



PREPARAÇÃO DE OURO COLOIDAL RADIOATIVO - ^{198}Au :
ESTUDO DOS PARÂMETROS QUE AFETAM O TAMANHO DAS PARTÍCULAS

Sônia Aparecida Cammarosano

DISSERTAÇÃO E TESE - IEA 097
IEA - DT - 097

MAIO/1979

CONSELHO DELIBERATIVO

MEMBROS

Klaus Reinach ... Presidente

Roberto D'Utra Vaz

Helcio Modesto da Costa

Ivano Humbert Marchesi

Admar Cervellini

PARTICIPANTES

Regina Elisabete Azevedo Beretta

Flávio Gori

SUPERINTENDENTE

Rômulo Ribeiro Pieroni

**PREPARAÇÃO DE OURO COLOIDAL RADIOATIVO - ^{198}Au :
ESTUDO DOS PARÂMETROS QUE AFETAM O TAMANHO DAS PARTÍCULAS**

Sônia Aparecida Cammarosano

**Dissertação para obtenção do Título de "Mestre - Área
Tecnologia Nuclear" - Orientador Dra. Constância P.
Gonçalves da Silva. Apresentada e defendida em 7 de
agosto de 1978, no Instituto de Energia Atômica.**

**INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA
SÃO PAULO - BRASIL**

Série DISSERTAÇÃO E TESE IEA

INIS Categories and Descriptors

B13

Gold 198

Colloids

Chemical preparation

Particle size

Electron microscopy

Quality control

Spectrophotometry

Nota: A redação, ortografia e conceitos são de responsabilidade dos autores.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I	
INTRODUÇÃO	1
1.1 – Uso Médico de Substâncias Radioativas	1
1.2 – Aplicações e Características Específicas do Ouro-198 Coloidal	2
1.3 – Objetivos	3
CAPÍTULO II	
MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DO OURO-198 COLOIDAL	9
CAPÍTULO III	
PARTE EXPERIMENTAL	11
III.1 – Reagentes, Equipamentos e Vidraria	11
III.1.1 – Reagentes	11
III.1.2 – Equipamentos	11
III.1.3 – Vidraria	12
III.2 – Preparação do Germe	12
III.2.1 – Preparação do Ácido Cloroáurico	12
III.2.2 – Redução do Ácido Cloroáurico	12
III.3 – Preparação do Colóide Radioativo com Partículas de 300 Å	12
III.3.1 – Preparação do Alvo	12
III.3.2 – Preparação do Cloroaurato de Sódio	12
III.3.3 – Formação do Colóide	12
III.4 – Estudo dos Parâmetros que Podem Afetar a Formação de Partículas com Tamanhos Regulares (Diâmetro Médio = 300 Å)	13
III.4.1 – Estudo da Temperatura de Evaporação da Solução de Ácido Cloroáurico	13
III.4.2 – Variação da Vazão da Solução de Cloroaurato de Sódio sobre a Mistura Redutora	15
III.4.3 – Estudo da Influência da Agitação da Mistura Redutora Durante o Gotejamento do Cloroaurato de Sódio	15
III.4.4 – Estudo da Temperatura da Mistura Redutora Durante o Gotejamento da Solução de Cloroaurato de Sódio	15
III.5 – Influência da Diluição, Tempo e pH na Estabilidade do Colóide	15
III.5.1 – Estudo da Diluição do Colóide	15

	Página
III.5.2 – Influência do Tempo na Estabilidade do Colóide	18
III.5.3 – Estudo do pH Final do Colóide	18
III.6 – Estudo do Espectro de Absorção do Germe e do Colóide com Partículas de 300 Å	25
III.6.1 – Espectro de Absorção do Germe	26
III.6.1.1 – Espectro de Absorção do “Branco” na Preparação do Germe	25
III.6.1.2 – Espectro de Absorção do Germe Durante a sua Formação	25
III.6.2 – Espectro de Absorção do Colóide com Partículas de 300 Å	27
III.6.2.1 – Espectro de Absorção do “Branco” na Preparação do Colóide Final	27
III.6.2.2 – Espectro de Absorção do Colóide com Partículas de 300 Å Durante a sua Formação	27
CAPÍTULO IV	
CONTROLE DE QUALIDADE DO COLÓIDE COM PARTÍCULAS DE 300 Å	27
IV.1 – Determinação do Tamanho das Partículas do Colóide	27
IV.2 – Controle da Pureza Radioativa e Radioquímica	30
IV.2.1 – Considerações Gerais	30
IV.2.2 – Pureza Radioativa	30
IV.2.3 – Pureza Radioquímica	31
IV.2.3.1 – Procedimento	31
IV.3 – Comportamento Biológico do Colóide com Partículas de 300 Å	31
IV.4 – Mapeamento	34
CAPÍTULO V	
RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	34
V.1 – Estudo da Temperatura de Evaporação do Ácido Cloroáurico	34
V.2 – Variação da Vazão Durante a Adição da Solução de Cloroaurato de Sódio sobre a Mistura Redutora	39
V.3 – Estudo da Influência da Agitação da Mistura Redutora Durante o Gotejamento do Cloroaurato de Sódio	40
V.4 – Variação da Temperatura da Mistura Redutora Durante o Gotejamento da Solução de Cloroaurato de Sódio	40
V.5 – Estudo da Diluição do Colóide	40
V.6 – Influência do Tempo na Estabilidade do Colóide	44
V.7 – Estudo do pH Final do Colóide	44
V.8 – Estudo dos Espectros de Absorção do Germe e do Colóide com Partículas de 300 Å Durante as suas Formações	44
V.9 – Conclusões	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

PREPARAÇÃO DE OURO COLOIDAL RADIOATIVO – ^{198}Au : ESTUDO DOS PARÂMETROS QUE AFETAM O TAMANHO DAS PARTÍCULAS

Sônia Aparecida Cammarosano

RESUMO

Descreve-se neste trabalho a preparação de colóides de ouro radioativo com partículas de 300 \AA , a partir de um "germe" com partículas de 50 \AA , estabilizado com gelatina, utilizando-se equipamentos simples. Analisando-se alguns parâmetros físico-químicos que podem afetar a formação das partículas com diâmetro médio de 300 \AA e as suas dimensões são determinadas com auxílio de microscópio eletrônico.

Estuda-se também a influência da diluição, tempo e pH na estabilidade do colóide.

O progresso de formação do germe e do colóide é estudado por espectrofotometria. Seus espectros de absorção são apresentados e comparados.

Faz-se o controle de qualidade do produto analisando-se a pureza radioativa, radioquímica e a distribuição biológica, que é estudada em ratos, injetando-se o colóide de ouro por via endovenosa.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1.1 – Uso Médico de Substâncias Radioativas

As preparações radioativas, usadas em medicina, classificam-se em dois grupos: em um deles as preparações destinam-se ao exame diagnóstico e no outro, à terapia.

Os compostos radioterapêuticos servem para irradiar os focos patológicos de órgãos ou cavidades produzindo efeitos de cura e cicatrizantes. As preparações radiodiagnósticas devem ser tais que produzam efeitos mínimos de radiação pelo corpo e ao mesmo tempo sejam detectadas, imediatamente, por instrumentos de medidas externas.

Para diagnóstico, geralmente são usados radioisótopos emissores gama de energia baixa que são absorvidos pelos tecidos do corpo e detectáveis por contadores de cintilação. Os radioisótopos com meia-vida curta usados em diagnóstico podem ser eluídos de geradores e os mais usados para esse propósito são o tecnécio- $^{99\text{m}}$ ($t_{1/2} = 6,04 \text{ h}$), gálio- 68 ($t_{1/2} = 68,3 \text{ min}$), índio- $^{113\text{m}}$ ($t_{1/2} = 99,8 \text{ min}$) e o iodo- 132 ($t_{1/2} = 2,4 \text{ h}$)⁽²⁴⁾.

Aprovada para publicação em Agosto/1978.

Os compostos radioterapêuticos geralmente são preparados com isótopos que emitem partículas beta de energia alta e têm meia-vida curta (alguns minutos até poucos dias). Essas partículas beta irradiam uniformemente o órgão afetado na região onde o composto é introduzido. Muitas vezes, prefere-se usar um elemento emissor de raios gama fracos e beta de energia alta, porque a localização do radioisótopo no órgão desejado pode ser determinada pelos raios gama e a energia gama sendo baixa, evita a irradiação dos tecidos vizinhos.

Os emissores beta puros não irradiam o organismo como um todo, mas restringem sua ação radioativa ao foco patológico no qual é introduzido. Os pacientes tratados com radioisótopos deste tipo, não irradiam outras pessoas com as quais têm contacto.

Finalmente, o uso de radioisótopos que emitem raios-X são algumas vezes recomendados para finalidades terapêuticas, por exemplo, o paládio-103⁽³⁰⁾.

Muitas vezes, o tratamento com soluções radioativas no estado iônico (partículas menores do que $0,001 \mu\text{m}$) é prejudicial ao paciente, porque estas partículas podem passar rapidamente à circulação ou difundirem nos tecidos. Também, é importante considerar que certos órgãos retêm apenas partículas com determinadas dimensões. Por isso, surge a necessidade do uso de soluções radioativas com partículas de dimensões maiores ou tamanhos ideais ao órgão correspondente. O emprego de soluções coloidais (partículas com pelo menos uma dimensão entre $1 \mu\text{m} - 0,001 \mu\text{m}$) pode satisfazer essas exigências. Por exemplo: quando um sistema disperso é introduzido intravenosamente, partículas maiores do que $20 \mu\text{m}$ são retidas pelo sistema capilar dos pulmões. As partículas menores que atravessam os capilares dos pulmões, são retidas ao nível celular pelos órgãos do sistema retículo endotelial (células de Kupffer do fígado, células reticulares do baço, medula óssea e nódulos linfáticos, células endoteliais dos capilares da glândula adrenal e os tecidos histiócitos)^(2,30).

De acordo com os dados de Dobson⁽¹³⁾, a distribuição no sistema retículo endotelial é dependente do tamanho de partícula: as partículas da ordem de $1 \mu\text{m}$ são captadas pelo baço, as partículas menores do que $0,02 \mu\text{m}$ pela medula óssea e sistema linfático e, partículas de tamanho entre os dois limites citados acima pelo fígado.

O primeiro e até agora um dos isótopos mais usados em preparações coloidais radioterapêuticas é o ouro-198 ($t_{1/2} = 2,697 \text{ d}$; $E_{\beta} = 0,29 \text{ MeV}$ (1,1%), $0,96 \text{ MeV}$ (98,9%), $1,37 \text{ MeV}$ (0,03%), $E_{\gamma} = 0,4118 \text{ MeV}$ (99,8%), $0,676 \text{ MeV}$ (0,9%) e $1,088 \text{ MeV}$ (0,16%). Muitas vezes, preparações coloidais contendo radioisótopos emissores beta puros são usadas, a saber: fósforo-32 ($t_{1/2} = 14,3 \text{ d}$, $E_{\beta\text{máx}} = 1,71 \text{ MeV}$) e ítrio-90 ($t_{1/2} = 64,8 \text{ h}$, $E_{\beta\text{máx}} = 2,27 \text{ MeV}$)⁽³²⁾. Ao lado do ouro coloidal, a literatura contém referências sobre o uso terapêutico de soluções coloidais contendo rênio-186 ($t_{1/2} = 88,9 \text{ h}$, $E_{\beta\text{máx}} = 1,07 \text{ MeV}$ (73%), $0,93 \text{ MeV}$ (23%), $E_{\gamma} = 0,14 \text{ MeV}$), érbio-169 ($t_{1/2} = 9,0 \text{ d}$, $E_{\beta\text{máx}} = 0,34 \text{ MeV}$ (58%), $E_{\beta\text{máx}} = 0,33 \text{ MeV}$ (42%), $E_{\gamma} = 8,4 \text{ KeV}$ (42%)) e lutécio-177 ($t_{1/2} = 6,8 \text{ d}$, $E_{\beta\text{máx}} = 0,50 \text{ MeV}$ (90%), $0,17 \text{ MeV}$ (6,7%), $E_{\gamma} = 0,21 \text{ MeV}$ (6%) e $0,11 \text{ MeV}$ (3%))⁽³²⁾.

Além dos colóides já mencionados, também é muito usado em Medicina o tecnécio-99m coloidal^(24,39).

1.2 – Aplicações e Características Específicas do Ouro-198 Coloidal

O ouro radioativo (^{198}Au) na forma de colóide cujas partículas têm diâmetro médio de 300 \AA vem sendo comumente empregado para inúmeros fins terapêuticos e diagnósticos, por causa de suas propriedades físicas e químicas favoráveis. Assim, é usado extensivamente em tratamento de tumores intracavitários (pleura e peritônio), em casos de câncer dos ovários⁽³³⁾ e diagnóstico da função hepática. O colóide é administrado por meio de injeções intravasculares (intra venosa ou intra arterial), injeções intracavitárias (intra peritoneal e intra pleural) e muitas vezes injeções intersticiais ou diretamente no tumor⁽⁴⁾.

Para uso em medicina, o ouro coloidal radioativo deve corresponder ao máximo às características específicas seguintes:

- a) Grande estabilidade para evitar o fenômeno de floculação.
- b) Deve ser utilizado com atividades específicas altas para permitir a injeção em pequenos volumes.
- c) Ausência de produtos nocivos. Deve ser preparado a partir de um elemento fisiologicamente inofensivo e esterilizado no final da preparação.
- d) pH entre 5 – 7.
- e) Ausência de partículas pequenas (diâmetro inferior a 30 Å) que podem se difundir nos tecidos.
- f) Baixo conteúdo de íons áuricos (menor do que 2%)⁽²³⁾, que passam rapidamente à circulação.
- g) Partículas de dimensões regulares e com diâmetro médio de 300 Å, de modo a garantir uma distribuição uniforme no órgão ou cavidade em que é introduzido.

O tamanho das partículas coloidais é um requisito importante no emprego do ouro coloidal radioativo, por isso muitas técnicas foram desenvolvidas no sentido de melhorar a determinação de suas dimensões. Entre esses métodos destacam-se aqueles nos quais se utiliza a microscopia eletrônica^(26,38,41,43), a espectrofotometria^(7,10), a ultra centrifugação^(14,19,49), os raios-X^(7,27,28,47,48) e a ultra filtração⁽¹²⁾.

A Tabela 1.1 apresenta os radioisótopos do ouro, suas características físicas e modos de formação. De todos os isótopos radioativos, aquele que apresenta características favoráveis para o uso em medicina é o ouro-198 e além disso, pode ser obtido facilmente em reatores nucleares.

O ouro radioativo (^{198}Au) decai por emissão de partículas beta com meia vida de 2,697 dias. O decaimento se dá por espectros beta de $E_{\text{máx.}} = 0,290 \text{ MeV}$ (1,1%) e $0,961 \text{ MeV}$ (98,9%) ao nível de excitação de 1,088 e 0,412 MeV do mercúrio (^{198}Hg) respectivamente e, por um espectro beta de $E_{\text{máx.}} = 1,372 \text{ MeV}$ (0,03%) ao nível fundamental do mercúrio-198. Emite também três raios gama de $0,412$ (99,8%), $0,676$ (0,9%) e $1,088 \text{ MeV}$ (0,16%)⁽²³⁾.

O alcance máximo da radiação beta no tecido ou na água é 3,8 mm e o alcance médio é 1 mm⁽⁴⁾. Portanto, por causa de seu alcance pequeno o ouro-198 pode produzir um efeito considerável sobre tumores no tecido sem causar um dano excessivo na estrutura normal que o circunda.

1.3 – Objetivos

O ouro coloidal radioativo com partículas de 300 Å vem sendo produzido, rotineiramente, no Instituto de Energia Atômica. O método usado é aquele de A. M. Del Turco e R. Pietra⁽⁴⁰⁾ e R. Henry e col.⁽²¹⁾, que partem do ouro coloidal com partículas de diâmetro médio de 50 Å servindo de "germe" para o crescimento do colóide. Mesmo obedecendo às condições experimentais apresentadas por esses pesquisadores para se obter partículas com diâmetro médio 300 Å, verificou-se, algumas vezes, que na curva de distribuição apareciam partículas com diâmetro inferior a 100 Å (Figuras 1.1 e 1.2).

Todos os germes apresentavam-se com partículas uniformes, conforme mostram a eletromicrografia (Figura 1.3) e a curva de distribuição (Figura 1.4), não podendo ser o germe o responsável pela formação irregular do colóide de 300 Å.

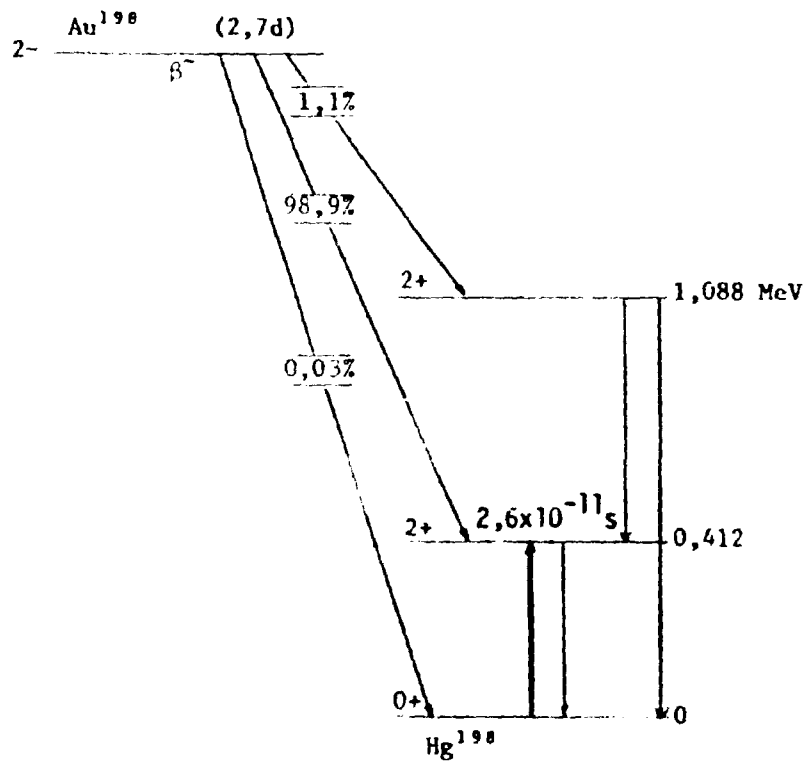
Tabela I.1
Nuclídeos Radioativos do Ouro^(18,34)

Isótopo	Meia-Vida	Modo de Decaimento e Energia das Radiações Emitidas (MeV)	Modos de Obtenção
¹⁸⁶ Au	15,0 min	CE	
¹⁸⁸ Au	4,5 min	CE	
¹⁸⁹ Au	42 min	CE $\gamma = 0,29, 0,135$	
¹⁹¹ Au	3,0 h	CE $\gamma = 0,30, 0,14, 0,60, 0,048, 0,48$	¹⁹¹ Ir($\alpha,4n$) ¹⁹¹ Au ¹⁹² Pt(d,3n) ¹⁹¹ Au
¹⁹² Au	4,8 h	CE $\beta^+ = 2,2$ $\gamma = 0,316, 0,296, 0,045, 1,16$	¹⁹¹ Ir($\alpha,3n$) ¹⁹² Au ¹⁹² Pt(d,2n) ¹⁹² Au
^{193m} Au	4,0 s	TI $\gamma = 0,258, 0,032, 0,29$	¹⁹⁵ Ir($\alpha,2n$) ^{193m} Au ¹⁹² Pt(d,n) ^{193m} Au
¹⁹³ Au	17,0 h	CE $\gamma = 0,186, 0,112, 0,256, 0,174, 0,013, 0,49$	¹⁹⁴ Pt(d,3n) ¹⁹³ Au
¹⁹⁴ Au	39 h	CE $\beta^+ = 1,49$ $\gamma = 0,328, 0,293, 0,10, 2,3$	¹⁹³ Ir($\alpha,3n$) ¹⁹⁴ Au ¹⁹⁴ Pt(d,2n) ¹⁹⁴ Au ¹⁹⁵ Pt(d,3n) ¹⁹⁴ Au ¹⁹⁴ Pt(p,n) ¹⁹⁴ Au
^{195m} Au	31,0 s	TI $\gamma = 0,318, 0,216, 0,057$	
¹⁹⁵ Au	180,0 d	CE e CI $\gamma = 0,099, 0,031, 0,130$	¹⁹³ Ir($\alpha,2n$) ¹⁹⁵ Au ¹⁹⁴ Pt(d,n) ¹⁹⁵ Au ¹⁹⁶ Pt(d,3n) ¹⁹⁵ Au ¹⁹⁵ Pt(p,n) ¹⁹⁵ Au
^{196m} Au	14,0 h	CE ou TI	¹⁹⁷ Au(n,2n) ^{196m} Au
¹⁹⁶ Au	5,6 d	CE e CI $\gamma = 0,354, 0,331, 0,43$ $\beta^- = 0,27$	¹⁹⁴ Pt(d,n) ¹⁹⁶ Au ¹⁹⁷ Au(n,2n) ¹⁹⁶ Au ¹⁹⁷ Au(γ,n) ¹⁹⁶ Au

continua...

continuação

Isótopo	Meia-Vida	Modo de Decaimento e Energia das Radiações Emitidas (MeV)	Modos de Obtenção
^{197m}Au	7,3 s	TI, CI $\gamma = 0,297, 0,130, 0,41$	$^{197}\text{Au}(\gamma,\gamma)^{197m}\text{Au}$ $^{197}\text{Au}(n,n)^{197m}\text{Au}$
^{198}Au	2,7 d	CI $\beta^- = 0,96, 0,28$ $\gamma = 0,412, 0,69, 1,09$	$^{197}\text{Au}(n,\gamma)^{198}\text{Au}$ $^{198}\text{Au}(n,p)^{198}\text{Au}$
^{199}Au	3,15 d	$\beta^- = 0,3, 0,25, 0,46$ $\gamma = 0,158, 0,208, 0,05$	$^{198}\text{Pt}(d,n)^{199}\text{Au}$ $^{199}\text{Hg}(n,p)^{199}\text{Au}$ $^{199}\text{Au}(n,\gamma)^{199}\text{Au}$
^{200}Au	48,0 min	$\beta^- = 2,2, 0,7$ $\gamma = 1,23, 0,37, 1,8$	$^{200}\text{Hg}(n,p)^{200}\text{Au}$
^{201}Au	26,0 min	$\beta^- = 1,5$ $\gamma = 0,55$	$^{202}\text{Hg}(\gamma,p)^{201}\text{Au}$ $^{201}\text{Hg}(n,p)^{201}\text{Au}$
^{202}Au	0,4 min	β^- ou TI	$^{202}\text{Hg}(n,p)^{202}\text{Au}$
^{203}Au	55,0 s	$\beta^- = 1,9$ $\gamma = 0,69$	$^{204}\text{Hg}(n,np)^{203}\text{Au}$ $^{205}\text{Hg}(\gamma,np)^{203}\text{Au}$
<p>CE = CAPTURA ELETRÔNICA CI = CONVERSÃO INTERNA TI = TRANSIÇÃO ISOMÉRICA</p>			

Esquema de Decaimento⁽³⁴⁾

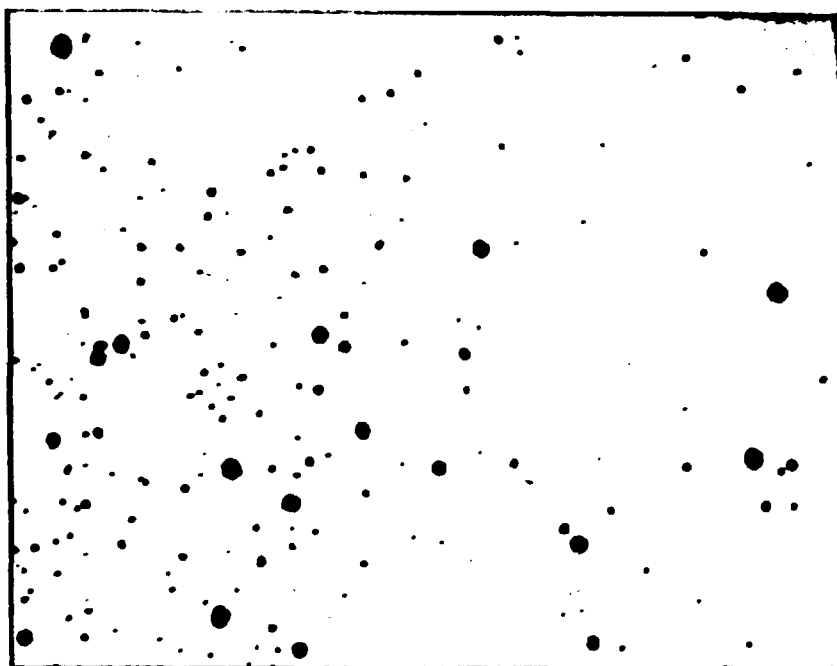


Figura 1.1 – Eletromicrografia Apresentando o Aspecto de um Colóide de Ouro com Partículas de Dimensões Irregulares. (x 84000)

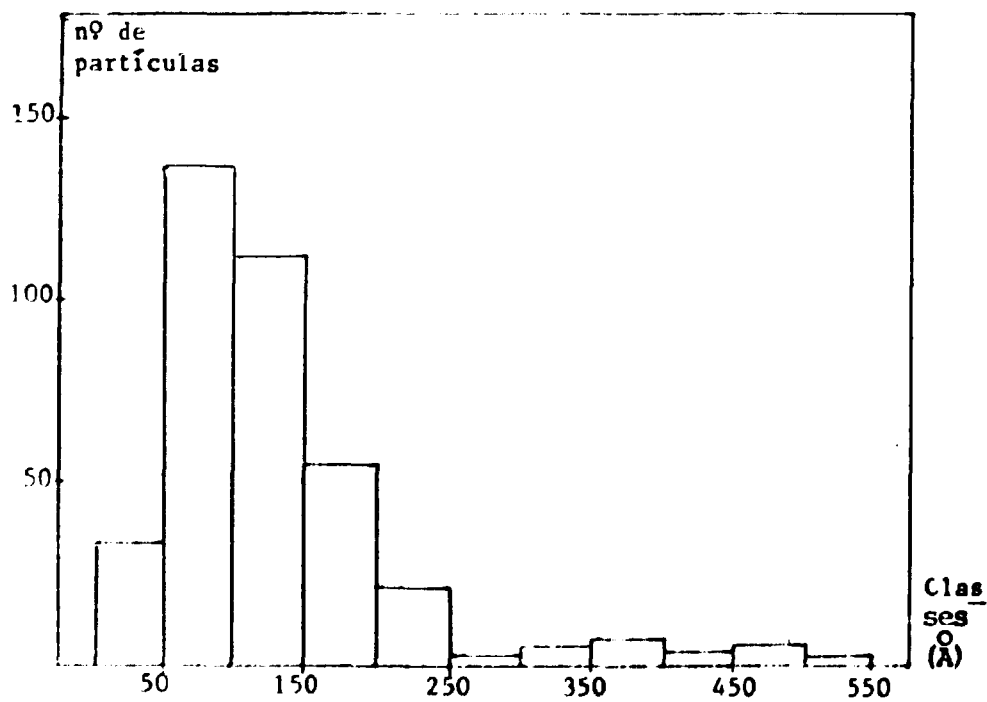


Figura 1.2 – Curva de Distribuição das Partículas do Colóide Referente à Figura 1.1
Diâmetro Médio = (132 ± 91) Å

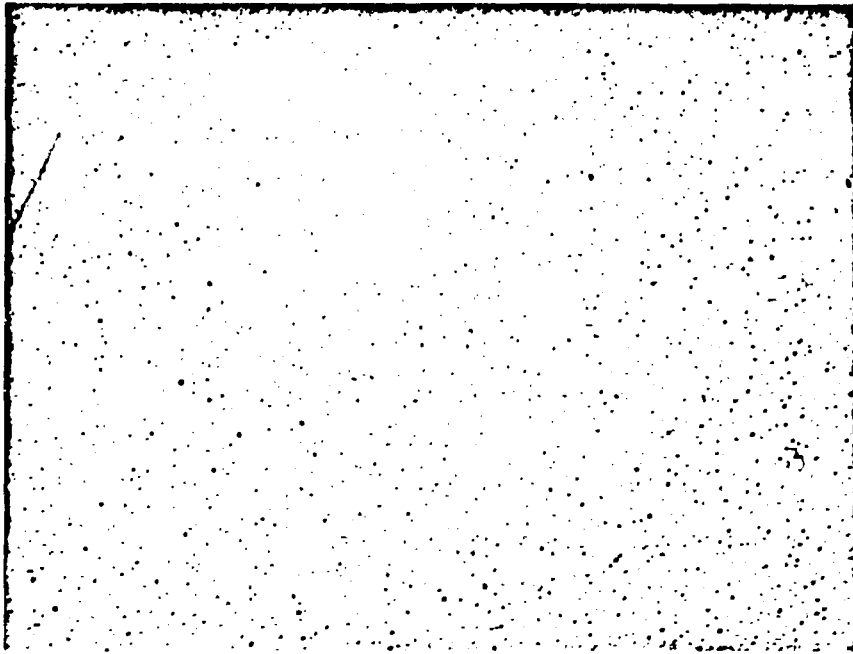


Figura 1.3 – Eletromicrografia Apresentando o Aspecto do Germe (x 84000).

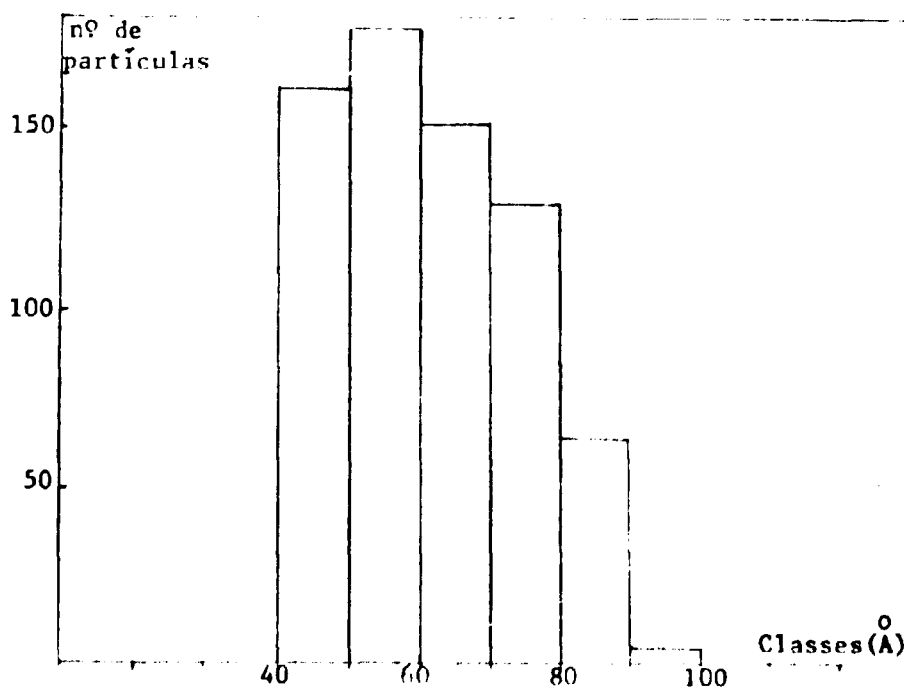


Figura 1.4 – Curva de Distribuição das Partículas do Germe Referente à Figura 1.3. Diâmetro Médio das Partículas = $(62 \pm 13)\text{Å}$

Este trabalho objetiva, portanto, estudar as causas de má distribuição das partículas do colóide de 300 Å e para isso analisa-se os seguintes fatores:

- a) Evaporação da solução de ácido cloroaurico para posterior transformação em cloroaurato de sódio.
- b) Gotejamento da solução de cloroaurato de sódio sobre a solução redutora de gelatina e germe para a formação do colóide com partículas de 300 Å.
- c) Temperatura durante o gotejamento.
- d) Agitação durante o gotejamento.

Estuda-se a estabilidade do colóide em relação ao pH do produto final, em relação à diluição em solução fisiológica e no decorrer do tempo após a sua preparação.

Estuda-se também, por espectrofotometria, o progresso da formação dos colóides com partículas de 50 e de 300 Å.

O produto final é examinado quanto à pureza radioativa e radioquímica e as dimensões das partículas são determinadas por microscopia eletrônica.

Por último, analisa-se o comportamento biológico do colóide com partículas de 300 Å.

O trabalho em questão tem também por finalidade simplificar a metodologia de preparação, usando-se copos de laboratório e evaporando-se à pressão ambiente a solução de ácido cloroaurico, o que é normalmente feito à pressão reduzida (100 mmHg)^(14,21,40).

CAPÍTULO II

MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DO OURO-198 COLOIDAL

Os métodos clássicos de preparação do ouro coloidal baseiam-se na redução de uma solução de um sal de ouro por agentes redutores, a saber: monóxido de carbono, acetileno, formaldeído e fósforo⁽¹⁶⁾.

Estes agentes redutores são fisiologicamente tóxicos e também não produzem partículas coloidais uniformes, por isso não são empregados na preparação do ouro coloidal para fins medicinais.

Os colóides de ouro radioativo, para uso médico, têm sido preparados usando-se glicose ou ácido ascórbico como agente redutor e gelatina como estabilizador^(11,15,21,31,40).

Este trabalho baseou-se no método de A. M. Del Turco e R. Pietra⁽⁴⁰⁾ e no método desenvolvido por R. Henry, C. Herczeg e C. Fischer⁽²¹⁾. Henry, em seus experimentos, considerou os dados de Turkevich⁽⁴⁵⁾ que separa duas fases distintas durante a formação do colóide: nucleação e crescimento. Esta técnica foi elaborada por Zsigmondy⁽⁵⁰⁾ em 1.906 e estudada cineticamente por Turkevich e col.⁽⁴²⁾ em 1.951.

Nucleação ou Germinação

A germinação ou nucleação consiste na preparação de um germe por redução do ácido cloroáurico com glicose e estabilizado com gelatina. A glicose é aquecida com hidróxido de sódio sendo hidrolisada em ácido láctico e aldeído pirúvico⁽²¹⁾, que são mais redutores que a própria glicose. Usa-se a glicose como redutor pois esta fase requer um potencial de redução elevado. No final da preparação o produto é autoclavado.

As partículas do germe têm diâmetro médio de 50 Å e servem como "agentes de nucleação" na preparação do colóide radioativo de 300 Å.

A verificação das dimensões das partículas do germe é feita com o auxílio da microscopia eletrônica, que permite a eliminação de preparações insatisfatórias, garantindo-se assim a regularidade dos colóides que se formam a partir dos germes.

Crescimento

O crescimento consiste na preparação do colóide final com partículas ao redor de 300 Å. O ácido cloroáurico é neutralizado a cloroaurato de sódio e este é reduzido por solução de gelatina contendo o germe. Terminada a preparação o colóide é autoclavado.

Nesta fase o germe age como um núcleo de crescimento do ouro e auxilia na obtenção de um sistema coloidal com partículas de dimensões uniformes. A gelatina atua como redutora e estabilizadora do meio.

Henry e colaboradores⁽²¹⁾ atribuem a ação redutora da gelatina aos grupos amino e guanidino presentes na molécula.

Iya, Gopal e Chaudhary⁽²⁵⁾ mostraram que a solução de gelatina, quando autoclavada, sofre uma degradação parcial e os produtos resultantes são responsáveis pela redução inicial do Au^{3+} a Au^{1+} durante e imediatamente após a adição de cloroaurato de sódio à mistura redutora. Esses autores provaram ainda que o Au^{3+} e o Au^{1+} permanecem em solução por um período muito pequeno e em menos de cinco minutos o Au^{3+} se reuz a Au^{1+} e posteriormente a Au^0 .

De acordo com Iya e colaboradores⁽²⁶⁾ a estabilização de colóides de ouro pela gelatina deve-se à ionização de grupos carboxílicos livres das moléculas de gelatina, em pH acima do seu ponto isoelétrico.

Veljković e Stevović⁽⁴⁶⁾ estudaram a estabilização do ouro-198 coloidal e mostraram que ácidos orgânicos policarboxílicos podem, em parte, substituir a gelatina como estabilizador, pois a presença de grupos carboxílicos nas proximidades aumenta o efeito estabilizante.

Para se obter colóides com partículas de tamanhos uniformes é aconselhável que as duas fases (nucleação e crescimento) sejam separadas e sucessivas. Isto é importante pois não há crescimento, enquanto a germinação estiver ocorrendo.

Além da distribuição uniforme do tamanho das partículas, o método de formação do colóide pela introdução de um germe apresenta outra vantagem: a glicose não é usada como redutor durante o crescimento, há portanto eliminação de todos os seus produtos de hidrólise e oxidação que são tóxicos e causam grande diminuição no pH do meio. Os produtos de oxidação da gelatina não são tóxicos exceto seus grupamentos amidas que são parcialmente hidrolisáveis. É para evitar esta desvantagem, que se adiciona à mistura redutora o cloroaurato de sódio em lugar de ácido cloroáurico na fase de crescimento do colóide.

Outro método de preparação do ouro coloidal é descrito por Hudswell e colaboradores⁽²²⁾, que não utiliza separadamente a nucleação e o crescimento e emprega a glicose como redutor. À medida que um certo número de partículas vão se formando outras vão crescendo, de modo que suas dimensões se tornam irregulares. Além disso, o meio não proporciona uma redução constante⁽²¹⁾ sendo este mais um motivo para que o colóide não apresente partículas de tamanhos uniformes.

Apesar de ser nulo o conteúdo de ouro iônico no meio, pelo método de Hudswell⁽²²⁾, preferimos utilizar aquele de Henry⁽²¹⁾ que leva à formação de um sistema coloidal com partículas de dimensões uniformes. Em nosso trabalho estudam-se todos os parâmetros físico-químicos com a finalidade de se obter um sistema coloidal adequado para uso em medicina e com teor baixo de ouro iônico.

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

III.1 – Reagentes, Equipamentos e Vidraria

III.1.1 – Reagentes

Ouro metálico, pureza 99,99%, Vecambrás, nacional.

Ácido Nítrico, analítico, Merck, procedência alemã.

Ácido Clorídrico, analítico, Merck, procedência alemã.

D(+) Glicose Anidra, analítico, Carlo Erba, procedência italiana.

Ácido Ascórbico, Merck, procedência alemã.

Gelatina, Prolabo, procedência francesa.

Hidróxido de sódio, analítico, Carlo Erba, nacional.

Cloreto de sódio, analítico, Carlo Erba, nacional.

III.1.2 – Equipamentos

Agitador magnético, METROHM, Tipo E349A; barra magnética com as dimensões: 2,5 x 0,5 cm.

Espectrofotômetro UV-VIS, PERKIN-ELMER, Modelo Coleman 139.

Medidor de pH METROHM HERISAU, Modelo E350B.

Câmara de Ionização, Mediac, Nuclear Chicago, Modelo 6362.

Termômetro de mercúrio, escala (-10 a 150°C), precisão 1°C, JUMO, procedência alemã.

III.1.3 – Vidraria

Todo material utilizado é fabricado em vidro "pyrex".

III.2 – Preparação do Germe

III.2.1 – Preparação do Ácido Cloroáurico

Dissolvem-se 100 mg de ouro metálico com um ml de água régia (1 volume de ácido nítrico concentrado: 3 volumes de ácido clorídrico concentrado) em um copo de laboratório, aquecendo-se em banho maria. A dissolução se dá entre 9 – 15 minutos. A solução de ácido cloroáurico é evaporada à pressão ambiente, tomando-se cuidado para que a temperatura da solução não atinja 100°C a fim de evitar a decomposição do produto.

O ácido cloroáurico assim obtido, apresenta-se como cristais amarelos em forma de agulhas. Os cristais são dissolvidos em 100 ml de água bidestilada.

III.2.2 – Redução do Ácido Cloroáurico

Ao mesmo tempo em que se forma o ácido cloroáurico, prepara-se a solução redutora, constituída por: 5,6 g de glicose, 4 ml de gelatina 20% (P/V) e 10 ml de água bidestilada, que são aquecidos em um copo "pyrex", mantendo-se essa mistura sob agitação constante. Quando a temperatura atinge 80 – 82°C, adiciona-se 1,2 ml de hidróxido de sódio 4,5 N. Após cinco minutos inicia-se o gotejamento da solução de ácido cloroáurico (filtrada a vácuo em placa porosa G4) sobre a mistura redutora, que deve continuar sob agitação e temperatura constantes.

Terminado o gotejamento, o recipiente contendo o ácido cloroáurico é lavado com três ml de água bidestilada que são adicionados gota a gota à mistura redutora. Continua-se a agitação por vinte minutos.

O colóide assim obtido com partículas de 50 Å (germe) é esterilizado à 130°C durante vinte minutos e analisado em microscópio eletrônico.

III.3 – Preparação do Colóide Radioativo com Partículas de 300 Å

III.3.1 – Preparação do Alvo

Para alvo utilizam-se lâminas de ouro metálico, pureza 99,99%.

100 mg de ouro são colocados em recipiente cilíndrico de alumínio de 1,0 cm x 3,0 cm e fechado com tampa rosqueada. O alvo é irradiado durante uma hora na posição 27, prateleira 8, do reator IEAR-1, onde o fluxo de nêutrons térmicos é 4×10^{12} n/cm².seg.

III.3.2 – Preparação do Cloroaurato de Sódio

Primeiramente, prepara-se o ácido cloroáurico conforme especificações contidas no item III.2.1. Em seguida, neutraliza-se o ácido com hidróxido de sódio 1N ($\approx 2,2$ ml) até pH 12. Esta solução é filtrada a vácuo em placa porosa G4.

III.3.3 – Formação do Colóide

Nesta fase, o cloroaurato de sódio obtido em III.3.2 é gotejado à mistura redutora composta por 4 ml de gelatina 20%, 0,17 ml do germe preparado conforme o item III.2 e 10 ml de água bidestilada.

Para início do gotejamento, a solução redutora deve estar à temperatura de 80 – 82°C e sob agitação constante.

Terminado o gotejamento lava-se o recipiente com três ml de água bidestilada e adiciona-se gota a gota à mistura redutora. Posteriormente, adicionam-se dois ml de ácido ascórbico 10%.

Agita-se por mais vinte minutos e esteriliza-se o colóide a 130°C durante vinte minutos.

O produto é analisado em microscópio eletrônico.

O volume final é 32 ml e as características do colóide são:

- a) dimensão das partículas: diâmetro médio de 300 Å.
- b) pH final: 5 – 7.
- c) concentração em ouro: 3,1 mg Au/ml.
- d) concentração radioativa: 0,10 – 0,27 mCi/ml.
- e) cor: violeta.

Na Figura 3.5 apresenta-se o esquema da aparelhagem usada nas preparações do germe e do colóide radioativo.

III.4 – Estudo dos Parâmetros que Podem Afetar a Formação de Partículas com Tamanhos Regulares (Diâmetro Médio 300 Å)

Conforme citado no item I.3, estudaram-se durante a preparação do colóide com partículas de 300 Å os fatores seguintes:

- a) Temperatura de evaporação da solução de ácido clorídrico para posterior transformação em cloroaurato de sódio.
- b) Gotejamento da solução de cloroaurato de sódio sobre a solução redutora de gelatina e germe.
- c) Agitação durante o gotejamento.
- d) Temperatura da mistura redutora durante o gotejamento.

III.4.1 – Estudo da Temperatura de Evaporação da Solução de Ácido Clorídrico

Fizeram-se experimentos variando-se a temperatura de evaporação do ácido clorídrico de $(85 \pm 1)^\circ\text{C}$ a $(98 \pm 1)^\circ\text{C}$, mantendo-se constantes a vazão, a agitação e a temperatura durante o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio à mistura redutora.

Os resultados apresentam-se na Tabela III.2.

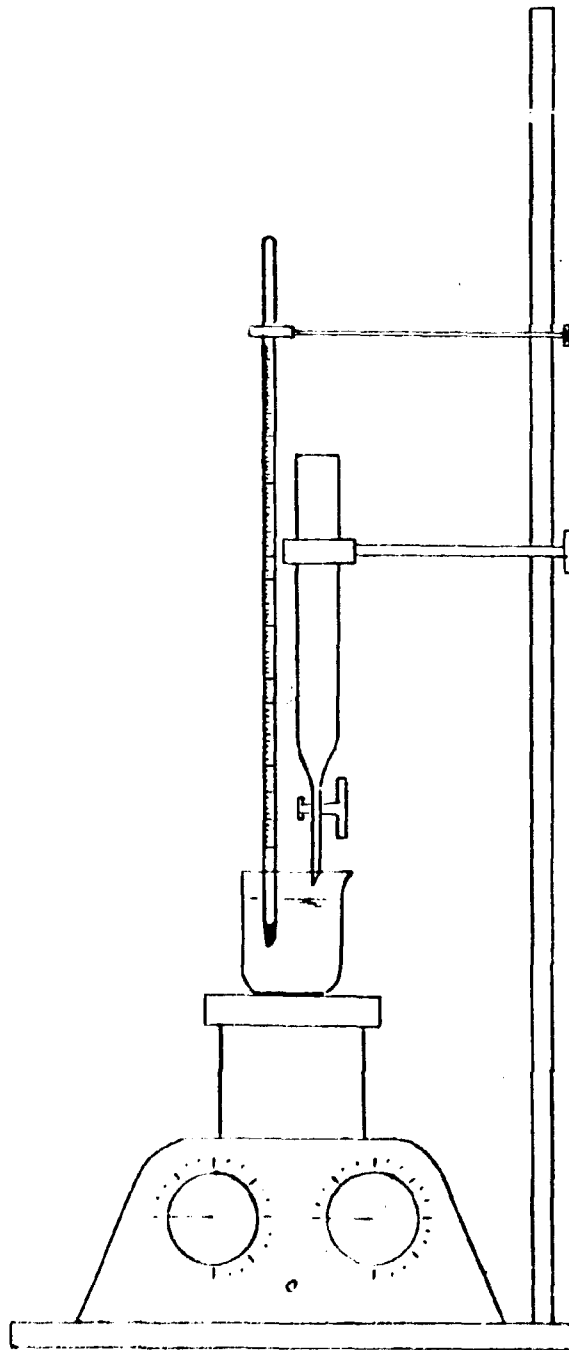


Figura 3.5 - Esquema da Aparelhagem Utilizada na Preparação e no Crescimento do Germe (50 Å) para Obtenção do Colóide com Partículas de (300 Å)

III.4.2 – Variação da Vazão da Solução de Cloroaurato de Sódio sobre a Mistura Redutora

Fizeram-se experimentos variando-se a vazão da solução de cloroaurato de sódio, mantendo-se constantes a temperatura de evaporação do ácido cloroáurico, a agitação e a temperatura da solução redutora durante o gotejamento.

Utilizou-se para o gotejamento uma bureta de vidro "pyrex", cujo volume da gota de ouro coloidal é 0,05 ml, aproximadamente.

A Tabela III.3 mostra os resultados dos experimentos.

III.4.3 – Estudo da Influência da Agitação da Mistura Redutora Durante o Gotejamento do Cloroaurato de Sódio

Fizeram-se experimentos variando-se a agitação da mistura redutora mantendo-se constantes a temperatura de evaporação do ácido cloroáurico e a temperatura durante o gotejamento. A vazão da solução de cloroaurato de sódio permaneceu constante em duas a duas experiências.

Os resultados apresentam-se na Tabela III.4.

III.4.4 – Estudo da Temperatura da Mistura Redutora Durante o Gotejamento da Solução de Cloroaurato de Sódio

Nesta fase, variou-se a temperatura durante o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio sobre a mistura redutora e foram mantidos fixos os demais parâmetros, a saber: temperatura de evaporação do ácido cloroáurico, agitação durante o gotejamento e vazão da solução de cloroaurato de sódio.

A Tabela III.5 mostra os resultados obtidos.

III.5 – Influência da Diluição, Tempo e pH na Estabilidade do Colóide

Esta fase teve por finalidade verificar se tais parâmetros alteram as características iniciais do sistema coloidal.

III.5.1 – Estudo da Diluição do Colóide

Inicialmente, preparou-se o colóide nas condições experimentais seguintes:

- a) Temperatura de evaporação do ácido cloroáurico: $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- b) Temperatura da solução redutora durante o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio: $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- c) Agitação durante o gotejamento: 140 rpm.
- d) Vazão da solução de cloroaurato de sódio: (28 ± 1) gotas por minuto.

O pH final do produto foi 8,3. Analisou-se o produto em microscópio eletrônico Carl Zeiss, modelo EM9S, e o aspecto foi satisfatório (Figura 3.6).

Tabela III.2

Variação da Temperatura de Evaporação da Solução de Ácido Cloroáurico

Exp.	Evaporação da solução de ác. cloroáurico.	Gotejamento da sol. de cloroaurato de sódio			pH final	Diâmetro Médio \pm Desvio padrão
Nº	T(°C)	V (gotas/min.)	Ag. (rpm)	T(°C)		(Å)
1	85 \pm 1	27 \pm 1	310	80 \pm 2	5,3	225 \pm 34
2	85 \pm 1	27 \pm 1	310	80 \pm 2	5,4	281 \pm 24
3	90 \pm 2	27 \pm 1	310	80 \pm 2	5,9	234 \pm 37
4	90 \pm 2	27 \pm 1	310	80 \pm 2	6,0	282 \pm 38
5	98 \pm 1*	—	—	—	—	—
6	98 \pm 1*	—	—	—	—	—

* Decomposição do ácido cloroáurico.

Tabela III.3

Variação da Vazão da Solução de Cloroaurato de Sódio sobre a Mistura Redutora

Exp.	Evaporação da solução de ác. cloroáurico.	Gotejamento da sol. de cloroaurato de sódio			pH final	Diâmetro Médio \pm Desvio padrão
Nº	T(°C)	V (gotas/min.)	Ag. (rpm)	T(°C)		(Å)
1	90 \pm 2	16 \pm 1	310	80 \pm 2	4,8	409 \pm 69
2	90 \pm 2	16 \pm 1	310	80 \pm 2	4,1	485 \pm 97
3	90 \pm 2	22 \pm 1	310	80 \pm 2	6,6	364 \pm 62
4	90 \pm 2	22 \pm 1	310	80 \pm 2	7,3	376 \pm 205
5	90 \pm 2	22 \pm 1	310	80 \pm 2	4,6	308 \pm 123
6	90 \pm 2	27 \pm 1	310	80 \pm 2	6,4	185 \pm 21
7	90 \pm 2	27 \pm 1	310	80 \pm 2	5,0	324 \pm 34
8	90 \pm 2	27 \pm 1	310	80 \pm 2	6,5	293 \pm 33

Tabela III.4

Varição da Agitação da Mistura Redutora Durante o Gotejamento da Solução de Cloroaurato de Sódio

Exp.	Evaporação da solução de ác. cloroáurico.	Gotejamento da sol. de cloroaurato de sódio			pH final	Diâmetro Médio \pm Desvio padrão
Nº	T(°C)	V (gotas/min.)	Ag. (rpm)	T(°C)	(A)	
1	90 \pm 2	22 \pm 2	310	80 \pm 2	6,5	364 \pm 62
2	90 \pm 2	22 \pm 2	140	80 \pm 2	6,0	309 \pm 35
3	90 \pm 2	26 \pm 1	310	80 \pm 2	6,8	346 \pm 41
4	90 \pm 2	26 \pm 1	140	80 \pm 2	5,9	290 \pm 29
5	90 \pm 2	28 \pm 1	310	80 \pm 2	6,8	276 \pm 34
6	90 \pm 2	28 \pm 1	140	80 \pm 2	5,6	288 \pm 31

Tabela III.5

Varição da Temperatura da Mistura Redutora Durante o Gotejamento da Solução de Cloroaurato de Sódio

Exp.	Evaporação da solução de ác. cloroáurico.	Gotejamento da sol. de cloroaurato de sódio			pH final	Diâmetro Médio \pm Desvio padrão
Nº	T(°C)	V (gotas/min.)	Ag. (rpm)	T(°C)	(A)	
1	90 \pm 2	26 \pm 1	140	80 \pm 2	5,5	274 \pm 39
2	90 \pm 2	26 \pm 1	140	80 \pm 2	6,0	261 \pm 23
3	90 \pm 2	26 \pm 1	140	78 \pm 1	5,5	285 \pm 37
4	90 \pm 2	26 \pm 1	140	75 \pm 1	5,8	320 \pm 21

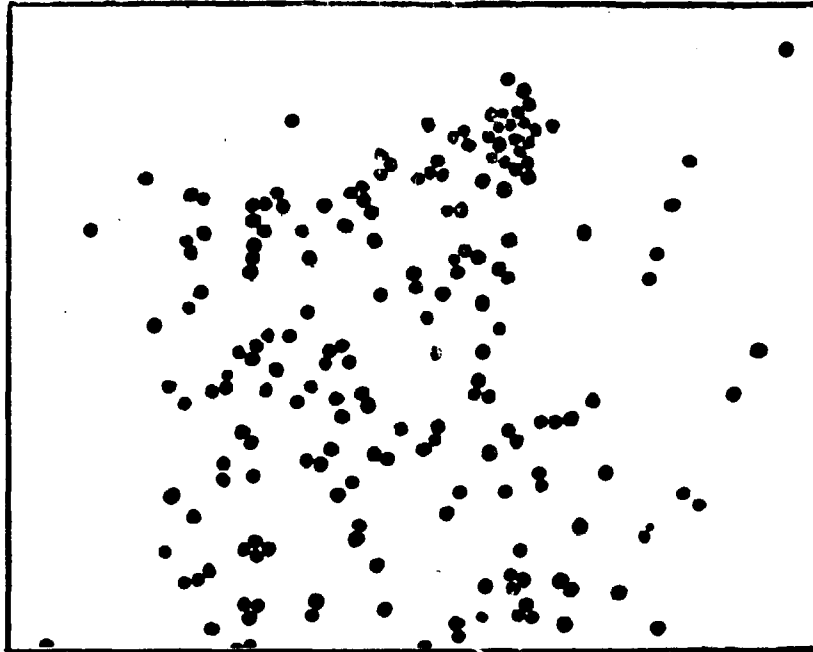


Figura 3.6 – Eletronmicrografia Apresentando o Aspecto do Colóide de Ouro, sem Adição de Solução Fisiológica, Logo Após sua Preparação. (x 84000)

Posteriormente, diluíram-se amostras desse colóide em solução fisiológica nas proporções 1:5 e 1:10 e analisou-se em microscópio eletrônico (Figuras 3.7 e 3.8).

III.5.2 – Influência do Tempo na Estabilidade do Colóide

Amostras de ouro coloidal (preparado conforme o item III.5.1), conservadas em temperatura ambiente por dois meses após sua preparação, foram observadas em microscópio eletrônico.

As Figuras 3.9 e 3.10 mostram o aspecto do colóide logo após a preparação e após dois meses, respectivamente.

III.5.3 – Estudo do pH Final do Colóide

É fato observado que se a preparação do colóide é efetuada em condições tais que o pH final do produto seja superior a 8, não se tem mais distribuição uniforme das partículas⁽⁴⁰⁾.

Neste trabalho fizeram-se preparações nas quais adicionou-se hidróxido de sódio 1N ao ácido clorídrico (item III.3.2) de tal maneira que o produto final atingisse pH = 9,5. A Figura 3.11 apresenta o resultado deste colóide.

Outros experimentos foram desenvolvidos nos quais o pH do produto final variou entre 4,1 e 7,3. As Figuras 3.12, 3.13 e 3.14 mostram o aspecto de alguns desses colóides.

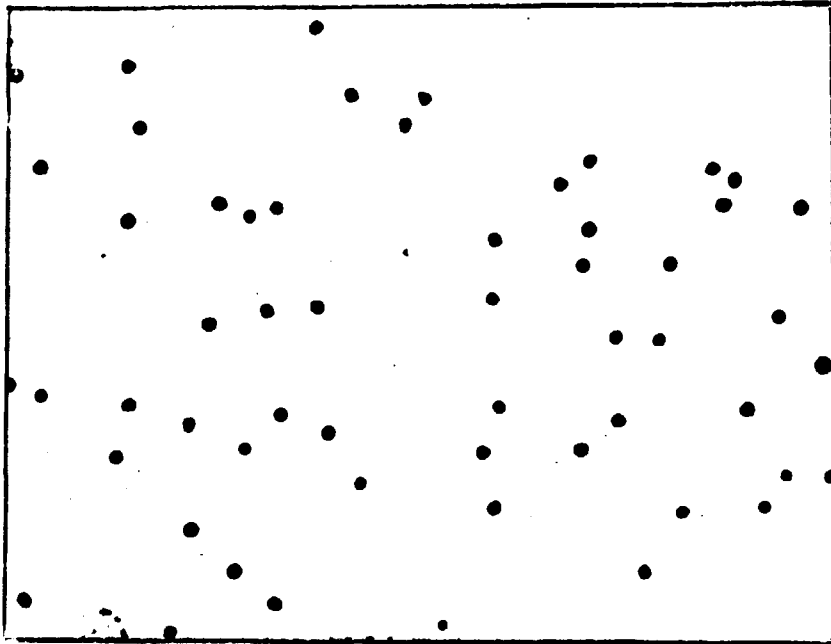


Figura 3.7 -- Eletromicrografia do Colóide Diluído 1:5 em Solução Fisiológica (x 84000)

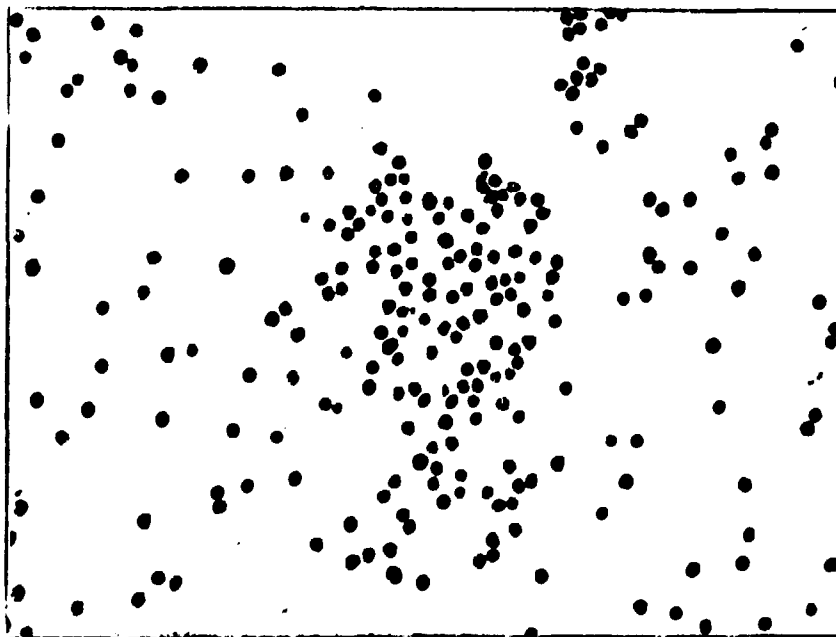


Figura 3.8 -- Eletromicrografia do Colóide Diluído 1:10 com Solução Fisiológica (x 84000)

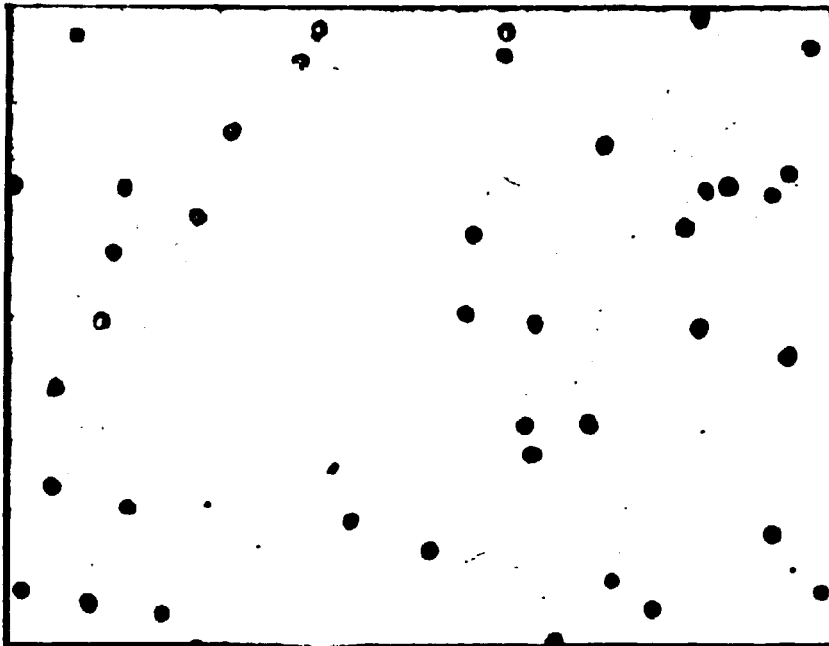


Figura 3.9 – Eletronmicrografia do Colóide de Ouro Logo Após a sua Preparação (x 84000)

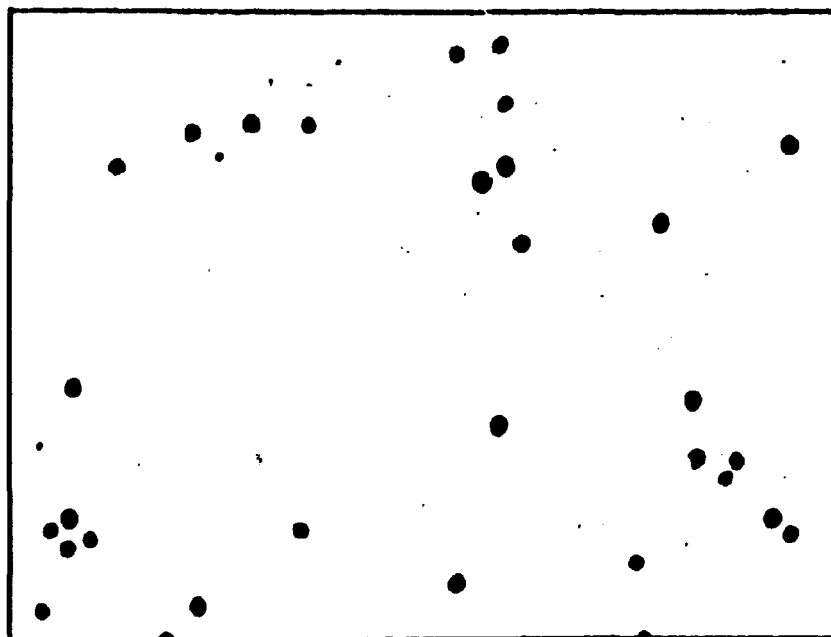


Figura 3.10 – Eletronmicrografia do Colóide de Ouro dois Meses Após sua Preparação (x 84000)

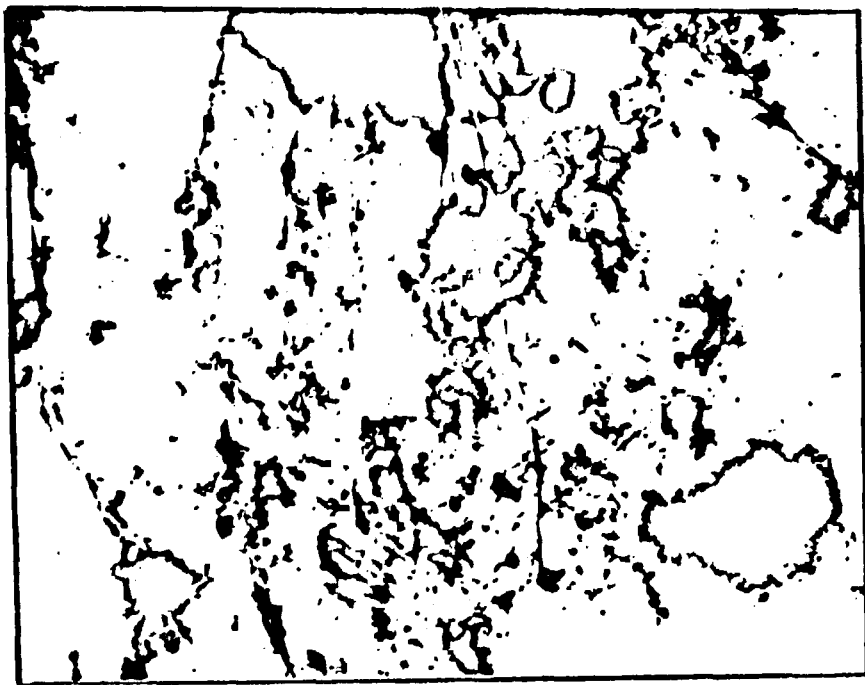


Figura 3.11 – Eletromicrografia do Ouro Coloidal em pH 9,5 ($\times 84000$)

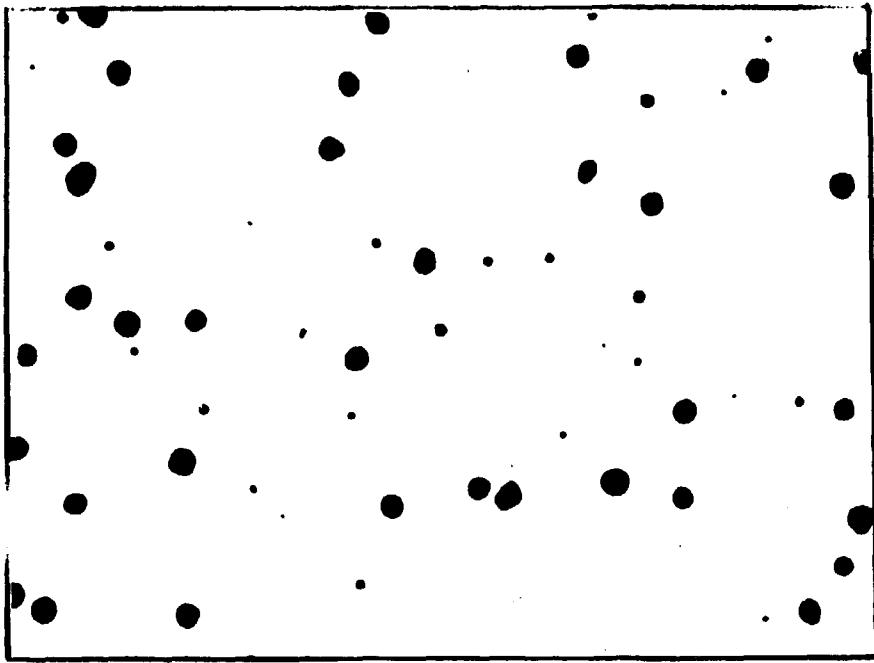
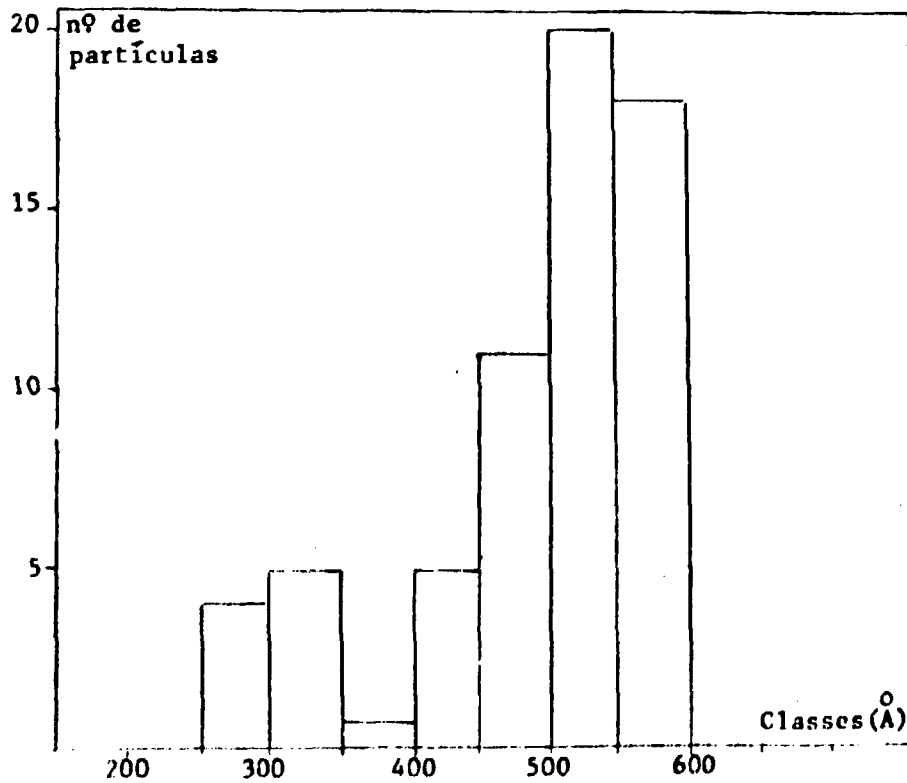


Figura 3.12 - Eletronmicrografia do Ouro Coloidal em pH 4,1 (x 84000)



Curva de Distribuição das Partículas do Colóide Referente à Figura 3.12
 Diâmetro Médio = $(485 \pm 97) \text{ \AA}$

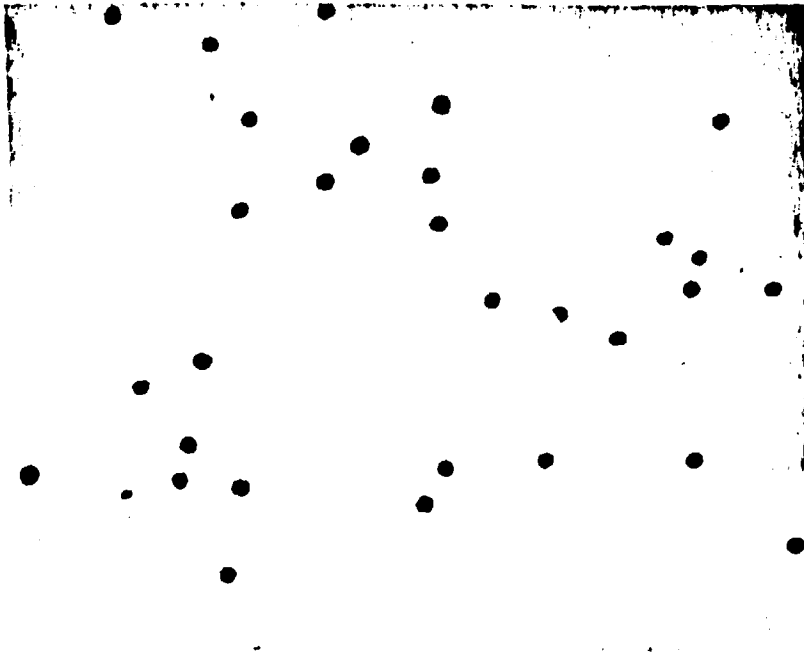
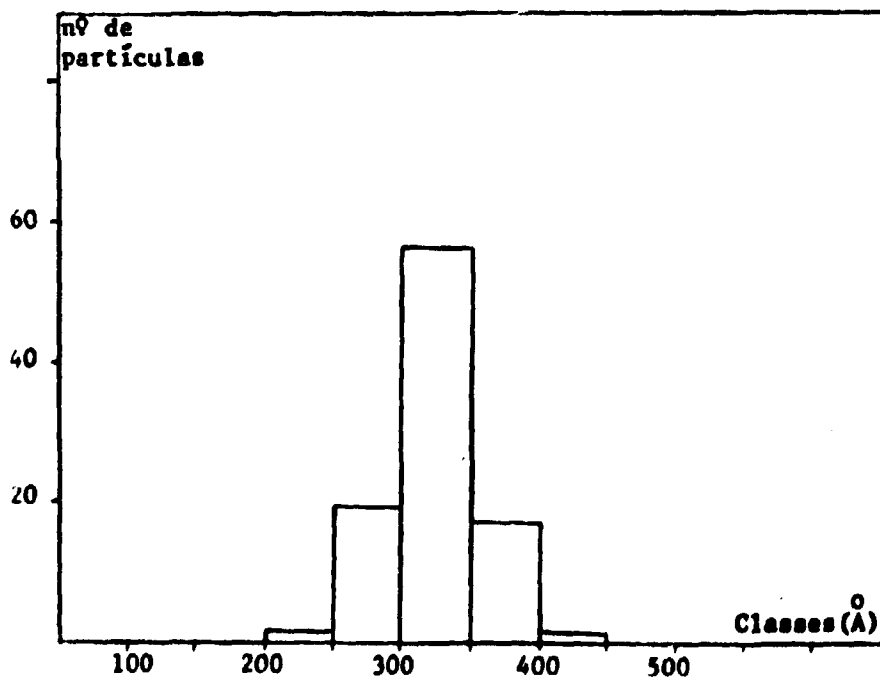


Figura 3.13 – Eletromicrografia do Ouro Coloidal em pH 5,0. (x 84000)



Curva de Distribuição das Partículas do Colóide Referente à Figura 3.13

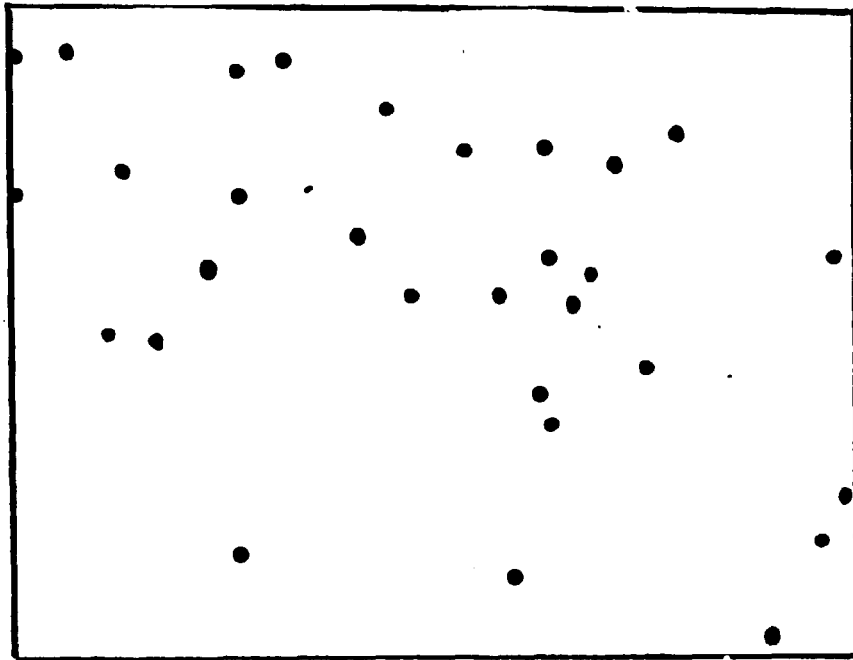
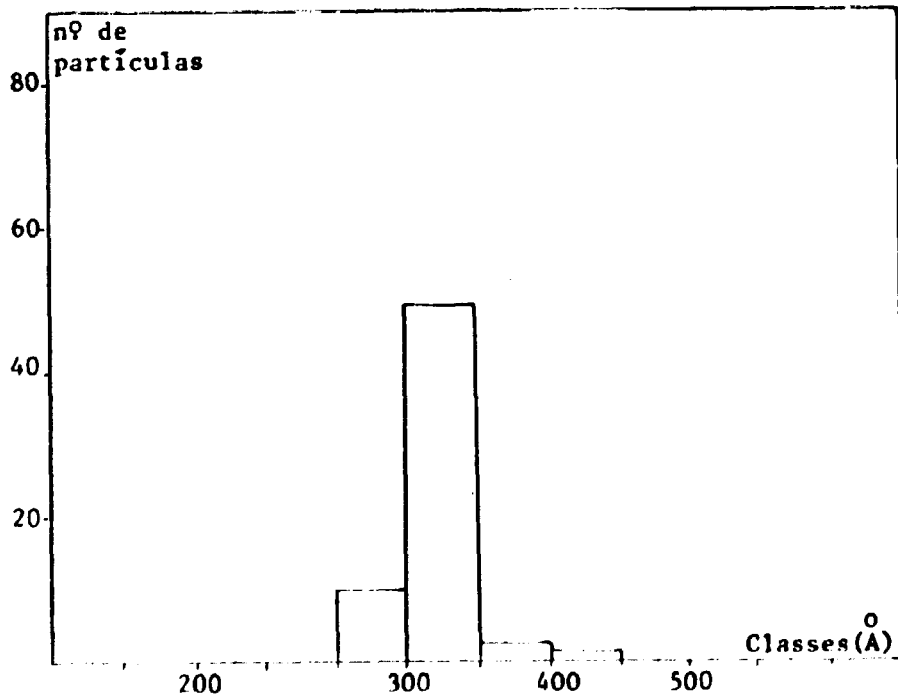


Figura 3.14 - Eletromicrografia do Ouro Coloidal em pH = 5,8. (x 84000)



Curva de Distribuição do Colóide Referente à Figura 3.14
 Diâmetro Médio = (320 ± 21) Å

III.6 – Estudo do Espectro de Absorção do Germe e do Colóide com Partículas de 300 Å

Colóides de ouro preparados por métodos diferentes, ou por um mesmo método mas sob outras condições experimentais, apresentam colorações diversas. Isto é atribuído aos tamanhos variados das partículas, às formas, fases de agregação e composição do meio de dispersão.

Espectros de absorção de colóides de ouro preparados por diferentes agentes redutores foram estudados por vários pesquisadores^(25,37,44).

Turkevich, Carton e Stevenson⁽⁴⁴⁾, com a finalidade de acompanhar o progresso de formação do colóide, estudaram espectros de colóides preparados pela redução com citrato de sódio. Iya, Gopal e Chaudhary⁽²⁵⁾ estudaram colóides preparados pela redução com glicose e gelatina.

Neste trabalho fizeram-se experimentos comparáveis aos de Iya e colaboradores⁽²⁵⁾.

III.6.1 – Espectro de Absorção do Germe

III.6.1 – 1) Espectro de Absorção do “Branco” na Preparação do Germe

Uma mistura de 4 ml de solução de gelatina 20%, 10 ml de água bidestilada e 5,6 g de glicose foram aquecidas até 82°C sob agitação constante. Adicionou-se 1,2 ml de hidróxido de sódio 4,5 N.

Após cinco minutos, em lugar de se adicionar solução de ácido cloroáurico adicionou-se ácido clorídrico até atingir pH 6 – 7.

Manteve-se o aquecimento e a agitação constantes por mais de vinte minutos. O produto foi esterilizado a 130°C por vinte minutos.

Deixou-se esfriar e diluiu-se com água destilada (1:200) para o estudo espectrofotométrico (Figura 3.15). Utilizou-se espectrofotômetro UV-VIS, Perkin Elmer, modelo Coleman-139, com lâmpada de filamento de tungstênio (400 – 800 m μ)⁽¹⁷⁾.

III.6.1 – 2) Espectro de Absorção do Germe Durante a sua Formação

Preparou-se o germe conforme especificações do item III.2, nas condições experimentais seguintes:

- a) Temperatura de evaporação do ácido cloroáurico (90 \pm 2)°C.
- b) Temperatura durante o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio: 80 – 82°C.
- c) Agitação durante o gotejamento: 310 rpm.
- d) Vazão da solução de cloroaurato de sódio: 26 – 28 gotas/minuto.

Após adicionar a solução de ácido cloroáurico à mistura redutora, retiraram-se alíquotas em vários intervalos de tempo e diluiu-se na proporção 1:200 com água destilada. Essas amostras foram removidas nos tempos: 0, 5, 10, 15, 20, 30 e 60 minutos após a adição de ácido cloroáurico. Uma alíquota foi retirada após autoclavagem.

A Figura 3.15 apresenta o espectro de absorção do germe na região visível durante a sua formação.

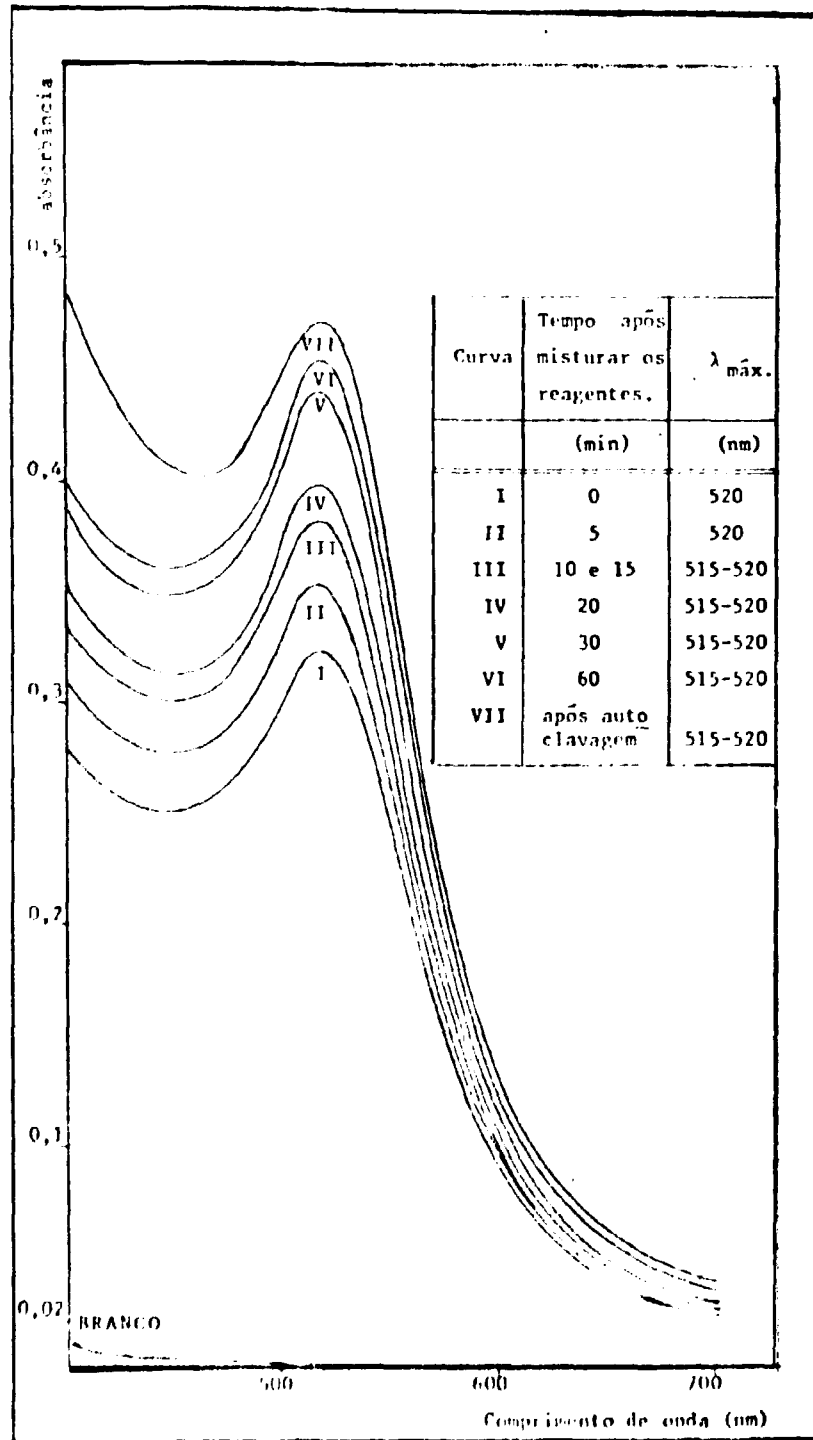


Figura 3.15 - Espectros de Absorção do "Branco" e do Germe Durante a sua Formação na Região Visível

III.6.2 – Espectro de Absorção do Colóide com Partículas de 300 Å

III.6.2 – 1) Espectro de Absorção do “Branco” na Preparação do Colóide Final

A solução de gelatina 20% e 10 ml de água bidestilada, adicionou-se ácido clorídrico e 2,2 ml de hidróxido de sódio 1N. Por último, adicionou-se 2 ml de ácido ascórbico 10%.

Depois de esterilizado, o produto final foi diluído (1:200) para as medidas espectrofotométricas.

III.6.2 – 2) Espectro de Absorção do Colóide com Partículas 300 Å Durante a sua Formação

Preparou-se o colóide conforme citado no item III.3, nas condições experimentais seguintes:

- a) Temperatura de evaporação do ácido cloroáurico: $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- b) Temperatura durante o gotejamento da solução de cloroaurato: $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- c) Agitação durante o gotejamento: 140 rpm.
- d) Vazão da solução de cloroaurato de sódio: (26 ± 1) gotas/minuto.

Após adicionar o cloroaurato de sódio à mistura redutora, removeram-se alíquotas em vários intervalos de tempo e diluiu-se na proporção 1:200 com água destilada. Esses intervalos de tempo foram: 0, 5, 10, 20, 30, 60 e 75 minutos após a adição de cloroaurato de sódio à mistura redutora. Retirou-se uma alíquota após a autoclavagem.

Os espectros de absorção do colóide de 300 Å durante a sua formação e do branco são apresentados na Figura 3.16.

CAPÍTULO IV

CONTROLE DE QUALIDADE DO COLÓIDE COM PARTÍCULAS 300 Å

IV.1 – Determinação do Tamanho das Partículas do Colóide

As partículas coloidais são pequenas ($0,001\ \mu\text{m}$ a $1\ \mu\text{m}$) para permitirem uma observação microscópica direta. O poder de resolução de um microscópio óptico é limitado principalmente pelo comprimento de onda da luz utilizada para a iluminação⁽¹⁶⁾.

Além do problema do poder de resolução, a visibilidade de um objeto pode ser limitada por causa da falta de contraste óptico entre o objeto e o meio que o cerca.

Para superar essas dificuldades, duas técnicas são particularmente valiosas no estudo de sistemas coloidais. São elas: a microscopia eletrônica em que o limite de resolução é grandemente ampliado permitindo visualizar partículas da ordem de $5 \times 10^{-4}\ \mu\text{m}$ e a ultra microscopia (microscopia em campo escuro), que é uma técnica muito útil para detectar a presença de partículas coloidais em suspensão (da ordem de $5 \times 10^{-3}\ \mu\text{m}$ a $10^{-2}\ \mu\text{m}$), determinar o seu número e investigar o seu movimento.

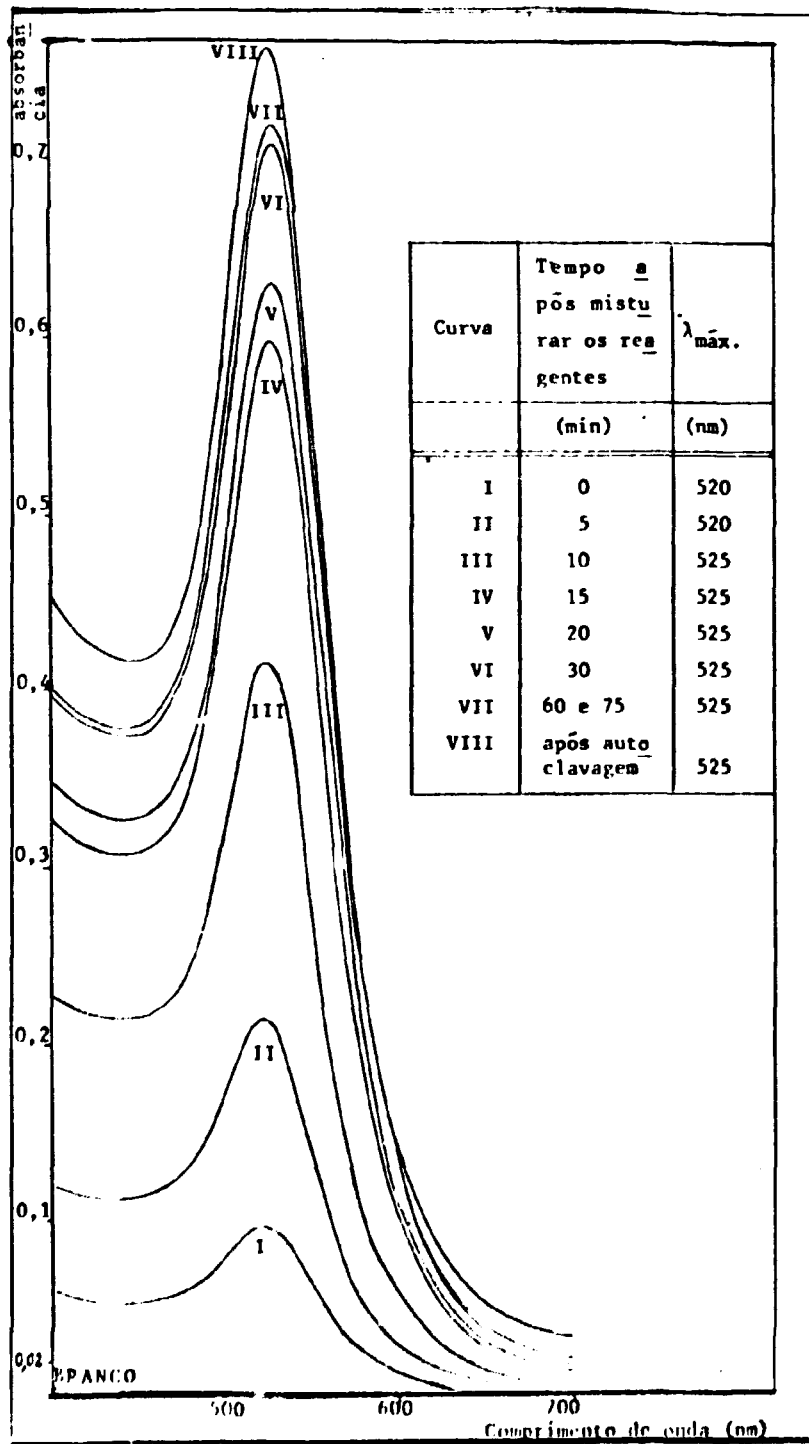


Figura 3.16 -- Espectros de Absorção do "Branco" e do Colóide de 300 Å Durante a sua Formação

Outros métodos usados para a medida de materiais de dimensões coloidais (já citados no item 1.2) são: espectrofotometria^(7,10), ultra centrifugação^(14,19,49), raios-X^(28,47,48), ultra filtração⁽¹²⁾, espalhamento da luz e pressão osmótica⁽¹⁶⁾.

Para medidas do tamanho de partículas de colóides de ouro alguns desses métodos não são práticos ou apresentam inconvenientes. O espalhamento da luz, embora simples em princípio, apresenta uma série de dificuldades de caráter experimental, sendo a mais importante a necessidade de ter-se uma amostra totalmente isenta de impurezas, por exemplo pó, cujas partículas relativamente grandes provocam também espalhamento da luz e introduzem erros sérios nas medidas. A ultra filtração tem apresentado insucesso por causa da forte absorção de partículas de ouro dentro das membranas do filtro^(16,49).

Diante desses problemas, neste trabalho preferiu-se usar a microscopia eletrônica para a determinação das dimensões das partículas coloidais. Um fator de importância a considerar-se é o fato deste instrumento permitir uma observação direta das partículas logo após a sua preparação, favorecendo deste modo a seleção de colóides bons.

Como um sistema coloidal é de natureza polidispersa, ou seja, as partículas de uma determinada amostra variam de tamanho, é freqüentemente impossível uma determinação pormenorizada da distribuição relativa de tamanho das partículas. Portanto, torna-se necessário admitir métodos experimentais menos exatos, que fornecem valores médios.

O método escolhido neste trabalho consiste em fotografar-se o sistema coloidal de ouro com um aumento de 28000 vezes e medir o diâmetro das partículas pela projeção dos negativos de suas eletronicografias. Os valores das medidas são convertidos em "Angstroms" utilizando-se como padrão o vírus do "Mosaico de Tabaco" cujo diâmetro médio é de 150 Å (Figura 4.17).



Figura 4.17 – Eletronicografia do Virus do "Mosaico de Tabaco" (Diâmetro Médio de 150Å) Utilizado como Padrão nas Medidas das Partículas de Ouro Coloidal (x 84000)

A seguir constrói-se a curva de distribuição das partículas do colóide, calcula-se o diâmetro médio e o seu desvio padrão.

O microscópio eletrônico utilizado para esta análise foi o da Carl Zeiss, modelo EM 9S com poder de resolução de 7 Å.

IV.2 – Controle da Pureza Radioativa e Radioquímica

IV.2.1 – Considerações Gerais

Todas as preparações de substâncias radioativas exigem uma série de provas analíticas que têm por finalidade garantir a pureza do produto obtido. Além da determinação das impurezas radioativas, ou seja, outras espécies radioativas eventualmente presentes, deve-se também determinar as formas químicas do radioisótopo preparado (pureza radioquímica).

Quando o radioisótopo destina-se para a medicina, é conveniente que se faça um controle biológico do produto.

As impurezas radioativas podem resultar da presença de impurezas químicas no alvo, as quais por irradiação dão origem a produtos ativos, sendo por este motivo muito importante, que o alvo seja quimicamente puro. As impurezas radioativas também podem resultar de outras reações nucleares, além daquela responsável pelo produto principal.

As impurezas radioquímicas podem aparecer durante o processamento químico ou mesmo durante a estocagem do produto, por causa da auto decomposição pela radiação.

IV.2.2 – Pureza Radioativa

Prepararam-se os colóides conforme descrito em III.3.3 e nas condições seguintes:

- Temperatura de evaporação do ácido cloroáurico: $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- Temperatura durante o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio: $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- Agitação durante o gotejamento: 140 rpm.
- Vazão da solução de cloroaurato: 26 – 28 gotas/minuto.

Características do colóide:

Concentração Radioativa: 0,20 mCi/ml

Concentração em ouro: 3,1 mg Au/ml

Diâmetro Médio: $(290 \pm 29)\text{Å}$.

Dependendo do fluxo de nêutrons e do tempo de irradiação do alvo de ^{197}Au , um contaminante que possivelmente pode aparecer no ^{198}Au é o ^{199}Au ($t_{1/2} = 3,15$ dias, $E_\gamma = 158, 208, e 50$ KeV), a partir da reação:



Para a identificação de impurezas emissoras de raios gama, utilizou-se um detector de germânio-lítio Camberra Industries, modelo 7229; acoplado a um analisador de 256 canais, Texas Measurements Co., modelo CN-256.

O espectro de raios gama do colóide é visto na Figura 4.18.

IV.2.3 – Pureza Radioquímica

A determinação da porcentagem de ouro iônico presente no colóide radioativo foi feita por cromatografia de partição em papel Whatman nº 1, empregando-se a técnica ascendente.

O solvente usado foi uma mistura de acetona, ácido clorídrico e água na proporção 70:20:10 ml, que normalmente é utilizada para sistemas coloidais de ouro estabilizados com gelatina⁽²⁹⁾.

IV.2.3 – 1) Procedimento

Transferiu-se para a fita de papel (2 cm x 15 cm) alguns microlitros do colóide preparado conforme especificações do item IV.2.2. Após secagem em corrente de ar, desenvolveu-se o cromatograma com o solvente acima citado, por uma hora

Novamente deixou-se a fita secar ao ar e cortou-se o papel em intervalos de 1 cm.

Mediram-se as atividades das tiras de papel (1 cm) em um detector Bicon, modelo 3M3, série K777 com cristal de iodeto de sódio (TI), acoplado a um analisador monocanal, Ortec, Modelo 455.

Os resultados obtidos na cromatografia de dois sistemas coloidais encontram-se nas Tabelas IV.6 e IV.7.

IV.3 – Comportamento Biológico do Colóide com Partículas de 300 Å

Nesta fase, estudou-se a distribuição biológica porcentual da deposição do ouro coloidal no fígado, baço, rins, coração, pulmões e sangue.

A literatura apresenta vários trabalhos sobre o comportamento biológico de sistemas coloidais de ouro-198^(8,11,36). Entre eles destacam-se os estudos feitos por Caro e colaboradores⁽⁸⁾, nos quais são feitas comparações entre as propriedades biológicas do colóide protegido por gelatina e do colóide protegido por polivinilpirrolidona (PVP).

Para a distribuição biológica usaram-se neste trabalho, ratos brancos de pesos compreendidos entre 200 e 300 gramas.

Injetou-se o colóide na veia dorsal do rabo. Em todos os experimentos usou-se 0,1 ml de solução coloidal, preparada nas condições citadas no item IV.2.2.

Em um primeiro experimento a atividade do colóide era de 10 μ Ci em 0,1 ml. O volume injetado correspondeu a 1,15 x 10¹³ partículas, aproximadamente.

Em outros dois experimentos a atividade foi 7 μ Ci em 0,1 ml e o número de partículas era de 0,57 x 10¹³, aproximadamente.

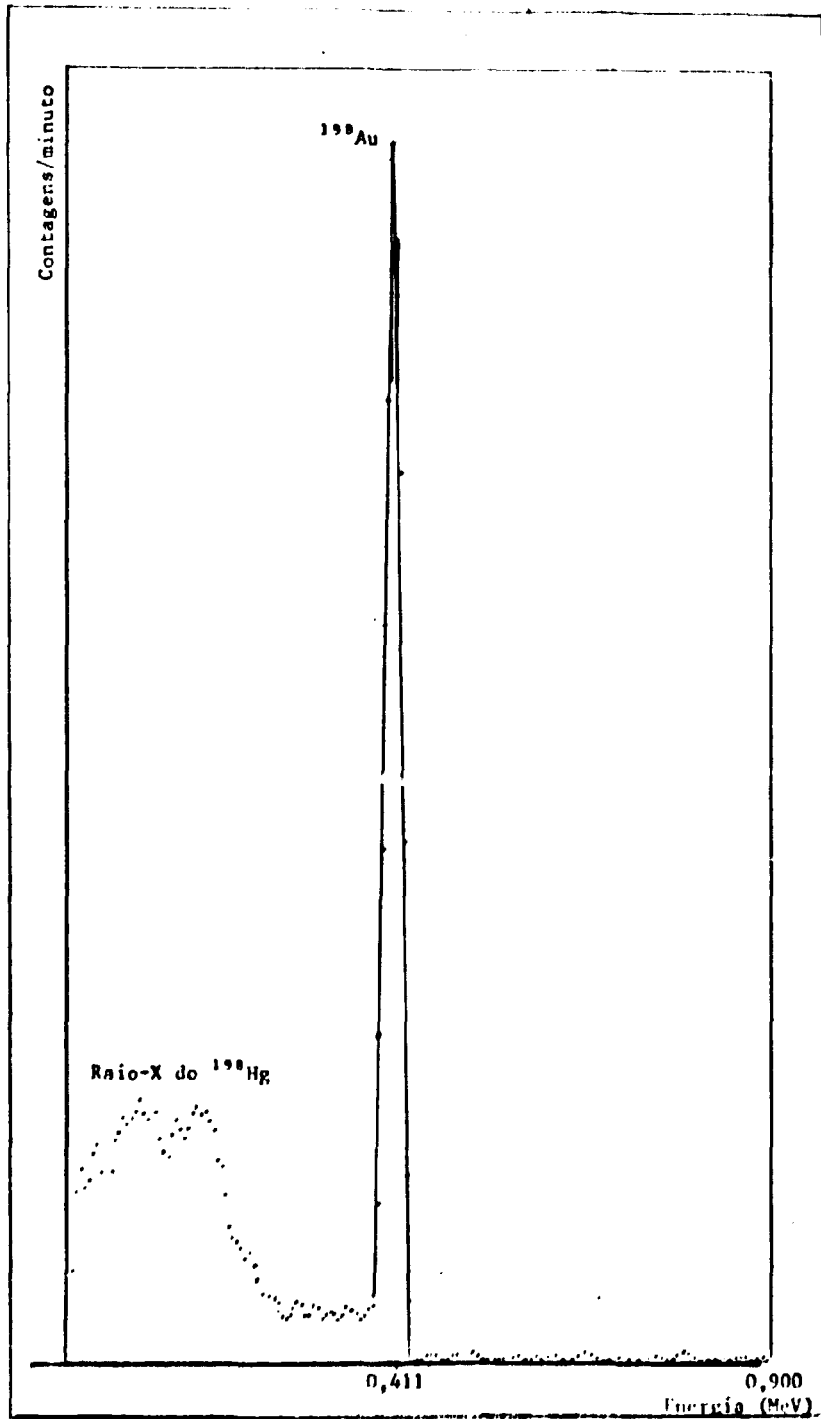


Figura 4.18 - Espectro de Raios Gama do ^{198}Au Coloidal com Partículas de Diâmetro Médio $280 \pm 29 \text{ \AA}$

Tabela IV.6

Cromatografia Ascendente de Colóide de ^{198}Au com Partículas de 300 Å. Papel Usado: Whatman N° 1. Solvente: Acetona, Ácido Clorídrico e Água (70, 20, 10 ml). Tempo de Corrida: 1 Hora

Fração (cm)	Contagens/minuto ± Desvio Padrão	Contagens/minuto-BG ± Desvio Padrão
Origem	38 763 ± 197	38 205 ± 197
1	586 ± 14	28 ± 18
2	634 ± 15	76 ± 19
3	632 ± 15	74 ± 19
4	637 ± 15	79 ± 19
5	627 ± 14	69 ± 18
6	600 ± 14	42 ± 18
7	600 ± 14	42 ± 18
8	620 ± 25	62 ± 27
9	597 ± 14	39 ± 18
10	674 ± 15	116 ± 19

Tabela IV.7

Cromatografia Ascendente de Colóide de ^{198}Au com Partículas de 300 Å. Papel Usado: Whatman N° 1. Solvente: Acetona, Ácido Clorídrico e Água (70, 20, 10 ml). Tempo de Corrida: 1 Hora

Fração (cm)	Contagens/minuto ± Desvio Padrão	Contagens/minuto-BG ± Desvio Padrão
Origem	88 314 ± 210	88 228 ± 210
1	140 ± 1	64 ± 1
2	115 ± 1	29 ± 1
3	118 ± 1	32 ± 1
4	105 ± 1	19 ± 1
5	123 ± 1	37 ± 1
6	114 ± 1	28 ± 1
7	121 ± 1	36 ± 1
8	131 ± 2	46 ± 2
9	134 ± 2	48 ± 2
10	173 ± 2	87 ± 2

Sacrificaram-se os animais em tempos distintos conforme mostram as Tabelas IV.8, IV.9 e IV.10.

Posteriormente, determinou-se a atividade porcentual, presente em cada órgão, em relação à atividade total injetada. Fizeram-se as medidas de atividade com um cintilador de poço com cristal de iodeto de sódio (TI) Nuclear Chicago, modelo Ultrascaler II, mantendo-se as condições geométricas apropriadas.

As atividades do sangue foram calculadas para o sangue total, tomando-se por base o peso dos ratos utilizados⁽¹⁾.

IV.4 – Mapeamento

Para complementar o trabalho, 40 μ Ci do colóide de ¹⁹⁸Au com partículas de 300 Å foram injetados em ratos e fizeram-se mapeamentos após quinze e trinta minutos, utilizando-se o cintilógrafo Siemens, modelo Scintimat 2 F.

Os cintilogramas obtidos encontram-se nas Figuras 4.19 e 4.20.

CAPÍTULO V

RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

V.1 – Estudo da Temperatura de Evaporação do Ácido Cloroáurico

Mirza e Akhtar⁽³¹⁾, Domingues e colaboradores⁽¹⁴⁾ e Henry e colaboradores⁽²¹⁾ mostraram que o ácido cloroáurico decompõe-se com aquecimento prolongado, em temperaturas próximas a 100°C e em pressão reduzida. Os experimentos 5 e 6 da Tabela III.2 foram feitos evaporando-se o excesso de ácido cloroáurico em pressão ambiente num intervalo de temperatura de 97 – 99°C. Nesses casos ocorre decomposição do ácido cloroáurico, o que foi observado pelo aparecimento de pequenas partículas negras.

Durante a evaporação pode ocorrer, acidentalmente, um aumento da temperatura de maneira a provocar a decomposição do ácido cloroáurico. Para que este problema não prejudique o andamento da preparação do ouro coloidal, pode-se adicionar à solução uma a duas gotas de ácido clorídrico concentrado e repetir a evaporação^(23,31). É provável que as partículas escuras sejam de óxido de ouro que por adição de ácido clorídrico dissolvem-se formando novamente o ácido cloroáurico e água.

Nos experimentos 3 e 4 da Tabela III.2, onde se fez a evaporação do ácido cloroáurico dentro de um intervalo de temperatura de 88 – 92°C, obteve-se cristais amarelos em forma de agulhas transparentes, sem qualquer formação de partículas negras. Essas condições são vantajosas em relação aos experimentos 1 e 2 da Tabela III.2 no que se refere ao menor tempo necessário à evaporação.

Finalmente, pelos dados da Tabela III.2 não se observa correlação alguma entre a temperatura de evaporação da solução de ácido cloroáurico e o diâmetro médio final das partículas coloidais. Verifica-se que os experimentos feitos em duas temperaturas de evaporação (experimentos 1 e 2, 3 e 4) conduziram a resultados semelhantes onde os diâmetros médios das partículas se encontram dentro de uma mesma faixa de dimensões.

Tabela IV.8

Distribuição Biológica de Colóide de Ouro-198, com Partículas de 300 Å. Dose Injetada = 10 μ Ci em 0,1 ml

Rato	Órgão	Massa do Órgão (g)	Contagens/ min. no órgão	% de atividade retida no órgão em relação à dose injetada.
(1) 20 minutos após injeção.	coração	0,9252	4385	0,05
	baço	0,6633	89815	1,04
	pulmões	1,2053	36010	0,42
	rins	1,9075	30045	0,35
	fígado	8,2465	5854583	67,82
	sangue	≈ 17,25 ml	18127	0,21
(2) 35 minutos após injeção.	coração	1,1226	1586	0,02
	baço	0,6541	109977	1,27
	pulmões	1,5614	28875	0,33
	rins	1,7803	13630	0,16
	fígado	8,3634	6342270	73,47
	sangue	≈ 17,25 ml	13807	0,16
(3) 60 minutos após injeção.	coração	0,9031	863	0,01
	baço	0,9237	172787	2,00
	pulmões	1,7443	13465	0,15
	rins	1,8453	13615	0,16
	fígado	8,3244	6783283	78,58
	sangue	≈ 17,25 ml	18990	0,22
(4) 85 minutos após injeção.	coração	0,9062	935	0,01
	baço	0,5589	158833	1,84
	pulmões	1,5384	26735	0,31
	rins	1,8370	19078	0,22
	fígado	7,6984	7668496	88,85
	sangue	≈ 17,25 ml	15387	0,18

Tabela IV.9

Distribuição Biológica de Colóide de Ouro-198, com Partículas de 300 Å. Dose Injetada = 7 μ Ci em 0,1 ml

Rato	Órgão	Massa do Órgão (g)	Contagens/ min. no órgão	% de atividade retida no órgão em relação à dose injetada.
(1) 20 minutos após injeção.	coração	0,9394	12	0,01
	pulmões	2,3712	36	0,02
	rins	1,8606	54	0,03
	baço	0,8460	341	0,21
	fígado	10,8323	129965	80,77
	sangue	17,71 ml	154	0,09
(2) 60 minutos após injeção.	coração	0,9461	24	0,02
	pulmões	1,9868	42	0,03
	rins	2,2030	38	0,02
	baço	0,9497	314	0,19
	fígado	11,3863	135787	84,39
	sangue	20,10 ml	111	0,07
(3) 85 minutos após injeção.	coração	0,9219	29	0,02
	pulmões	2,1397	49	0,03
	rins	1,8125	39	0,02
	baço	0,8415	199	0,12
	fígado	9,7956	120671	74,99
	sangue	18,60 ml	93	0,06

Tabela IV.10

Distribuição Biológica de Colóide de Ouro-198, com Partículas de 300 Å. Dose Injetada = $7\mu\text{Ci}$ em 0,1 ml

Rato	Órgão	Massa do Órgão (g)	Contagens/ min. no órgão	% de atividade retida no órgão em relação à dose injetada.
(1) 20 minutos após injeção.	coração	1,0569	82	0,01
	pulmões	2,2206	58	0,04
	rins	2,0523	51	0,03
	baço	0,8771	222	0,14
	fígado	11,0577	120082	74,83
	sangue	19,20 ml	192	0,12
(2) 60 minutos após injeção.	coração	1,0595	15	0,01
	pulmões	1,9302	99	0,06
	rins	1,9581	33	0,02
	baço	0,5981	343	0,21
	fígado	11,5025	142515	88,57
	sangue	19,30 ml	183	0,11
(3) 85 minutos após injeção.	coração	0,9439	19	0,01
	pulmões	1,9118	54	0,03
	rins	1,9052	30	0,02
	baço	0,7110	316	0,20
	fígado	9,3300	130442	81,06
	sangue	17,54 ml	97	0,06

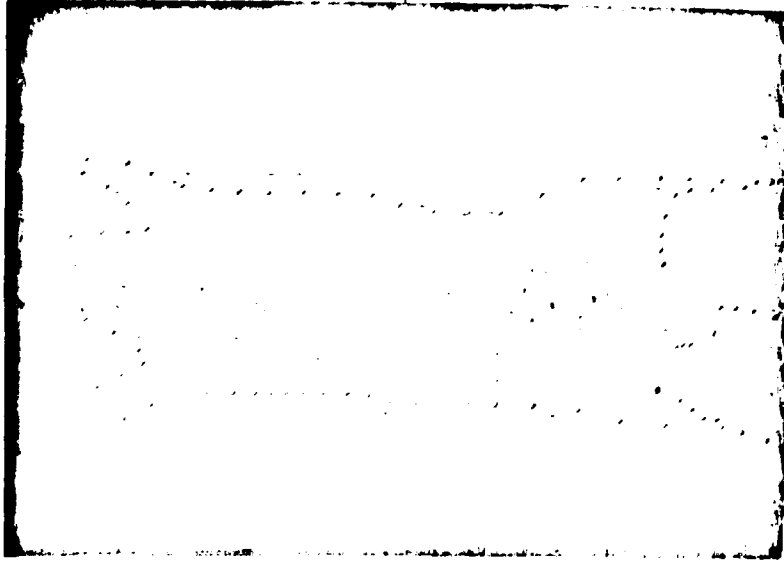


Figura 4.19 - Cintilograma do Rato, Quinze Minutos Após a Injeção do ^{198}Au Coloidal. Dose = $40\mu\text{Ci}$

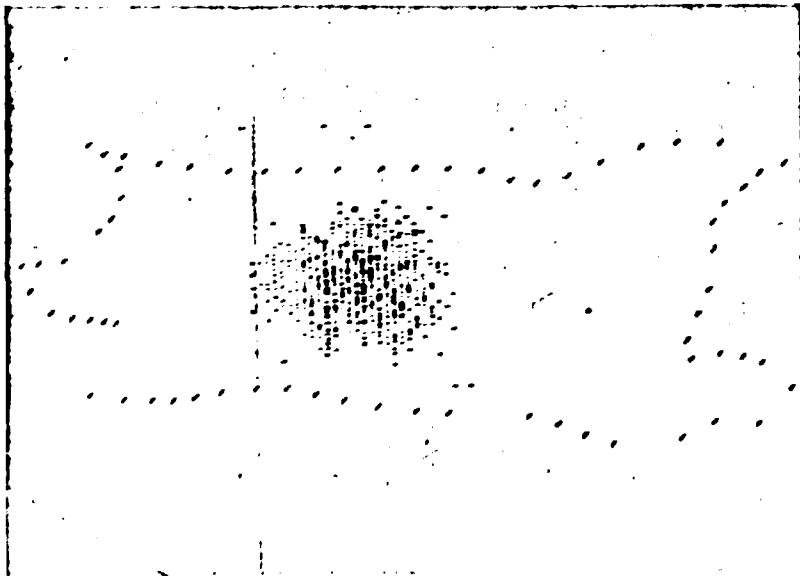


Figura 4.20 - Cintilograma do Rato, Trinta Minutos Após a Injeção do ^{198}Au Coloidal. Dose = $40\mu\text{Ci}$

Portanto, pode-se concluir que a temperatura de evaporação do ácido cloroáurico é importante apenas na etapa de cristalização do ácido.

V.2 – Variação da Vazão Durante a Adição da Solução de Cloroaurato de Sódio sobre a Mistura Redutora

Analisando-se a Tabela III.3, nota-se que é possível controlar, dentro dos limites experimentais, o diâmetro médio final das partículas segundo a vazão de gotejamento da solução de cloroaurato de sódio à mistura redutora.

Observa-se uma tendência em aumentar o diâmetro médio das partículas coloidais a medida que diminui a vazão do gotejamento. Uma primeira explicação para esse comportamento seria o fato de que gotejando-se mais lentamente a solução de cloroaurato de sódio à mistura redutora, os núcleos de crescimento formados tem mais tempo para crescer.

Numa segunda hipótese pode-se pensar em termos do número de núcleos formados. Aumentando-se a vazão do gotejamento da solução de cloroaurato de sódio à mistura redutora, aumentar-se-á a concentração de Au^{3+} no meio redutor. Formar-se-ão muitos núcleos que crescerão menos do que quando a vazão de gotejamento é menor (Figura 5.21).

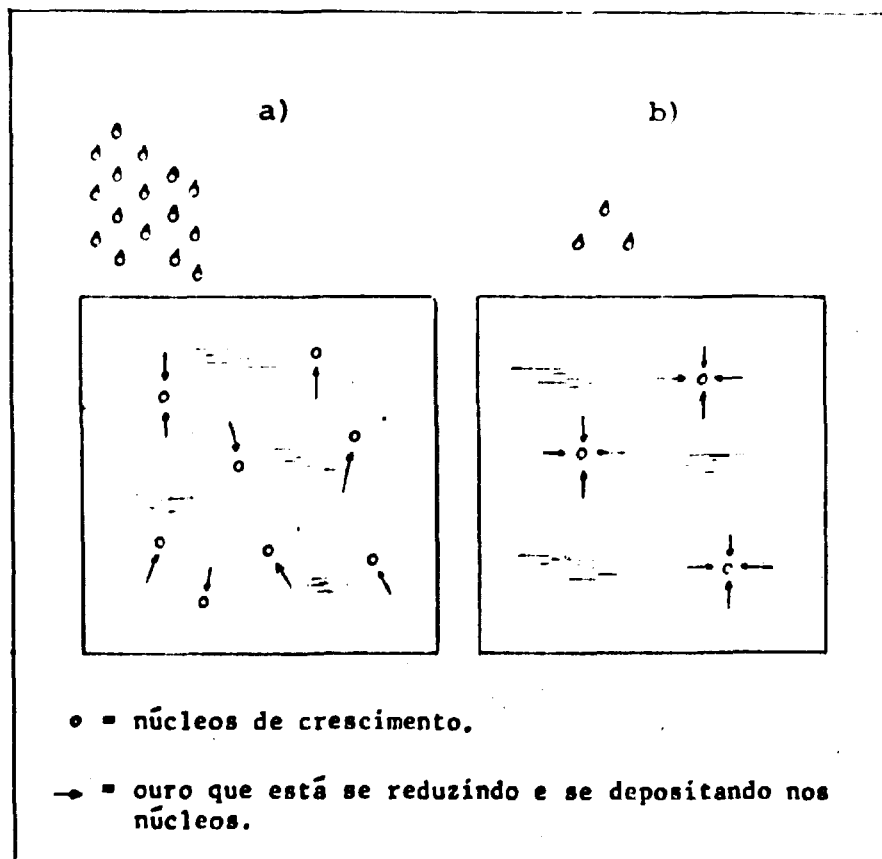


Figura 5.21 – a) Esquema Representativo de Vazão Maior da Solução de Cloroaurato de Sódio.
b) Esquema Representativo de Vazão Menor da Solução de Cloroaurato de Sódio.

Esta fase de trabalho apresenta dificuldades para se conseguir vazão constante durante todo o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio, porque à medida que o volume da solução diminui a vazão varia. Fez-se o controle do gotejamento manualmente, a fim de que a vazão permanecesse constante.

V.3 – Estudo da Influência da Agitação da Mistura Redutora Durante o Gotejamento do Cloroaurato de Sódio

Observa-se na Tabela III.4 que a variação da agitação (140 – 310 rpm) não causa mudança considerável nos diâmetros médios das partículas. Isso não se fez porque nos experimentos 2, 4 e 6 da Tabela III.4 onde se usou agitação de 140 rpm os resultados já foram satisfatórios (Figuras 5.22 e 5.23, 5.24 e 5.25) e conseguiu-se atingir o objetivo do trabalho em questão.

V.4 – Variação da Temperatura da Mistura Redutora Durante o Gotejamento da Solução de Cloroaurato de Sódio

Os resultados apresentados na Tabela III.5 mostram uma tendência em aumentar o diâmetro médio das partículas à medida que diminui a temperatura da mistura redutora durante o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio.

Barrabin, Caro e Ithio⁽³⁾ explicam que ao diminuir a temperatura do meio redutor, a velocidade de redução torna-se menor e desta maneira os núcleos formados têm possibilidade de crescer por deposição do ouro que está sendo reduzido, lentamente, no decorrer da reação.

Para melhor visualização desse efeito dever-se-ia fazer experimentos em intervalos maiores de temperatura do que o estudado neste trabalho. Diversos autores^(8,23,25,40) usam temperaturas ao redor de 80°C obtendo colóides com partículas uniformes, dessa maneira preferimos usar temperaturas próximas desta para verificação da reprodutibilidade em nossas condições experimentais. As Figuras 5.26 e 5.27 apresentam os resultados dos colóides obtidos com características desejadas.

Iya, Gopal e Chaudhary⁽²⁵⁾ estudaram a redução do Au^{3+} a Au^0 . Os autores supõem que em um pequeno intervalo de tempo o Au^{3+} se reduz a Au^{1+} e depois a Au^0 . Além disso as espécies Au^{3+} e Au^{1+} formam complexos com a gelatina ou com alguns de seus produtos hidrolíticos, posteriormente o complexo se rompe resultando a oxidação do agente complexante e a redução do Au^{3+} e Au^{1+} a Au^0 .

Nesta fase de redução ocorre também uma variação no pH do meio, difícil de ser controlada. Possivelmente este fenômeno é ligado à redução do Au^{3+} .

Na literatura não se encontra estudo algum que mostre com certeza o mecanismo de redução do Au^{3+} a Au^0 durante a preparação do ouro coloidal.

As suposições de Iya e colaboradores⁽²⁵⁾ poderiam ser esclarecidas estudando-se a formação dos complexos durante a redução do ouro, por espectroscopia no Infra Vermelho.

V.5 – Estudo da Diluição do Colóide

Observando-se as Figuras 3.6, 3.7 e 3.8 que apresentam, respectivamente, amostras de ouro coloidal sem diluição, diluído na proporção 1:5 e diluído na proporção 1:10, em solução fisiológica, não se verifica qualquer diferença entre eles. Dessa maneira, o colóide original pode ser diluído quando necessário sem alteração de suas características.

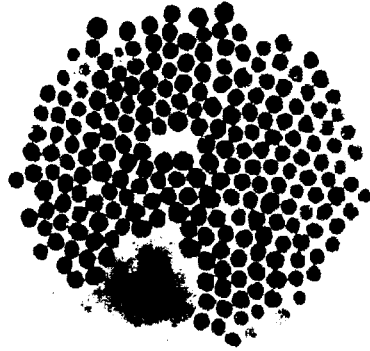


Figura 5.22 — Amostra de um Sistema Coloidal com Partículas de Diâmetro Médio = $(290 \pm 29)\text{Å}$.
(x 84000)

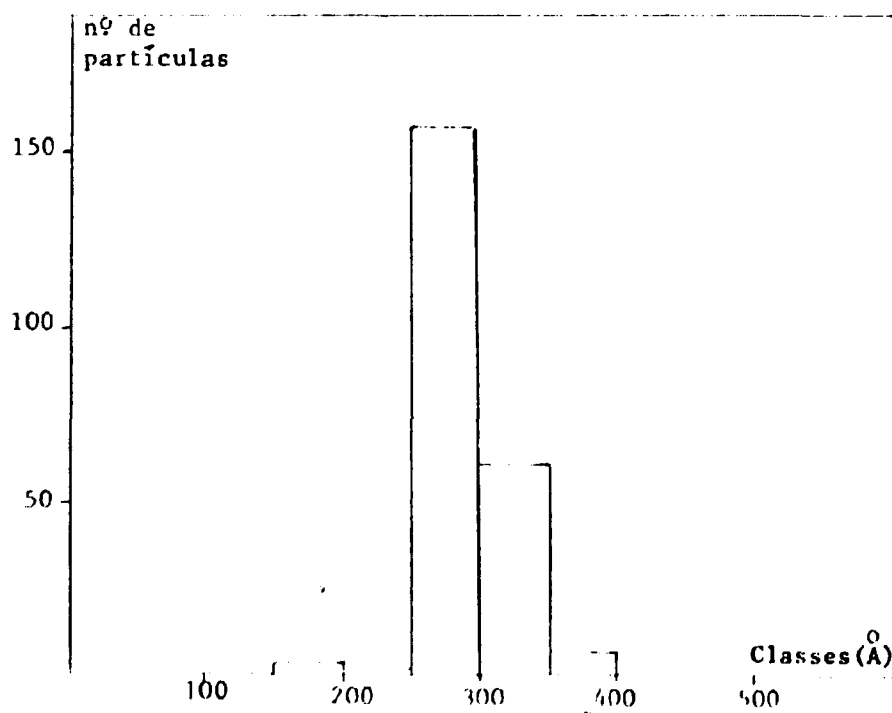


Figura 5.23 — Curva de Distribuição das Partículas do Colóide Apresentado na Figura 5.22

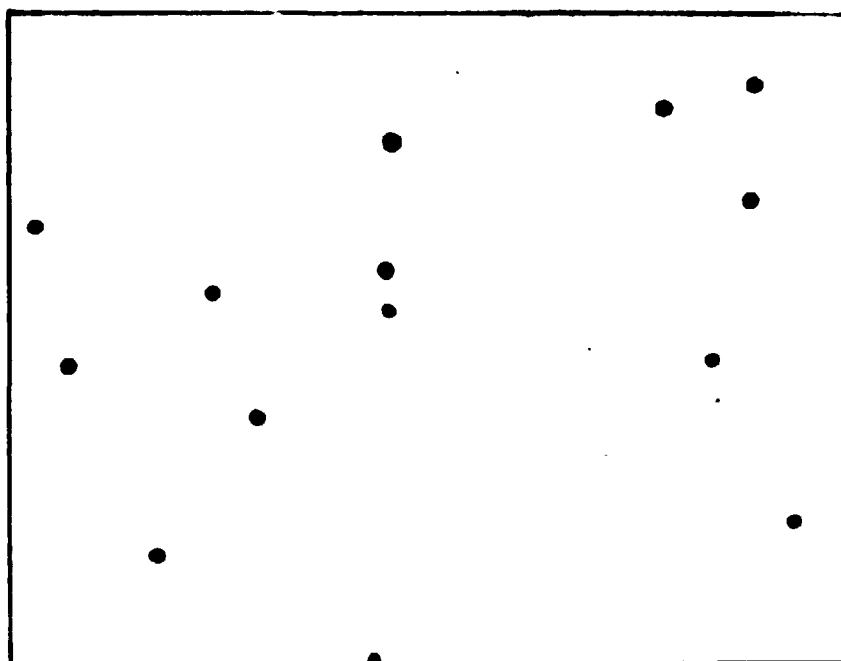


Figura 5.24 – Amostra de um Sistema Coloidal com Partículas de Diâmetro Médio = $(309 \pm 35)\text{\AA}$.
(x 84000)

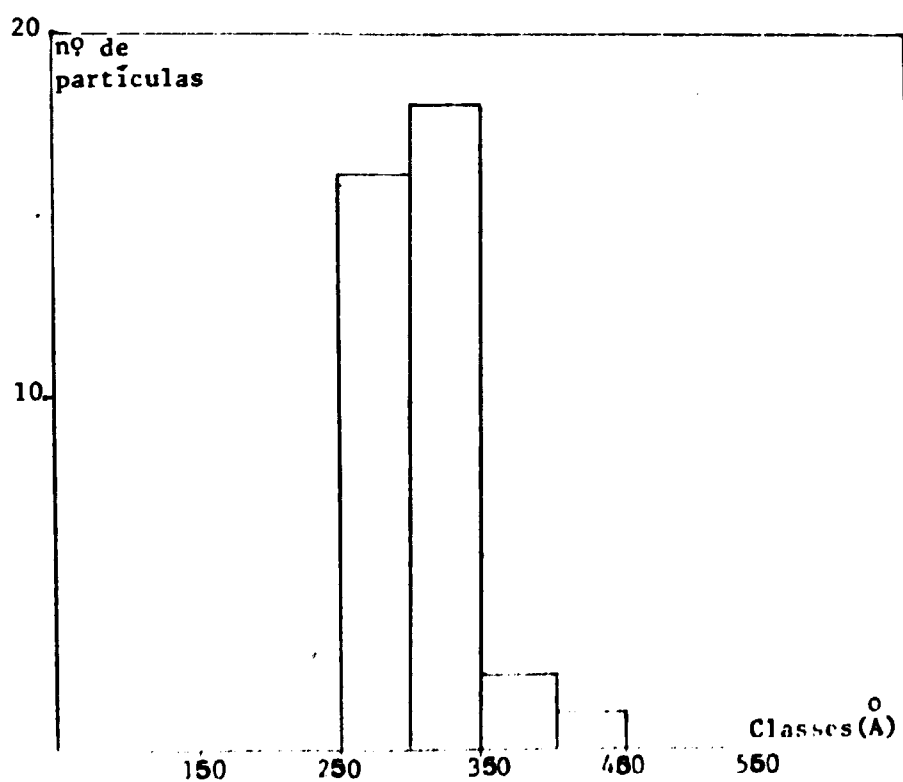


Figura 5.25 – Curva de Distribuição das Partículas do Colóide Apresentado na Figura 5.24

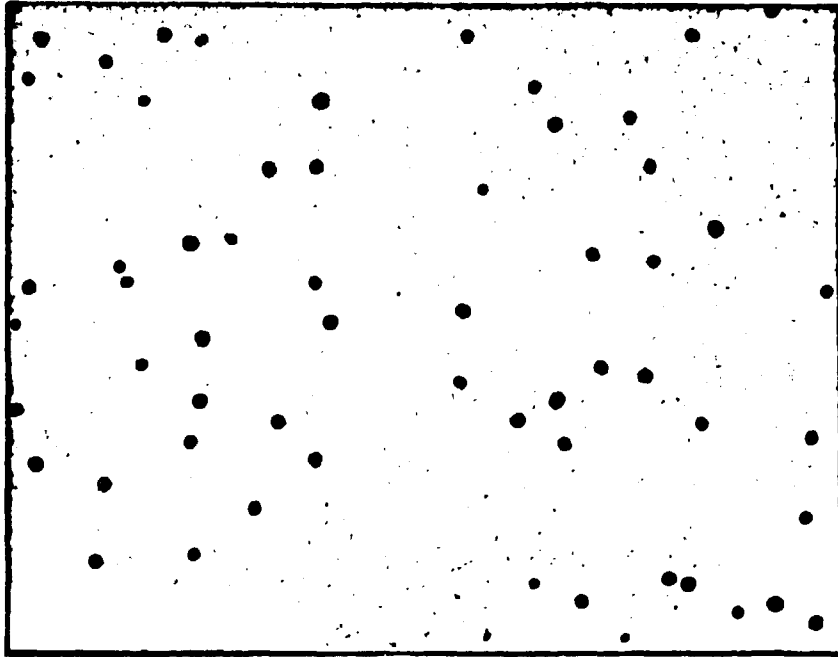


Figura 5.26 - Amostra de um Sistema Coloidal com Partículas de Diâmetro Médio = $(285 \pm 37)\text{Å}$

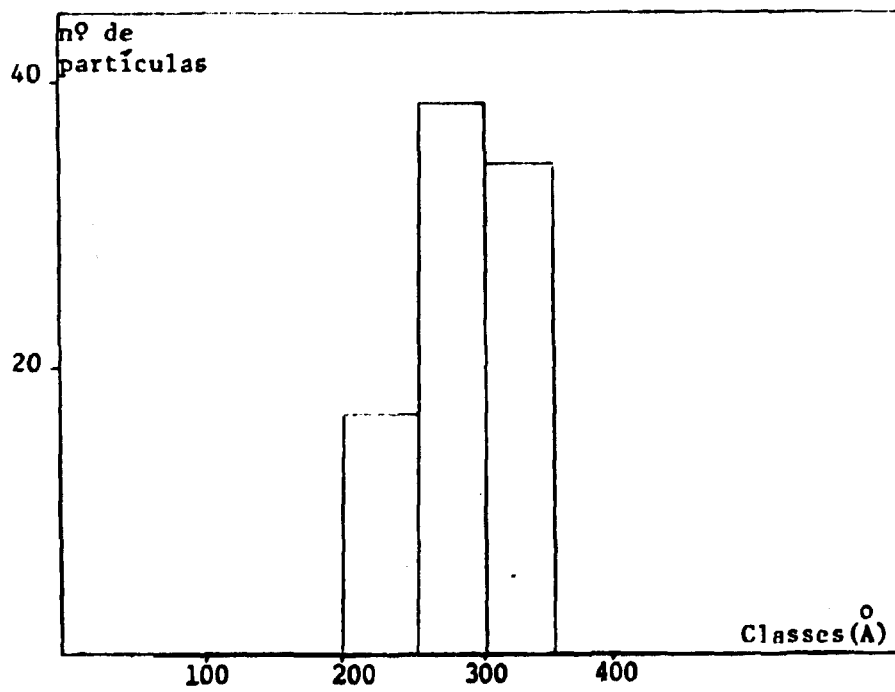


Figura 5.27 - Curva de Distribuição das Partículas do Colóide Apresentado na Figura 5.26

V.6 – Influência do Tempo na Estabilidade do Colóide

Comparando-se as Figuras 3.9 (colóide recentemente preparado) e 3.10 (colóide dois meses após a preparação) deduz-se que ainda dois meses após a sua preparação o sistema coloidal apresenta seu aspecto inicial.

Após esse tempo um efeito de aglomeração torna-se reconhecível, mesmo a olho nu.

V.7 – Estudo do pH Final do Colóide

Analisando-se as Figuras 3.11, 3.12, 3.13 e 3.14 e as Tabelas III.2, III.3, III.4 e III.5 verifica-se que uma distribuição uniforme das partículas é mais favorável quando o pH final da solução estiver entre 5 e 7. Além disso este é o pH adequado para que o colóide possa ser injetado em seres humanos.

A Figura 3.11 mostra que em pH = 9,5 aparecem aglomerados característicos da floculação da gelatina⁽⁹⁾.

V.8 – Estudo do Espectro de Absorção do Germe e do Colóide com Partículas de 300 Å Durante a sua Formação

Analisando-se as Figuras 3.15 e 3.16 nota-se que os colóides preparados nestes experimentos mostram absorções características semelhantes às dos colóides obtidos por Iya e colaboradores⁽²⁵⁾.

Comparando-se ainda os espectros de absorção do germe e do colóide final (Figuras 3.15 e 3.16), nota-se um deslocamento para comprimentos de onda maiores da absorção máxima do colóide final em relação a absorção máxima do germe. De acordo com a observação de Turkevich⁽⁴⁴⁾ a mudança da absorção máxima para comprimentos de onda mais longos indica um aumento no tamanho de partícula.

Pelos espectros de absorção do germe e do colóide final (Figuras 3.15 e 3.16) deduz-se também que o mecanismo de suas formações é diferente.

No caso do germe (Figura 3.15) verifica-se:

- 1) As curvas de absorção variam pouco com o tempo decorrido após a adição dos reagentes.
- 2) A absorbância máxima também não varia muito, comparando-se com as curvas de absorção do colóide final.

Para o colóide com partículas de 300 Å tem-se (Figura 3.16):

- 1) As curvas de absorção variam muito com o tempo decorrido após a adição dos reagentes.
- 2) A absorbância máxima aumenta pronunciadamente até 60 minutos após a adição dos reagentes e a partir desse momento até 75 minutos permanece constante, mostrando novamente um ligeiro aumento quando autoclavado.

A análise espectrofotométrica indica que o processo de redução na preparação do germe é rápido quando comparado com o processo de redução do colóide final. Esse fato pode ser explicado considerando-se a ação redutora forte dos produtos de hidrólise da glicose (aldeído pirúvico e ácido láctico)⁽²¹⁾ que causam uma formação rápida de núcleos com pouca possibilidade de crescimento posterior.

V.9 – Conclusões

De nosso trabalho pode-se concluir que o colóide preparado nas condições:

- a) temperatura de evaporação do ácido cloroáurico: $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- b) temperatura da mistura redutora durante o gotejamento da solução de cloroaurato de sódio: $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- c) vazão da solução de cloroaurato de sódio: (26 ± 1) gotas/min., e
- d) agitação da mistura redutora durante o gotejamento da solução de cloroaurato: 140 rpm,

apresenta-se adequado para uso em medicina, e portanto pode ser aplicado à produção rotineira.

A determinação da pureza radioativa do produto quando o alvo é irradiado durante uma hora na posição 27, prateleira 8 do reator IEAR-1, com um fluxo de nêutrons térmicos de 4×10^{12} n/cm².seg, mostrou a presença de ¹⁹⁸Au somente; entretanto se períodos de irradiação e fluxos de nêutrons maiores forem usados, dever-se-á irradiar o alvo envolto em cádmio a fim de evitar-se a formação de ¹⁹⁹Au.

A pureza radioquímica pode ser considerada conveniente visto que as porcentagens de ouro iônico calculadas para dois sistemas coloidais (Tabelas IV.6 e IV.7) foram respectivamente $(0,30 \pm 0,05)\%$ e $(0,099 \pm 0,002)\%$, satisfazendo-se assim o limite exigido em aplicações medicinais⁽²³⁾. Ainda, considerando-se que o espalhamento de contagens dos cromatogramas seja um espalhamento de ouro iônico, a pureza radioquímica continua adequada pois os valores citados acima seriam, respectivamente, $(1,6 \pm 0,2)\%$ e $(0,469 \pm 0,005)\%$. Em nossos experimentos obtiveram-se $Rf_{\text{colóide}} = 0$ e $Rf_{\text{ouro iônico}} \cong 1$, comparáveis aos valores encontrados na literatura, respectivamente 0 e 0,9^(5,31).

Pelas Tabelas IV.8, IV.9 e IV.10 verifica-se uma localização preferencial das partículas coloidais de ¹⁹⁸Au (diâmetro médio = 300 Å) nos órgãos do Sistema Retículo Endotelial^(8,30).

Este estudo confirma a possibilidade de utilizar-se o colóide para cintilogramas do fígado, quando injetado por via endovenosa, o que foi comprovado também por mapeamentos em ratos.

Pode-se também concluir que o uso de equipamentos simples não altera a qualidade do produto e que evaporando-se a solução de ácido cloroáurico em copos de laboratório à pressão ambiente, obtém-se cristais tão bons quanto aos obtidos em pressão reduzida (100 mmHg)⁽²¹⁾, simplificando-se assim a metodologia da preparação do colóide.

ABSTRACT

This paper describes the preparation with simple equipment of radioactive colloidal gold of particle size about approximately 300 Å from "seed colloid" stabilized by gelatine. Some physico-chemical parameters which can affect the process of formation of these colloidal particles are analysed; particle size has been measured with an electron microscope. The colloid stability has been studied as a function of dilution, age and pH.

Nucleation and growth of radioactive colloidal gold have been studied using spectrophotometry. Absorption spectra of the two are presented and compared.

Quality control of the production process was verified through measurement of parameters, such as radioactive and radiochemical purity and biological distribution in laboratory animals. The latter was evaluated for rats injected endovenously with the gold colloidal solution.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

1. ALTMAN, P. L. *Blood and other body fluids*. Washington, D. C., Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961. p.5.
2. BAILEY, F. R. et alii. *Histologia*. São Paulo, Blücher, 1973. p.104.
3. BARRABIN, H.; CARO, R. A.; IHLO, J. E.; RADICELLA, R.; RICHARDS, D. E. *Estudio fisicoquímico de um nuevo método de producción de coloides de oro radioactivo*. Buenos Aires, Comision Nacional de Energia Atomica, 1975. (CNEA-390).
4. BEIERWALTES, W. H.; JOHNSON, P. C.; SOLARI, A. J. *Clinical use of radioisotopes*. Philadelphia, Pa., Saunders, 1957. p.257-70.
5. BELKAS, E. P. & ARCHIMANDRITIS. *J. Radioanal. Chem.*, 13:469(1973) apud MIRZA, M. Y. & AKHTHAR, M. Experience in the preparation of colloidal gold - 198 for medical use. *Radiochimica Acta*, 21:213, 1974.
6. BURK, *Grosseur et distribution des particules d'or colloidal radioactif*. Saclay, CEA Centre d'Etudes Nucleaires de Saclay, Jan. 1963. (Traduction n.A. 1255).
7. CARO, R. A. & INGRAND, J. Détermination spectrophotométrique de la taille des particules d'or colloidal radioactif. *Rev. Opt.*, 44(6):281-93, juin. 1965.
8. CARO, R. A.; PAOLI, T. de; HAGER, A.; NICOLINI, J.; RADICELLA, R. *Preparacion y comportamiento biologico de um coloide de oro radioactive protegido com polivinilpirrolidona (PVP)*. Buenos Aires, Comision Nacional de Energia Atomica, 1968. (CNEA-213).
9. CARO, R. A. ; PAOLI, T. de; HAGER, A.; RADICELLA, R.; SZYSZKOWSKY, R. *Estudio de la preparacion y de las propiedades fisicoquimicas y biologicas de um coloide de ¹⁹⁸Au protegido com gelatina de punto isoelectrico 9.2*. Buenos Aires, Comision Nacional de Energia Atomica, 1972. (CNEA-319).
10. CHIOTAN, C.; VIZITIU, M.; LABAU, V.; NICOLAE, M. Essais spectrophotométriques pour la détermination des dimensions des particules d'or colloidal. *Rev. Roum. Phys.*, 11(6):519-25, 1966.
11. COHEN, Y. Bases experimentales de c'emploi descolloides radioactifs en therapeutique. *Produits pharm.*, 16(4):159-68, avr. 1961.
12. DAVIS, M. A.; JONES, A. G.; TRINDADE, H. A rapid and accurate method for sizing radiocolloids. *J. nucl. Med.*, 15(11):923-8, Nov. 1974.
13. DOBSON, E. L. et alii. Studies with colloids containing radioisotopes of yttrium, zirconium, columbium and lanthanum. II. The controlled selective localization of radioisotopes of yttrium, zirconium, and columbium in the bone marrow, liver and spleen. *J. Lab. clin. Med.*, 34:305-12, 1949.
14. DOMINGUES, G.; DE LA CRUZ, F.; DEL VAL, M. *Production of radioactive isotopes in Spain*. Oak Ridge, Tenn., Oak Ridge National Laboratory, Apr. 1964. (ORNL-tr-295).
15. DOUIS, M. *Preparation of colloidal Au-198*. Berkeley, Calif., University California, sem data. (URCL-Trans-1461).

(* As referências bibliográficas relativas a documentos localizados pelo IEA foram revistas e enquadradas na NB-66 da ABNT,

16. DUNCAN, J. S. *Introdução, à química dos colóides e superfícies*. São Paulo, Universidade de São Paulo, 1975.
17. DYER, J. R. *Aplicações da espectroscopia de absorção aos compostos orgânicos*. São Paulo, Blücher, 1969. p.5.
18. EMERY, J. F. & LEDDICOTTE, G. W. *The radiochemistry of the gold*. Washington, D. C., National Research Council, 1961. (NAS-NS-3036).
19. GIRARDI, F. & PIETRA, R. Analisi delle dimensioni di particelle de oro colloidale radioattivo mediante centrifugazione. *Minerva nucl.*, 5(5):97-101, mag. 1961.
20. GMELINS handbuch der anorganischen chemie: gold. Frankfurt, Gmelin Institute for Inorganic Chemistry of the Max-Planck-Society for Advancement of Science, 1954. p.62.
21. HENRY, R.; HERCEZEG, C.; FISCHER, C. Une nouvelle méthode de préparation d'or colloidal radioactif. *Int. J. appl. Radiat. Isotopes*, 2(2):136-9, 1957.
22. HUDSWELL, F.; MILES, B. J.; PAYNE, B. R.; TAYLOR, K. J. *The preparation of radio-gold for medical use (¹⁹⁸Au)*. Harwell, Berks., Atomic Energy Research Establishment, Jan. 1954. (AERE-1/R 1341).
23. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Radioisotope production and quality control*. Vienna, 1971. (Technical reports series, 128 STI/DOC/10/128).
24. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Radiopharmaceuticals from generator – produced radionuclides: proceedings of a panel on... held in Vienna, 11-15 May 1970*. Vienna, 1971. (Panel proceedings series).
25. IYA, V. K.; GOPAL, N. G. S.; CHOWDHARY, S. Y. Colloidal gold. Study of the progress of colloid formation by spectrophotometry, iodometry, and radiometry. *Indian J. Chem.*, 5(2):45-7, 1967.
26. IYA, V. K. et alii. Colloidal gold preparation and particle size determination by electron microscope. *Indian J. Chem.*, 3:317, 1965.
27. KIRIEEV, V. *Physical chemistry*. Moscow, Higher Scholl, 1968. p.101.
28. KRATKY, O. et alii. Some innovations in the technique and evaluation of X-ray small-angle measurements. *Z. Elektrochem.*, 55:53-9, 1951.
29. MAJUMDAR, A. K. & CHAKRABARTTY, M. M. *Anal. Chim. Acta*, 19:129-31, 1958 apud CARO, R. A.; PAOLI, T. de; HAGER, A.; NICOLINI, J.; RADICELLA, R. *Preparación y comportamiento biológico de um coloide de oro radioativo protegido com polivinilpirrolidona (PVP)*. Buenos Aires, Comision de Energia Atomica, 1968. p.24 (CNEA-213).
30. MIKHEEV, N. B. Radioactive colloidal solutions and suspensions for medical use. *Atom. Energy Rev.*, 14:3-36, 1976.
31. MIRZA, M. Y. & AKHTHAR, M. Experience in the preparation of colloidal gold-198 for medical use. *Radiochimica Acta*, 21:212-3, 1974.
32. MIYAKAWA, T. & YOSHIZAWA, Y. Considerations on clinical uses of colloidal radioisotopes. In: PROCEEDINGS of the 4th Japan Conference of Radioisotopes. sem local, editor, 1961. p.873-5.

33. MULLER, J. H. *Radioactive isotope therapy, with particular reference to the use of radiocolloids*. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1961. p.30-45. (Review series, 27-STI/PUB/15/27).
34. PANNETIER, R. *Contrôle des rayonnements ionisants et mise in oeuvre des techniques de protection. Vademecum du technicien: table des isotopes, v.2*. Moulins-les-Metz, Maisonneuve, 1965.
35. ROUSSELET, J. P. *Contribution a l'étude pharmacologique du transport des colloïdes d'or radioactif par le sang et les exsudats séreux*. Saclay, CEA Centre d'Études Nucléaires de Saclay, 1967. (CEA-R 3064).
36. SATERBORG, N. E. The distribution of ^{198}Au injected intravenously as a colloid and in solution. *Acta radiol. Therapy Physics Biology*, 12(6):509-28, Dec. 1973.
37. SUITO, E. & UEDA, N. Absorption spectra and electron microgram of gold sol. *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, 30:38-9, 1952.
38. SUITO, E. & UEDA, N. Electron microscopy and diffraction of triangular particles of gold sol. *Kagaku*, 21:598-9, 1951.
39. TUBIS, M. & WJLF, W. *Radiopharmacy*. New York, N. Y., Wiley, 1975. p.419-23.
40. TURCO, A. M. del & PIETRA, R. Su un metodo di preparazione di ^{198}Au colloidale. *Minerva nucl.*, 4(7-8):189-93, lug. ago. 1960.
41. TURKEVICH, J. & HILLIER, J. Electron microscopy of colloidal systems. *Analyt. Chem.*, 21(4):475-85, Apr. 1949.
42. TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLER, J. The formation of colloidal gold. *J. phys. Chem. (Washington)*, 57(7):670-3, Oct. 1953.
43. TURKEVICH, J. et alii. Electron microscopy and small-angle x-ray scattering. *Discuss. Faraday Soc.*, (8):348-52, 1950.
44. TURKEVICH, J. et alii. *Jl Coll. Sc.*, (t.9), (suppl. 1), 1954, p.26-35 apud CARO, R. A. & INGRAND, J. Détermination spectrophotométrique de la taille des particules d'or colloïdal radioactif. *Rev. Opt.*, 44(6):293, Juin, 1965.
45. TURKEVICH, J. et alii. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discuss. Faraday Soc.*, (11):55-75, 1951.
46. VELJOKOVIĆ, S. R. & STEVOVIĆ J. V. Stabilization of the colloidal ^{198}Au . *Bull. Inst. nucl. Sci. Boris Kidrich*, 10(207):75-86, Mar. 1960.
47. WIEDMANN, G. & FREYER, G. *Various methods for the experimental determination of the size of minute particles by means of X-rays*. Harwell, Berks, Atomic Energy Research Establishment, sem data. (AERE-Trans-11/3/5423).
48. YUDOWITCH, K. L. Particle size determination by soft X-ray scattering. *J. appl. Phys.*, 20(2):174-82, Feb. 1949.
49. ZILVERSMIT, D. B.; BOYD, G. A.; BRUCER, M. The preparation and particle size measurement of mono disperse radioactive gold colloids. *J. Lab. clin. Med.*, 40:261-6, 1952.

50. ZSIGMONDY, R. *Zeitschr. f. Physik, Chem.*, 56:65-83, 1906 apud CARO, R. A.; PAOLI, T. de; HAGER, A.; NICOLINI, J.; RADICELLA, R. *Preparacion y comportamiento biológico de um coloide de oro radioativo protegido com polivinilpirrolidona (PVP)*. Buenos Aires, Comision de Energia Atomica, 1968. p.24 (CNEA-213).



INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA
Caixa Postal, 11049 – Pinheiros
CEP 05508
01000 – São Paulo – SP

Telefone: 211-6011
Endereço Telegráfico – IEATOMICA
Telex – 011-23592 IENA BR