

cientistas com treino universitário, mas, ainda, que uma grande proporção da população precisará de ter maestrança prática nas novas descobertas que estão destinadas a ser cada vez mais usadas na indústria e na vida corrente.

... A guerra transformou o mundo, provocou muitas destruições e deixou muita ansiedade, mas também nos demonstrou a

possibilidade do afastamento racional destes malefícios e da sua substituição por um estado de coisas melhor do que até aqui não fomos capazes de imaginar sequer.

É esta a maior lição da guerra para os cientistas.

J. D. BERNAL, F. R. S.
(Extraído dos Reports on Progress
in Physics, vol. x, 1944-45)

8. BIOFÍSICA

Esta Secção existe potencialmente desde sempre na Gazeta de Física. Ao objectivá-la agora pretende-se salientar aos olhos do leitor desprevenido a importância excepcional das aplicações da Física à Biologia.

Pode dizer-se que presentemente um laboratório de Biologia, pura ou aplicada, não pode funcionar sem o apoio de um departamento de Física.

No nosso País, os centros de investigação de Biologia, pura e aplicada, estão atravessando uma era de prosperidade notável, relativamente aos outros domínios científicos, e, por isso, é natural que desejem a colaboração de físicos e que estejam, provavelmente, em situação de conseguir as condições materiais dessa colaboração.

Mas, para realizarem esse objectivo, precisam ... de físicos e, portanto, é do seu maior interesse juntarem a sua voz poderosa ao nosso modesto esforço, no sentido de se criarem em Portugal cursos independentes de Física e um Instituto central de investigação pura, por forma a terem aí uma fonte dupla de profissionais e de mestres, capazes de os auxiliar nas suas tarefas.

Por que não toma a Sociedade Portuguesa de Ciências Naturais, num relatório bem fundamentado, a iniciativa de propor ao Governo uma solução no sentido que defendemos e que é, sem dúvida, também do interesse dos biólogos portugueses e de todo o País?

O artigo que escolhemos para início desta secção foi publicado em 1940 na Review of Modern Physics, mas o seu interesse continua a ter actualidade. O original impresso compreende 90 páginas e só na sua primeira parte se dá notícia de 1200 trabalhos relativos à Biofísica. Julgámos que a melhor recomendação que poderíamos dar deste artigo, útil aos biólogos e aos físicos, seria a publicação dos extractos que se seguem.

PROBLEMAS LIMÍTROFES DA BIOLOGIA

Fui tentado a escolher o título «Biofísica» para este artigo, para mais sucintamente delimitar o fim em vista. Mas, a-pesar do crescente aumento de interesse pelos problemas biofísicos, não parece haver perfeito acôrdo, entre os biofísicos, quanto ao significado do termo biofísico.

O precedente histórico é, sem dúvida, em parte o responsável por esta confusão.

Há muitos anos, quando poucos métodos físicos eram aplicados na investigação bioló-

gica e quando os efeitos sobre os organismos de agentes tais como raios X e luz ultravioleta eram relativamente desconhecidos, os biofísicos chamavam-lhe «física dos organismos vivos».

Entretanto os tempos mudaram. Os físicos que se aventuraram a explorar problemas biológicos e bioquímicos hoje em dia, estão mais aptos a tornar contacto com o desenvolvimento e aplicação de novos métodos físicos de experiência, ou com o estudo dos

efeitos biológicos dos agentes físicos do que com a observação dos princípios físicos que residem nos organismos vivos.

Se aplicarmos o termo biofísica para incluir estes novos domínios de investigações, definindo-a como «métodos físicos e princípios físicos aplicados à biologia e bioquímica», então «Biofísica» serve perfeitamente como título para este artigo.

Biofísica é um ramo particular da *física aplicada* e portanto parece haver uma natural aproximação dela à física, também como, à biologia, ou bioquímica.

Provavelmente isto explica por que muitas das investigações descritas no que se segue foram iniciadas por investigadores treinados primeiramente como físicos.

Têm sido tão rápidos os recentes progressos neste campo que é necessário limitar a discussão dos assuntos escolhidos. Os assuntos que se seguem têm sido cuidadosamente escolhidos ou porque tratam com métodos de larga aplicação ou porque são de especial interesse comum: emprêgo de isótopos como indicadores nas investigações fisiológicas, estudo dos raios X através de compostos bioquímicos, aplicações da espectroscopia infra-vermelha, visível e ultra-violeta; aplicações da ultra-centrífuga e recentes progressos na microscopia em particular relativamente aos microscópios ultra-violeta e eletrónico.

Outros assuntos serão considerados mais sucintamente.

Isótopos como indicadores biológicos

As transformações sofridas e o destino definitivo das substâncias ingeridas pelos organismos e a síntese dos compostos orgânicos nos mesmos organismos são assuntos de grande importância em fisiologia.

Têm-se desenvolvido dois métodos de classificações de substâncias para a investigação de tais problemas; podem ser determinadas pela sua localização nos tecidos e nos excrementos ou pela sua síntese nos outros compostos seguintes.

O primeiro foi iniciado por G. Hevesy no Instituto de Física Teórica de Copenhague.

Baseia-se no emprego de isótopos radioactivos para classificar tais substâncias como chumbo, bismuto, fósforo, etc.

O segundo, iniciado por Schoenheimer e Rittenberg, em Colúmbia, emprega isótopos não radioactivos tais como deutério, incorporado nos compostos, como indicador.

Hevesy desenvolveu o método dos indicadores radioactivos por causa dum problema sugerido por Lord Rutherford: a extracção do Rádio *D* do chumbo radioactivo.

Segundo as palavras de Hevesy:

«Ensaiei numerosos métodos de separação sem o mínimo sucesso. Foi um resultado desanimador, mas para tirar partido da situação decidi resolver o problema inverso, misturando fuma quantidade conhecida de rádio *D*, e que pode ser facilmente obtida a partir da emanação de rádio, com uma quantidade conhecida dum sal de chumbo e seguir o percurso dos átomos de chumbo usando rádio *D* ou o do isótopo do chumbo, Th B como indicador».

Tendo começado em 1913 estes trabalhos, de colaboração com Paneth publicou extensas séries de investigações químicas incluindo os indicadores radioactivos.

O método foi pela primeira vez extensível aos problemas biológicos em 1923.

Estudo pelos raios X da estrutura de substâncias bioquímicas, tecidos, etc.

O que o método dos indicadores isótopos tem contribuído para o estabelecimento das características dinâmicas dos constituintes moleculares do protoplasma, tem sido comparável à contribuição dos técnicos de difracção dos raios X na determinação da disposição em que as moléculas se agregam para a formação da estrutura grosseira do organismo.

Um organismo vivo pode ser comparável a uma tapeçaria que está sujeita a um uso e reparação permanente, sendo o desenho mantido aproximadamente o mesmo através de toda a vida da tapeçaria.

Os estudos dos isótopos radioactivos têm mostrado que, diferentemente duma tapeçaria (que é reparada só quando lhe sucede uma

avaria apreciável e só num lugar determinado), toda a estrutura dos organismos é um estado de continua destruição e reconstituição, sendo evidentemente tais processos controlados por várias condições de equilíbrio.

Acentuou-se que muitas partes dos seres vivos são mais activas do que nós temos até agora suposto. Assim, uma propriedade dos seres vivos que os distingue dos mortos é que praticamente todas as suas partes parecem estar em estados dinamicamente estacionários, capazes de se modificar em certas condições.

O desenho de uma tapeçaria é feito com fios de diferentes cores e as qualidades fundamentais do fabrico tais como a sua suavidade, aptidão para resistir ao uso, etc, são determinadas pelas características do fio tão bem como pelas da tecelagem.

Pode-se prontamente observar à vista desarmada o desenho geral e o padrão de uma tapeçaria e a estrutura grosseira dos fios de que é tecida (a sua grosseira anatomia), mas pode empregar-se o microscópio para observar a estrutura fina dos fios (a sua microanatomia e histologia).

Apesar disto não se pode encontrar uma explicação da qualidade das fibras que constituem os fios — a sua elasticidade, flexibilidade, ductilidade, etc. — qualidades que se refletem nas características da tapeçaria.

Para tal interpretação tem de se procurar os arranjos e ordem das moléculas e unidades submoleculares dentro das fibras dos fios — o seu modo de agregação, as mudanças na agregação das moléculas quando sujeitas a uma deformação, etc. É o conhecimento destes fenómenos que a espectrografia dos raios X nos revela.

A observação da estrutura dos organismos vivos é perfeitamente análoga, excepto ser a situação sempre complicada pela necessidade de matar o organismo, e não se conhecerem sempre quais as modificações que se operam pela sua morte.

A estrutura grosseira (anatomia) pode ser observada apenas a olho nú e a micro-estrutura (histologia) com o auxílio do microscópio,

mas para a observação do modo de agregação das moléculas e unidades submoleculares, que regem as qualidades do tecido vivo, é necessário recorrer de novo aos métodos cristalográficos de raios X.

É só nos últimos anos que as extensas aplicações dos métodos de raios X têm sido feitas a tais problemas, e a extensão e importância de muitas contribuições neste campo é, portanto, especialmente acentuada.

Foi em parte, através dos estudos dos textéis pelos métodos de difracção dos raios X que a aplicação dos mesmos métodos a muitos problemas biológicos e bioquímicos se desenvolveu.

Aplicações da espectroscopia do infra-vermelho, Raman, visível e ultravioleta aos problemas biológicos

Chegamos agora à discussão das técnicas que são úteis na identificação de compostos presentes ou isolados dos organismos e na determinação dos detalhes da sua estrutura química.

Das técnicas consideradas a espectroscopia de absorpção ultra-violeta e visível têm sido extensamente empregadas, em parte, devido à sua relativa facilidade de aplicação e, em parte, porque se prestam bem à aproximação puramente empírica, a qual até aqui se tem provado mais eficaz nas aplicações da espectroscopia aos problemas biológicos e bioquímicos.

Espectros infra-vermelho e Raman

Como sabemos, a absorpção de moléculas no infra-vermelho distante surge a partir de mudanças rotatórias, e no infra-vermelho próximo, da combinação de mudanças vibratórias e rotatórias.

A partir das expressões quantum-mecânicas para as frequências vibratórias e rotatórias, os espectros experimentais e os pesos atômicos dos átomos envolvidos, assim como as distâncias inter-atômicas e as forças de ligação, podem ser calculadas para moléculas di- e poli-atômicas simples.

Com a crescente complexidade da molécula, o espectro torna-se de mais difícil interpretação porque uma grande quantidade de possível energia vibratória e rotatória muda.

Os compostos de interesse em bioquímica e biologia são, na maior parte, altamente complexos. Por esta razão não é conveniente fazer a sua análise pelos infra-vermelhos nem pelos métodos aplicados às moléculas di- e poli-atômicas simples.

Outra complicação surge do facto de que muitas substâncias de interesse biológico são sólidas, solúveis em água mas não nas gorduras, e a alta absorção pela água do infra-vermelho próximo impede o exame em soluções aquosas diluídas.

Na espectroscopia Raman, a radiação dispersa obtida da substância quando ela é excitada com energia monocromática incidente é examinada por linhas Raman de frequência maior ou menor do que a energia incidente. Portanto, como as variações da frequência na dispersão encontrada nos espectros Raman são atribuídas aos efeitos das formas vibratórias e rotatórias das moléculas, era de esperar, e foi verificada, uma íntima correlação entre muitas linhas Raman e as frequências de vibração-rotação infra-vermelho para as mesmas moléculas. Por esta razão, as considerações acima feitas relativamente à transferência de frequências em agrupamentos particulares aplicam-se tanto aos espectros Raman como aos infra-vermelhos.

Há esta vantagem da técnica Raman que devia ser acentuada: desde que a radiação dispersa excitante permaneça nas regiões visível e ultra-violeta, nas quais a água é extraordinariamente transparente, podem empregar-se soluções aquosas diluídas sem desvantagens causadas pela absorção encontrada no infra-vermelho próximo.

Em resumo, pode dizer-se que a espectroscopia infra-vermelha e Raman de matérias de grande interesse biológico não estão num estado muito satisfatório na época presente e que este campo necessita ser desenvolvido.

Os espectros de absorção molecular nas regiões visível e ultra-violeta aparecem devido

a variações da energia electrónica com a qual estão combinadas, em geral, variações da energia de vibração e rotação.

Cada vibração electrónica dá origem a várias riscas correspondendo a várias variações vibratórias com elas associadas.

As riscas por sua vez são compostas de linhas correspondendo a variações rotatórias.

Nos espectros de certos gases diatómicos, é tarefa fácil identificar, por comparação, grupos de riscas, riscas e linhas.

Nas moléculas poli-atômicas, no entanto, e especialmente nas moléculas complexas de interesse em bioquímica e biologia, o número de possíveis transformações electrónicas (e variações vibratórias e rotatórias associadas) é tão grande que os espectros resultantes podem ser bastante confusos.

Além disso, substâncias de interesse biológico são usualmente examinadas no estado sólido ou líquido (incluindo sólidos em solução) e o íntimo agregado de moléculas em tais condições causa perturbantes influências que resultam em alargamento de linhas e riscas nos espectros difusos. Frequentemente a região espectral na qual as substâncias são examinadas é que conduz às suas transformações foto-químicas, e isto dá origem a espectros difusos de pre-dissociação e dissociação. Finalmente as técnicas e os equipamentos usualmente empregados na espectrofotometria de absorção são de insuficiente precisão e poder resolvente para mostrar a estrutura rotatória⁽¹⁾ ou vibratória ainda que possam ser observadas por outro meio (por exemplo, um espectrograma feito com um instrumento de elevada dispersão e poder resolvente). Não obstante as limitações acima, a espectroscopia de absorção tem servido de muito nas investigações biológicas especialmente em: a) identificação empírica de compostos em quantidades muito

(1) Em relação à estrutura rotatória, basta chamar a atenção para o facto de que os métodos usuais espectrofotométricos conduzem a curvas definidas por pontos de 25 a 50 Å separadamente considerando que a separação das linhas de rotação é da ordem de 1 Å ou menos.

pequenas à disposição para serem examinados pelos métodos analíticos usuais; b) avaliação quantitativa de compostos com características de absorção bem definidas; c) a solução de problemas estruturais por comparação da absorção de uma substância desconhecida com substâncias de estrutura conhecida à qual se suspeita ser semelhante a substância desconhecida; d) o estudo de reações bioquímicas incluindo substâncias de absorção característica (por exemplo nas células vivas — biocinética).

Aplicações da ultra-centrífuga à Biologia e Bioquímica

As centrífugas que desenvolvem campos gravitacionais da ordem de 5.000 até $10^6 \times g$ são chamadas «ultracentrífugas», para as distinguir das de pequena velocidade usadas nos procedimentos usuais do laboratório. As mais modernas produzem cerca de 2.000 a 4.000 r. p. m. e desenvolvem campos da ordem de 500 a $2,500 \times g$.

As aplicações da ultracentrífuga a problemas biológicos incluem: (1) a avaliação das dimensões de partículas, assim como a determinação de pesos moleculares das proteínas; (2) a purificação de materiais biológicos, como na preparação de virus purificados; (3) o estudo das propriedades físicas do protoplasma e os efeitos dos campos gravitacionais nas formas vivas.

O mais remoto desenvolvimento da ultracentrífuga e muitas das suas subseqüentes aplicações nos problemas biológicos deve-se a Svedberg e aos seus colaboradores, que começaram a empregar a força centrífuga cerca de 20 anos mais cedo para o estudo das dimensões duma partícula pelo método da velocidade de sedimentação.

Estavam interessados em fazer a sedimentação de partículas muito pequenas (menos de cerca de 100 m μ . de diâmetro) a velocidades apreciáveis sob a influência exclusiva da gravidade. Em breve aplicaram o método à determinação de pesos moleculares de proteínas (tendo sido publicados, em 1926, valores para a hemoglobina).

Progressos recentes na microscopia

Dentre os mais recentes progressos na microscopia aplicável aos problemas biológicos, a microscopia do ultra-violeta e eletrônica foram escolhidas para determinadas investigações como sendo provavelmente do maior interesse actual. Os aparelhos e técnicas da microscopia ultra-violeta não diferem da microscopia do visível nos seus princípios fundamentais, mas as diferenças nos detalhes são impostas pelos tipos de fontes luminosas requeridas e pela necessidade de fotografar o campo em lugar de fazer a observação directa.

É possível empregar uma ampola de mercúrio, de vidro óptico de c. d. o. = 3.650 Å mas para c. d. o. mais pequenos deve empregar-se o quartzo.

No microscópio eletrônico os electrões de um filamento aquecido são acelerados, contra o objecto a observar no vácuo, entre uma d. d. p. de 30.000 a 100.000 volts (correspondendo a c. d. o. igual a 0,071 a 0,039 Å) e empregam-se campos magnético e eléctrico, de um modo análogo ao emprego de lentes para iluminação dos microscópios vulgares, para encurvar o feixe eletrônico que depois passa através da preparação e trazê-lo até ao foco numa imagem claro-escuro, ampliada, do objecto.

A microscopia fluorescente tem adquirido grande interesse nos estudos biológicos. O método consiste na excitação da preparação por uma luz ultra-violeta de longo c. d. o. (cerca de 3.500 Å) e observação da luz fluorescente visível por ela emitida. Os princípios são essencialmente os mesmos do que na espectroscopia de fluorescência excepto empregar-se um microscópio para se examinar o objecto. Deve empregar-se uma fonte ultra-violeta conveniente e devem empregar-se filtros entre a fonte e a preparação para eliminar a radiação visível *difusa* tanto quanto possível enquanto ao mesmo tempo transmite o ultra-violeta estimulante. Têm sido publicados vários artigos sobre métodos e resultados.

A fluorescência observada de muitas substâncias de interesse biológico (por ex. a vitamina A) torna possível por este método a sua localização em células e tecidos.

Outras técnicas — Métodos de trabalho na investigação de células fisiológicas

Até aos últimos 10 ou 15 anos, o desenvolvimento da fisiologia verificou-se no estudo das actividades dos organismos em conjunto.

Desde então a atenção tem sido dirigida cada vez mais para a fisiologia das células individuais de que os organismos se compõem. A mudança é análoga àquela que teve lugar na física.

No século XIX, os problemas macroscópicos ocuparam a maior parte do tempo aos físicos. No século XX voltaram-se para as investigações submicroscópicas, e a maior parte dos seus esforços são agora empregados em desvendar os mistérios das moléculas, átomos e unidades subatómicas.

A nova era na investigação científica aguardava a solução de numerosos problemas no domínio da macroscopia e o desenvolvimento de novas técnicas (métodos de difracção de raios X, ciclotrões, etc.) para atacar problemas submicroscópicos, tanto na física como na fisiologia. Só desde que actividades do organismo tais como a circulação do sangue, a respiração, o control hormonal das funções do corpo, etc., têm sido relativamente conhecidas, é que se dirigiu a atenção principalmente para a relação destas actividades com a célula específica, e o progresso neste último campo tem esperado o desenvolvimento de técnicas adequadas tais como culturas de tecidos e métodos manométricos.

Algumas destas técnicas mais modernas serão discutidas com referências particulares aos seus múltiplos aspectos físicos.

Métodos diversos. — Fotografia e cinematografia

Os métodos usuais de aplicação da fotografia a investigações macro e micro-experi-

mentais, não serão considerados, como em outros trabalhos, detalhadamente.

Foram descritos por Walton interessantes aplicações da fotografia do infra-vermelho à investigação paleobotânica.

Têm aparecido vários artigos sobre métodos de aplicação da cinematografia à investigação bacteriológica.

Electrocardiografia e electroencefalografia

O emprêgo da electrocardiografia no diagnóstico das condições patológicas do coração é tão conhecido que a descrição dos instrumentos e as suas aplicações se encontram na maior parte dos livros de fisiologia humana.

A atenção deve ser dirigida, todavia, para os importantes progressos técnicos no método que consiste na substituição do oscilógrafo de raios catódicos pelo antigo galvanómetro de fio como meio de indicar a acção das correntes.

Nos últimos 10 anos, tem-se dado especial atenção à acção das correntes produzidas no cérebro. Estas podem ser observadas por eléctrodos conjugados, aplicados ao couro cabeludo com amplificação conveniente e equipamento registador. O registo resultante, chamado «encefalograma», mostra os desvios do normal observados no caso de certos distúrbios mentais, particularmente epilepsia, e e tais registos servem para a localização de tumores cerebrais.

Fragmentação pelas vibrações ultra-sónicas

As vibrações ultra-sónicas têm sido usadas para a despolimerização mecânica do amido e gelatina e para a fragmentação da proteína hemocianina do *Helix pomatia*.

No último caso foram obtidas unidades submoleculares da ordem de $1/2$ e $1/8$ da molécula original.

Chambers e Flosdorf empregaram também tais vibrações para a fragmentação de bactérias e na extracção de constituintes instáveis

delas. Indicam que certas proteínas termo-lábeis, são estáveis à acção das ondas sonoras e que o método tornou possível, portanto, a extracção de numerosos materiais que se não conseguiam nas suspensões bacterianas fixadas pelo calor ou pela formalina.

Por este processo foi extraído um consti-

tuinte duma combinação altamente instável de anti-corpos do *S. haemolyticus*.

JOHN R. HOOFBOUROW

MASSACHUSETTS INSTITUTE OF
TECHNOLOGY, CAMBRIDGE, MASSACHUSETTS

(Extraído do Review of Modern Physics, Vol. 12, 1940).
Compil. de Maria da Conceição Vasconcellos Dias.

9. A FÍSICA NA INDÚSTRIA

A IMPORTÂNCIA DO FÍSICO NA INDÚSTRIA DOS TÊXTEIS

Palavras prévias

Esta secção nova, mais do que qualquer das suas companheiras, destina-se a objectivar, no maior número possível dos fascículos a publicar, um dos nossos propósitos de sempre: lutar pela defesa da Física como profissão e criar entre os licenciados em ciências físico-químicas, que se sintam atraídos pela Física e dispostos a aprofundar os seus conhecimentos escolares, um verdadeiro espírito de profissionalismo.

Far-se-à assim praticamente em todos os nossos artigos, mas, em particular, nesta Secção procurar-se-à seguir o método directo de demonstrar — de início, e infelizmente, quasi apenas com o exemplo do estrangeiro — a necessidade de físicos nas indústrias nacionais, mostrando como eles são chamados a intervir nas suas congéneres estrangeiras. Mostrar-se-à assim, ao mesmo tempo, a necessidade dum curso profissional de Física, bem como dum Instituto central de investigação pura, capaz de alimentar o referido curso e dar o seu apoio desinteressado aos futuros físicos portugueses trabalhando nos seus pequenos laboratórios industriais.

Por estas razões, tivemos a preocupação de escolher para início desta secção um campo de aplicação a um tempo da mais larga expansão nacional e, por outro lado, onde — segundo julgamos e, pelo menos, os factos confirmam — os interessados parecem nem sequer suspeitar que os físicos possam ser in-

dispensáveis ou, apenas, úteis: o da indústria dos têxteis.

E perguntamos: por que é que os industriais dos têxteis não procuram, isolada ou colectivamente, que as universidades lhes forneçam os físicos de que não podem carecer menos do que os seus colegas britânicos? Por que não se hão de associar eles, com tantos outros, por exemplo através da Associação Industrial Portuguesa, para solicitar do Governo a criação de cursos independentes de Física que formem verdadeiros profissionais, capazes de apressar o progresso e a renovação das suas indústrias?

Algumas aplicações da Física à preparação dos têxteis

(Extractos)

Introdução.

As indústrias têxteis fornecem um vasto domínio de aplicação da Física, e dos métodos físicos de investigação, ao exame das suas muitas matérias primas e produtos semi-manufacturados e acabados e dos processos físicos e químicos pelos quais passam as matérias têxteis no decurso da sua manufactura.

Isto pode ser imediatamente apreciado pelo leitor, mesmo se ele não tem nenhum conhecimento detalhado das necessidades dos produtos ou dos processos têxteis.

Se se considerar simplesmente o grande número de têxteis acabados que são artigos de uso comum de equipamentos pessoais, ca-