as respectivas resistências. Faz-se diminuir a capacidade desde $C_A = 18 \mu \text{ F}$ até o gerador perder a sua excitação.

Os valores relativos a esta experiência constam da tabela V e encontram-se marcados na fig. 10 constituindo o diagrama de corrente (curva I) e o diagrama de impediência (curva III). Êste último concorda com o respectivo diagrama teórico já citado.

Foi igualmente feita uma experiência nas mesmas condições da que acabamos de indicar, porém, conservando $f = \text{const.} = 46 \text{ Hz}$.

Os valores relativos a esta experiência encontram-se na tabela VI.

TABELA V

Valores experimentais relativos ao regimen de carga não indutiva

$\cos \varphi_B = 1$, $R_B = \text{const} = 106 \Omega$, $f = 50 \text{ Hz}$, $C_\Delta = \text{variável}$.

Nr.	C_Δ	E_I	I_{IS}	P_I	n	Z_Δ	$\cos \varphi_\Delta$
	$\mu \text{ F.}$	V	A	W		Ω	
1	18	224,0	4,40	480	1544	51,0	0,486
2	16	212,0	3,78	424	1540	56,0	0,527
3	14	194,0	3,16	356	1540	61,2	0,580
4	12	168,0	2,49	266	1540	67,5	0,638
5	11	149,0	2,10	210	1540	71,0	0,670

c) Regimen de carga conservando constantes as grandezas: $C_\Delta = \text{const} = 18 \mu \text{ F}$, $R_B = \text{const.} = 106 \Omega$, $X_B = 0$, e fazendo variar a frequência f .

TABELA VI

Valores experimentais relativos ao regimen de carga não indutiva

$\cos \varphi_B = 1$, $R_B = \text{const} = 106 \Omega$, $f = 46 \text{ Hz}$, $C_\Delta = \text{variável}$.

Nr.	C_Δ	E_I	I_{IS}	P_I	n
	$\mu \text{ F.}$	V	A	W	
1	20	208,0	4,37	430	1426
2	18	192,0	3,54	350	1422
3	16	176,2	2,98	294	1422
4	14	154,8	2,40	227	1422
5	12	105,0	1,50	106	1422

Nêste regimen o circuito de carga mantém-se igual ao do caso anterior. Aqui porém conserva-se constante a capacidade C_Δ e faz-se diminuir a frequência desde $f = 50 \text{ Hz}$ até o gerador perder a sua excitação.

Os respectivos valores experimentais constam da tabela VII e encontram-se igualmente na fig. 10 sendo o diagrama de impe-

TABELA VII

Valores experimentais relativos ao regimen de carga não indutiva

$\cos \varphi_B = 1$, $R_B = \text{const} = 106 \Omega$, $C_A = 18 \mu F$, $f = \text{variável}$.

Nr.	f	E_I	I_{IS}	P_I	n	Z_A	$\cos \varphi_A$
	Hz	V	A	W	$\frac{\text{voltas}}{\text{min.}}$	Ω	
1	50,0	224	4,40	480,0	1542	51,0	0,486
2	49,0	218	4,18	450,0	1522	52,1	0,493
3	46,0	190	3,49	344,0	1422	54,5	0,520
4	44,0	174	3,10	286,0	1370	56,0	0,530
5	42,0	154	2,66	227,0	1300	57,8	0,552
6	40,0	134	2,21	169,0	1236	60,3	0,570
7	39,0	120	1,95	137,0	1200	61,5	0,586
8	38,0	103	1,66	102,0	1166	62,0	0,596
9	37,5	90	1,45	78,5	1154	62,2	0,600

diência (curva III) o mesmo para os dois casos. O diagrama de corrente (curva II) mostra que esta decresce mais rápida-

TABELA VIII

Valores experimentais relativos ao regimen de carga não indutiva

$\cos \varphi_B = 1$, $R_B = \text{const} = 106 \Omega$, $C_A = 14 \mu F$, $f = \text{variável}$.

Nr.	f	E_I	I_{IS}	P_I	n
	Hz	V	A	W	$\frac{\text{voltas}}{\text{min.}}$
1	50,0	194,0	3,17	355	1542
2	48,0	177,0	2,83	296	1482
3	46,0	156,2	2,42	231	1422
4	44,0	134,0	2,02	170	1366
5	43,0	114,4	1,70	122	1320
6	42,5	107,6	1,61	112	—

mente do que no caso anterior. A explicação teórica destes resultados já nos foi fornecida no capítulo anterior.

Fizemos também uma experiência nas mesmas condições da descrita, conservando porém $C_{\Delta} = 14 \mu F$. Os valores respectivos encontram-se na tabela VIII.

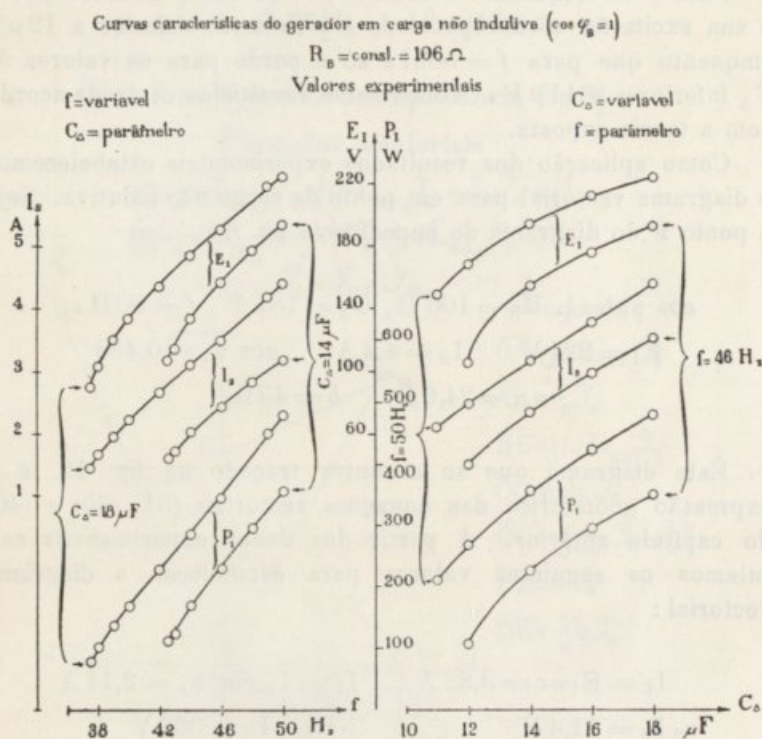


FIG. 11

Estas quatro últimas experiências deram lugar às curvas da fig. 11 cujo carácter se explica facilmente a partir da teoria. A primeira série de curvas diz respeito ao regimen de carga (c) com frequência variável. Estas representam, tomando C_{Δ} como parâmetro, a tensão por fase E_1 , a corrente por fase I_s e a potência por fase P_1 em função da frequência.

Nota-se que o gerador, funcionando com $C_{\Delta} = 14 \mu F$, não se mantém em regimen auto-excitado para frequências inferiores

a $f=42,5$ Hz, enquanto que com $C_{\Delta}=18 \mu F$ ainda mantem a excitação para $f=37,5$ Hz.

A segunda série de curvas representam as mesmas grandezas mas considerando, agora, a capacidade C_{Δ} variável e mantendo constante o parâmetro f . Estas curvas têm um carácter equivalente às anteriores.

Para uma frequência constante $f=46$ Hz o gerador perde a sua excitação se a capacidade C_{Δ} se torna inferior a $12 \mu F$ enquanto que para $f=50$ Hz só a perde para os valores de C_{Δ} inferiores a $11 \mu F$. Todos estes resultados estão de acordo com a teoria exposta.

Como aplicação dos resultados experimentais estabelecemos o diagrama vectorial para um ponto de carga não indutiva. Seja o ponto F do diagrama de impedência fig. 6:

$$\begin{aligned} \cos \varphi_B &= 1, R_B = 106 \Omega, C_{\Delta} = 18 \mu F, f = 50 \text{ Hz}, \\ E_1 &= 224 \text{ V} \quad I_S = 4,4 \text{ A} \quad \cos \varphi_A = 0,486 \\ a &= 24,6 \Omega \quad b = 45 \Omega. \end{aligned}$$

Este diagrama que se encontra traçado na fig. 12, é a expressão geométrica das equações vectoriais (31) (35) e (40) do capítulo anterior. A partir dos dados experimentais calculamos os seguintes valores para estabelecer o diagrama vectorial:

$$\begin{aligned} I_C &= E_1 \omega c = 3,82 \text{ A} & I_B &= I_S \cos \varphi_A = 2,14 \text{ A} \\ r_S I_S &= 11,4 \text{ V} & \omega L_{SS_{\Delta}} I_S &= 360 \text{ V} \\ Z_C I_C &= E_1 = 224 \text{ V} & I_S \cdot a &= 108 \text{ V} \\ I_S \cdot b &= 198 \text{ V}. \end{aligned}$$

Do diagrama resultou: $\omega L_{RS_{\Delta}} I_R = 203 \text{ V}$. Como porém $\omega L_{RS_{\Delta}} = 21,1 \Omega$ conclui-se que para o ponto de funcionamento em questão a corrente do rotor tem o valor

$$I_R = 9,6 \text{ A}.$$

Teoricamente partindo da relação (52) tinhamos achado para

Oscilogramas

Para obtermos a forma das oscilações auto-excitadas do gerador, em regimen de carga, servimo-nos dum oscilógrafo com três laços de medida de frequência própria igual a 2500 Hz. A fig. 13 representa simultâneamente as curvas da tensão entre fases e_{λ} , tensão por fase e_1 e corrente por fase i_s do gerador, relativas ao mesmo ponto de funcionamento para que foi estabelecido o diagrama de vectores.

A terceira harmónica e aquelas cuja ordem é um múltiplo de três não aparecem nas curvas da tensão entre fases e da corrente por fase devido à simetria do sistema trifásico.

A fig. 14 representa, para o mesmo ponto de funcionamento, as três correntes: i_s corrente por fase, i_c corrente no circuito dos condensadores, i_B corrente no circuito de carga. As harmónicas da corrente i_c do circuito dos condensadores aparecem na tensão entre fases tanto mais enfraquecidas quanto maior é a sua frequência. É devido a isso que a tensão entre fases do oscilograma da fig. 13 apresenta uma boa forma. Como num circuito, contendo só resistências, a forma da curva da corrente é igual à da tensão aplicada, conclui-se que a curva da corrente i_B deve também apresentar uma boa forma. O oscilograma da fig. 14 confirma esta conclusão.

Estes oscilogramas correspondem ao mesmo ponto de funcionamento para que foi estabelecido o diagrama de vectores. Desta maneira torna-se possível uma comparação das duas representações, no que diz respeito à diferença de fase das correntes entre si e da tensão por fase e respectiva corrente.

As figuras 15 e 16 representam respectivamente as três correntes por fase e as três tensões entre fases do gerador e confirmam a sua simetria trifásica.

O oscilograma da fig. 17 representa simultâneamente a tensão entre fases do gerador assíncrono auto-excitado e_{λ} e a tensão entre fases e'_{λ} fornecida ao Laboratório de Física da Universidade pela rede trifásica de Coimbra. Êste oscilograma permite uma comparação das duas curvas da qual resulta, sem dúvida, uma vantagem para a tensão do gerador auto-excitado.

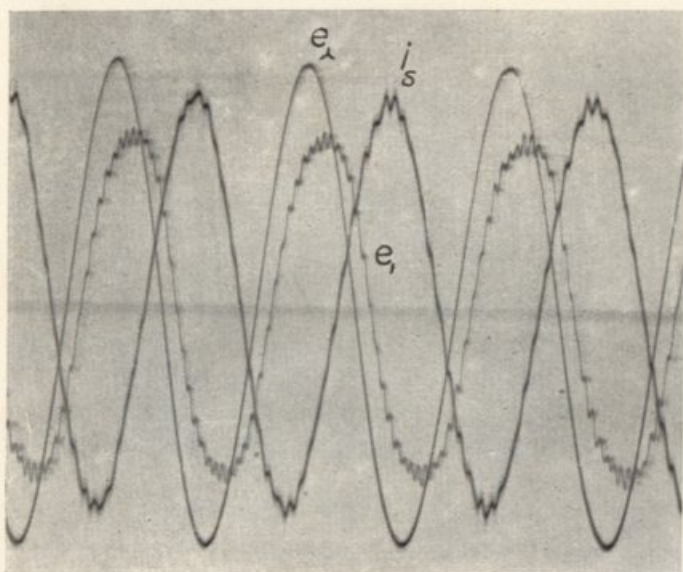


FIG. 13

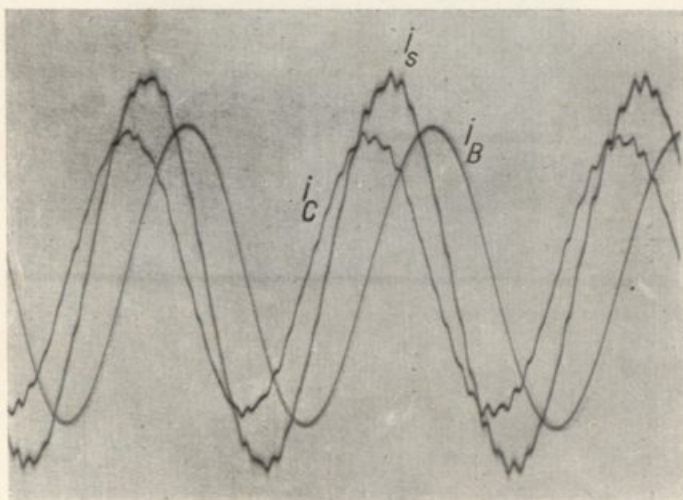


FIG. 14

First large block of faint, illegible text.

Second block of faint, illegible text.

Third large block of faint, illegible text.

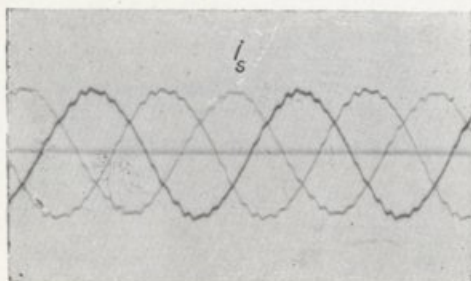


FIG. 15

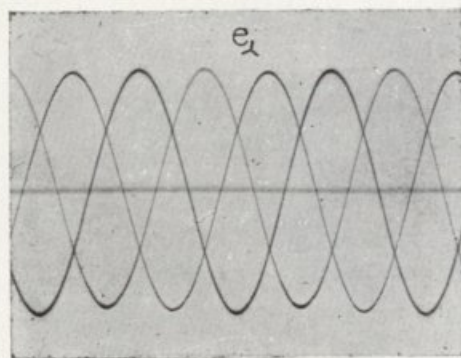


FIG. 16



01 201



01 201

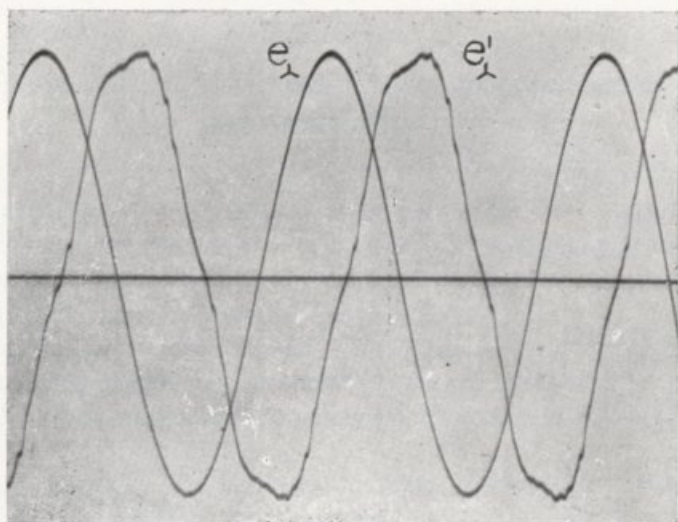


FIG. 17

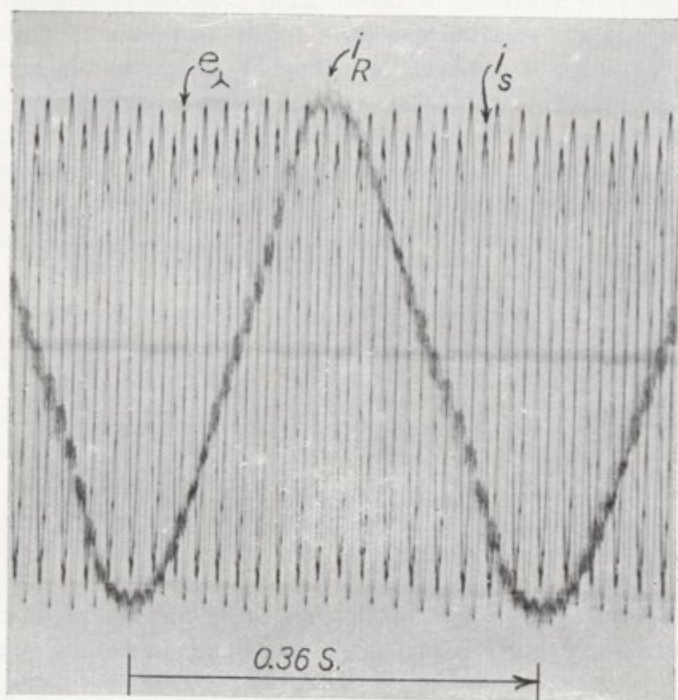


FIG. 18

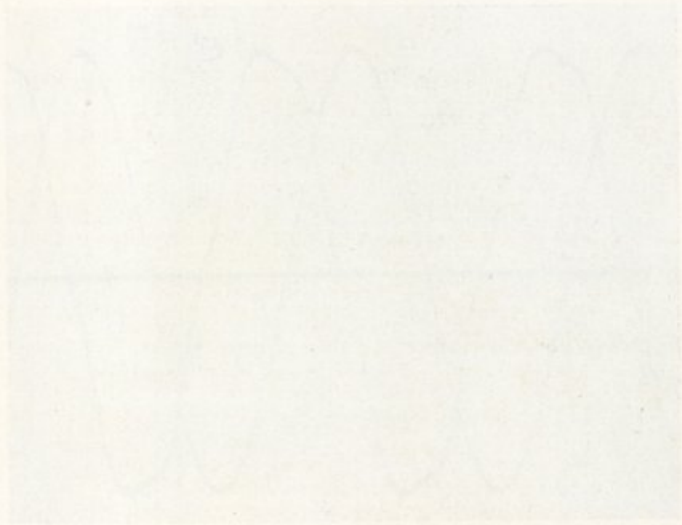


Fig. 12

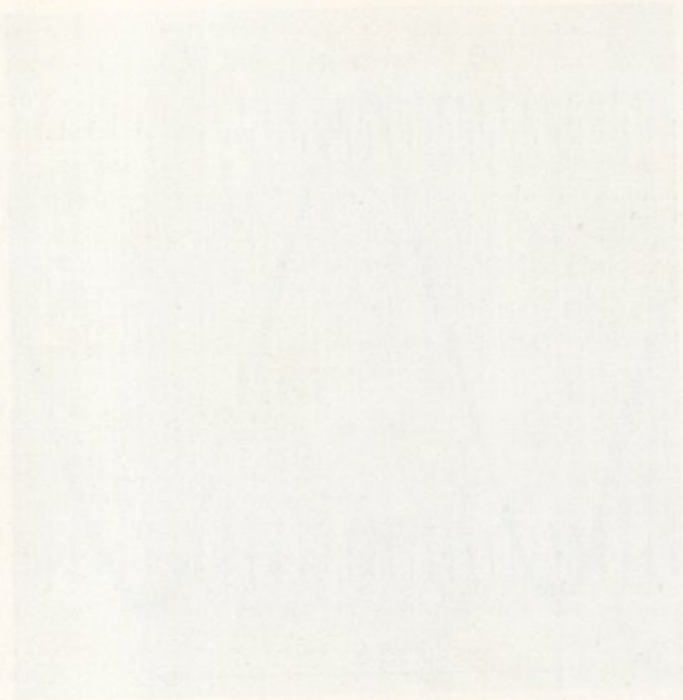


Fig. 13

III) As pulsações da amplitude das oscilações auto-excitadas

A experiência mostra-nos que a amplitude das oscilações auto excitadas do gerador está sujeita a pequenas pulsações cujo período depende do valor do escorregamento e portanto da freqüência das correntes do rotor.

Estas pulsações são devidas, como vamos vêr, a pequenas assimetrias do sistema de correntes do rotor. Aumentando artificialmente esta assimetria as pulsações tornam-se mais pronunciadas.

Uma assimetria dos circuitos do rotor acarreta uma assimetria do sistema trifásico de correntes, que por sua vez dá lugar a uma variação da amplitude do respectivo campo magnético girante. Êste perde a sua qualidade característica de amplitude constante. A ponta do vector que o representa deixa de descrever uma circunferência para passar a descrever uma elipse. Êste campo assimétrico elítico pode-se decompor em dois campos girantes simétricos rodando em sentidos opostos com a mesma velocidade angular $S\omega$ em relação ao sistema rotor. Êste gira, porém, no espaço com uma velocidade angular correspondente a ω_r . Daqui se conclui que os dois campos girantes — directo e inverso — actuão sôbre o sistema estator com freqüências diferentes correspondentes às pulsações :

$$\text{Campo directo } \omega_1 = \omega_r + S\omega = \omega$$

$$\text{Campo inverso } \omega_2 = \omega_r - S\omega = \omega - 2S\omega .$$

As freqüências correspondentes diferem entre si de

$$\Delta f = \frac{2S\omega}{2\pi},$$

o que nos leva a prevêr pulsações da amplitude das oscilações do estator com uma freqüência de pulsação igual ao dôbro da freqüência das oscilações do rotor.

O oscilograma da fig. 18 que representa simultâneamente a

corrente do rotor i_R e as oscilações do estator — corrente por fase i_S e tensão entre fases e_λ — confirma a conclusão a que chegámos. Neste oscilograma, que corresponde ao mesmo ponto de funcionamento do oscilograma da fig. 13, nota-se que o período de pulsação da amplitude das oscilações do estator é igual a metade do período da corrente do rotor.

O oscilograma da fig. 19 representa a corrente do rotor e a tensão entre fases dum gerador assíncrono auto-excitado, funcionando em vazio, com uma pequena saturação do seu circuito magnético. Por meio da introdução duma resistência exterior na fase do rotor, correspondente à corrente oscilografada, obtém-se uma variação muito pronunciada da amplitude da tensão do estator. Ao valor máximo da corrente, na fase do rotor com resistência suplementar, corresponde um mínimo da amplitude do campo girante do rotor e portanto também um mínimo da amplitude da tensão do estator.

Devido ao facto da corrente do rotor se afastar muito da sinusoidal, não aparece neste caso a forma típica da pulsação apresentada no oscilograma da fig. 18. O oscilograma da fig. 19 confirma porém a teoria no que diz respeito à frequência da pulsação e à coincidência no tempo entre o mínimo da amplitude da tensão do estator e o valor máximo da corrente do rotor relativa à fase com resistência suplementar.

A fig. 20 representa finalmente um oscilograma relativo ao caso limite de se ter interrompido uma fase do rotor que fica assim convertido num sistema monofásico. Relativamente ao rotor o seu campo deixa de ser girante para ser um campo alternado e a elipse toma a forma limite da recta. Os campos girantes — directo e inverso — têm, neste caso limite, amplitudes iguais. Nos momentos em que o campo do rotor passa pelo valor zero a amplitude das oscilações do estator decresce rapidamente para voltar em seguida a aumentar. O oscilograma da fig. 20 que representa simultaneamente a corrente do rotor e as oscilações do estator — corrente por fase e tensão entre fases, — confirma o que acabamos de expôr.

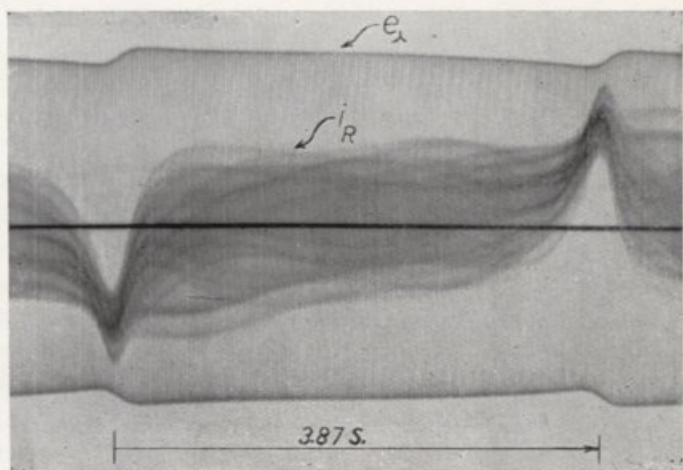


FIG. 19

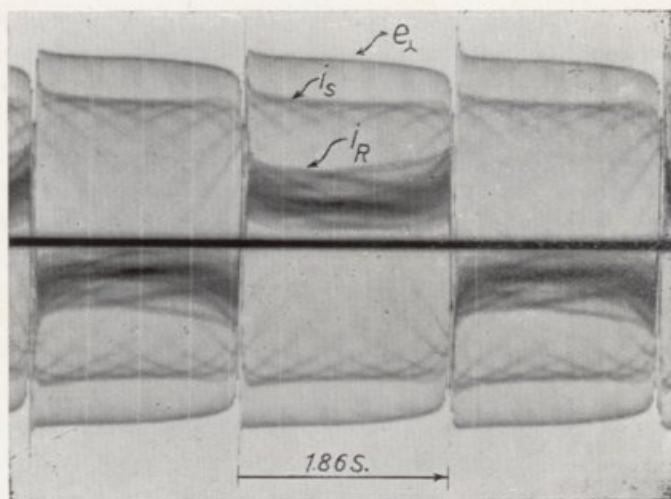


FIG. 20

