

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SECRETARIA DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ESTUDO DO EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE A MOLÉCULA DE
TETRACICLINA RELATIVAMENTE AO SEU COMPORTAMENTO COMO
AGENTE COMPLEXANTE E EXTRATOR**

Leonardo Gondim de Andrade e Silva

Tese apresentada ao Instituto de
Pesquisas Energéticas e Nucleares como
parte dos requisitos para obtenção do
Grau de "Doutor na Área de Concentração
em Tecnologia Nuclear Básica".

Orientador: Dra. Maria José Coutinho Nastasi

São Paulo
1982

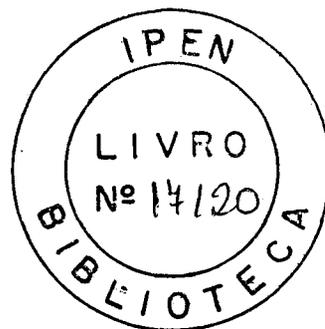
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SECRETARIA DA INDÚSTRIA COMÉRCIO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESTUDO DO EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE A MOLÉCULA DE
TETRACICLINA RELATIVAMENTE AO SEU COMPORTAMENTO
COMO AGENTE COMPLEXANTE E EXTRATOR

Leonardo Gondim de Andrade e Silva

Tese apresentada ao Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
"Doutor na Área de Concentração em
Tecnologia Nuclear Básica"

Orientadora: Dra. Maria José Coutinho Nastasi



SÃO PAULO

1982

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

A minha esposa; Graciete

A meu futuro filho/a

A meus pais: Jader e Carmen

A G R A D E C I M E N T O S

Dra. Maria José Coutinho Nastasi, orientadora da Tese.

Dr. Fausto Walter de Lima, Gerente da Diretoria Executiva I.

Eng. Hernani Augusto Lopes de Amorim.

Dra. Laura Tognoli Atalla.

Dra. Antonia do Amaral.

Colegas da Área de Radioquímica.

Italo Salzano Júnior.

Selma Mateus Loureiro Guedes.

Integrantes da Divisão de Informação e Documentação Científica.

Graciete Simões de Andrade e Silva.

Agradeço

pela orientação, sugestões,
colaboração e estímulo.

O trabalho intitulado "ESTUDO DO EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE A MOLÉCULA DE TETRACICLINA RELATIVAMENTE AO SEU COMPORTAMENTO COMO AGENTE COMPLEXANTE E EXTRATOR" que se constitui na Tese de Doutorado de LEONARDO GONDIM DE ANDRADE E SILVA, foi parcialmente financiado pela Comissão Nacional de Energia Nuclear. Por este motivo o autor apresenta os seus agradecimentos a essa Comissão.

ESTUDO DO EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE A MOLÉCULA DE
TETRACICLINA RELATIVAMENTE AO SEU COMPORTAMENTO COMO AGENTE
COMPLEXANTE E EXTRATOR.

LEONARDO GONDIM DE ANDRADE E SILVA

R E S U M O

Utilizaram-se as técnicas de extração com sol_uventes e espectrofotométrica para mostrar as alterações que a radiação gama provoca na molécula de tetraciclina com re_lação ao seu comportamento como agente complexante e extra_tor.

Examinou-se o efeito da radiação gama não só sobre a molécula de tetraciclina no estado sólido, mas, tam_bém, sobre o álcool benzílico, que foi o diluente utilizado para dissolver a tetraciclina, e, ainda, sobre a pr_opria so_lução de tetraciclina em álcool benzílico, nos sistemas de extração constituídos por soluções aquosas do traçador ra_dioativo ^{152}Eu - ^{154}Eu e por soluções de tetraciclina em ál_lcool benzílico.

Estudou-se a existência ou não da influência da presença de água, utilizada na pré-saturação do álcool benzílico, sobre a radiólise da molécula de tetraciclina u_ssando tanto a técnica de extração com solventes como a es_pectrofotométrica.

Examinaram-se as alterações que os espectros de absorção de soluções de tetraciclina em álcool benzílico apresentam após serem submetidas a diferentes doses de radiação gama lançando mão da técnica espectrofotométrica.

Examinou-se o efeito da radiação gama sobre a molécula de tetraciclina quando soluções desta em álcool benzílico foram submetidas à irradiação em atmosferas de diferentes naturezas (ar atmosférico, O_2 , N_2 , SF_6 e N_2O).

Por meio da técnica espectrofotométrica, calculou-se a variação na concentração das soluções de tetraciclina em álcool benzílico provocada pela ação de diferentes doses de radiação gama sobre a solução de tetraciclina em álcool benzílico.

STUDY OF THE EFFECT OF GAMMA RADIATION ON THE MOLECULE OF
TETRACYCLINE CONCERNING ITS BEHAVIOR AS COMPLEXING AND
EXTRACTING AGENT.

LEONARDO GONDIM DE ANDRADE E SILVA

A B S T R A C T

Both solvent extraction and spectrophotometric techniques were used to show the alterations that gamma radiation causes in the behavior of tetracycline molecule as far as its extracting and complexing power are concerned.

The effect of gamma radiation on the solid tetracycline molecule, benzyl alcohol and on the solution of both was examined in solvent extraction systems whose aqueous phases were made up by ^{152}Eu - ^{154}Eu radioactive tracer solutions and whose organic phases were constituted by tetracycline-benzyl alcohol solutions.

Experiments were performed in order to determine whether or not the water used for the pre-saturation of benzyl alcohol would influence the radiolysis of tetracycline. Solvent extraction and spectrophotometry were the techniques used to obtain the necessary data.

Absorption spectra of irradiated tetracycline-benzyl alcohol solutions submitted to several gamma radiation doses were examined and the alterations shown by these spectra

were examined.

The effect of gamma radiation on the tetracycline molecule was also studied when tetracycline-benzyl alcohol solutions were irradiated under several gaseous atmospheres, namely: O_2 , N_2 , SF_6 and N_2O .

The variation on the concentration of the tetracycline-benzyl alcohol solution caused by several doses of gamma radiation was determined by using the spectrophotometric technique.

I N D I C E

	Pág.
RESUMO	
ABSTRACT	
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO II - FUNDAMENTOS TEÓRICOS	12
II.1.- Algumas Considerações Teóricas Sobre a Extração com Solventes	12
II.1.1.- Grandezas que Descrevem o Comportamento de um Sistema de Extração: Razão de Distribuição e Porcentagem de Extração	13
II.2.- Algumas Considerações Teóricas Sobre Química de Radiações	16
II.2.1.- Fontes de Radiação	18
II.2.2.- Substâncias Captadoras de Elétrons .	22
CAPÍTULO III - PARTE EXPERIMENTAL	24
III.1.- Equipamentos e Materiais de Laboratório Usados	24
III.2.- Reagentes	25
III.3.- Preparação das Soluções	26

	Pág.
III. 4.- Irradiação das Amostras	28
III. 5.- Modo de Operação Adotado Para a Realização dos Experimentos de Extração	30
III. 6.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Ra dição Gama Sobre a Molécula de Tetracicl <u>i</u> na no Estado Sólido	32
III. 7.- Espectros de Absorção Obtidos na Região do Infravermelho para a Molécula de Tetracicl <u>i</u> na no Estado Sólido	33
III. 8.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Ra dição Gama Sobre o Álcool Benzílico	33
III. 9.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Ra dição Gama Sobre a Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico	33
III.10.- Verificação da Existência (ou Não) da Influ ência da Prê-Saturação do Álcool Benzílico com Água, Sobre o Valor da Extração	34
III.11.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Irra diadas de Tetraciclina em Álcool Benzílico Prê-Saturado e Não-Saturado Previamente com Água	34
III.12.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama	35

	Pág.
III.13.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Aquo- sas de Tetraciclina Irradiadas e Não-Irra- diadas Quando em Ausência e em Presença de Íons de Európio	36
III.14.- Verificação da Variação na Eficácia de Ex- tração em Função do Tempo Decorrido Após a Preparação e Após a Irradiação da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico Prê-Sa- turado com Água	38
III.15.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Quando Submetida à Irradiação em Atmosferas de Diferentes Natu- rezas	39
III.16.- Decomposição da Solução de Tetraciclina. Es- tudos Feitos com Relação ao Grupamento β -Di- cetona Fenólica	39
CAPÍTULO IV - RESULTADOS	41
IV. 1.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Ra- dição Gama Sobre a Molécula de Tetracicli- na no Estado Sólido	41
IV. 2.- Espectros de Absorção Obtidos na Região do Infravermelho para a Molécula de Tetracicli- na no Estado Sólido	46
IV. 3.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Ra- dição Gama Sobre o Álcool Benzílico	46

IV. 4.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Radiação Gama Sobre a Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico	52
IV. 5.- Verificação da Existência (ou Não) da Influência da Prê-Saturação do Álcool Benzílico com Água, Sobre o Valor da Extração	57
IV. 6.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Irradiadas de Tetraciclina em Álcool Benzílico Prê-Saturado e Não-Saturado Previamente com Água	62
IV. 7.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama	66
IV. 8.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Aquosas de Tetraciclina Irradiadas e Não-Irradiadas Quando em Ausência e em Presença de Ions de Európio	68
IV. 9.- Verificação da Variação na Eficácia de Extração em Função do Tempo Decorrido Após a Preparação e Após a Irradiação da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico Prê-Saturado com Água	75
IV.10.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Quando Submetida à Irradiação em Atmosferas de Diferentes Naturezas	79

	Pág.
IV.10.1.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina <u>I</u> r radiada em Atmosfera de Oxigênio .	80
IV.10.2.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina <u>I</u> r radiada em Atmosfera de Nitrogênio.	85
IV.10.3.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Irradiada em Atmosfera Constituída por Gases Captadores de Elêtrons .	91
IV.11.- Decomposição da Solução de Tetraciclina. Estudos Feitos com Relação ao Grupamento β -Diketona Fenólica	94
CAPÍTULO V - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	102
APÊNDICE I - TESTES ESTATÍSTICOS PARA VERIFICAR AS CONDIÇÕES DE PARALELISMO E COINCIDÊNCIA DE DUAS RETAS	127
I. 1.- Teste Estatístico Para Verificar a Condição de Paralelismo Entre Duas Retas	128
I. 2.- Teste Estatístico Para Verificar a Condição de Coincidência de Duas Retas	130
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	133

CAPÍTULO I

I N T R O D U Ç Ã O

O grupo de antibióticos denominados tetraciclina_s tem encontrado aplicação no campo da medicina desde os primeiros anos da década de 50.

Em 1953 foi descoberta a tetraciclina que é uma das substâncias da família de antibióticos da qual fazem parte a oxitetraciclina e a clorotetraciclina. É sobre a tetraciclina (Acromicina) que se desenvolve o presente estudo.

A tetraciclina é uma substância cristalina, amarela, de fórmula $C_{22}H_{24}N_2O_8$ e de peso molecular igual a 444,43.

A estrutura da molécula de tetraciclina é a seguinte:

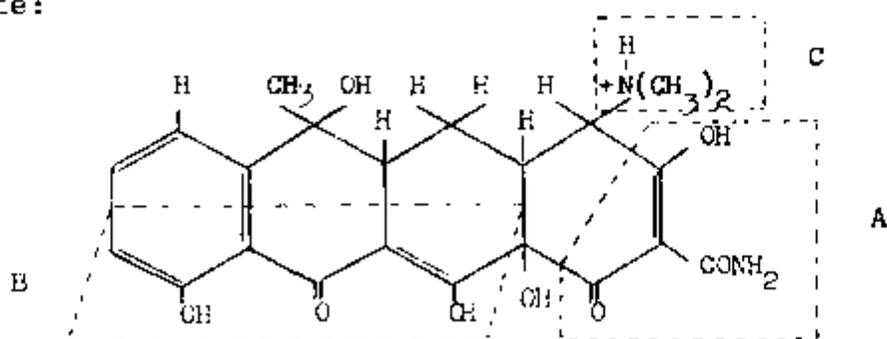


FIGURA I.1

CAP. I

Os grupamentos A, B e C destacados na Figura I.1, são os três grupos ácidos da molécula, a saber, o sistema tricarbonilmetano (A), o sistema β -dicetona fenólica (B) e o sistema dimetil-amônio (C), cujos valores dos respectivos pK são: $pK_1 = 3,30$; $pK_2 = 7,68$ e $pK_3 = 9,69$, conforme determinações feitas por Leeson e colaboradores⁽²²⁾.

As tetraciclinas, além de serem muito usadas em medicina, encontram aplicação no campo da Química Analítica.

Vários pesquisadores dedicaram-se ao estudo das características e das propriedades das tetraciclinas fora do campo da medicina, levando em conta suas propriedades complexantes, e mostraram a ocorrência da formação de complexos entre as tetraciclinas e vários íons metálicos^(1,2,3,4,5,8,17,26,35,44).

Albert⁽¹⁾ foi um dos primeiros a estudar o comportamento complexante das tetraciclinas, determinando as constantes de estabilidade dos complexos formados tanto pela oxitetraciclina como pela clorotetraciclina com diversos cátions metálicos, a saber: Fe(III), Cu(II), Ni(II), Fe(II), Co(II), Zn(II) e Mn(II). Em colaboração com Rees, Albert⁽²⁾ determinou também o valor dessas constantes usando a própria tetraciclina e os íons acima citados incluindo também o íon Al(III). De acordo com esses dois trabalhos ficou comprova

CAP. I

do que tanto a tetraciclina como as substâncias dela derivadas, formam complexos estáveis com os diversos cátions metálicos examinados.

Maxwell e colaboradores⁽²⁶⁾ investigaram a formação de complexos entre a tetraciclina e os elementos alcalino-terrosos determinando as respectivas constantes de estabilidade, utilizando o método da titulação potenciométrica.

Doluisio e Martin⁽⁸⁾, também lançando mão do método da titulação potenciométrica, calcularam as constantes de estabilidade dos complexos formados entre os íons de Ni(II) e de Zn(II) com a tetraciclina e com alguns de seus derivados.

Caira e colaboradores⁽⁵⁾ estudaram a formação do complexo entre a tetraciclina e o íon Au(III).

Benet e Goyan⁽⁴⁾ determinaram as constantes de estabilidade dos complexos formados entre Cu(II) e tetraciclina assim como também entre Cu(II) e derivados da tetraciclina.

Utilizando o método colorimétrico, Sakaguchi e colaboradores⁽³⁵⁾ determinaram as constantes de estabilidade dos complexos formados entre os íons Fe(III), Zr(IV),

CAP. I

Th(IV), UO_2 (II), Al(III) e Mg(II) e alguns dos derivados da tetraciclina.

Baker e Brown⁽³⁾ estudaram as propriedades magnéticas e espectrais dos complexos formados entre a tetraciclina e os íons Co(II) e Ni(II).

Usando o método da titulação potenciométrica, Silva e Dias⁽⁴⁴⁾ determinaram as constantes de estabilidade dos complexos formados entre a tetraciclina e os íons Mg(II), Ca(II), Sr(II), Ba(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) e Cd(II).

Vários pesquisadores^(3,6,7,8,17,18,21,31,36,46,47) preocuparam-se em estudar os complexos que a tetraciclina e seus análogos formam com os íons metálicos relativamente à posição da molécula do ligante por meio da qual o íon metálico a ela se fixa.

A primeira aplicação da tetraciclina para uma separação química foi apresentada por Masters⁽²⁵⁾ para determinar ^{90}Sr em amostras de grama, utilizando a técnica de extração com solventes. Em seguida, o próprio Masters⁽²⁴⁾, apresentou um estudo sobre as possibilidades do uso da tetraciclina como agente extrator, para separação de diferentes metais entre si, a saber: titânio, escândio, ferro, níquel, ítrio, nióbio, tálio e chumbo.

CAP. I

Na Área de Radioquímica do IPEN já há bastante tempo vêm sendo desenvolvidos estudos sobre o comportamento da tetraciclina como agente complexante e extrator.

Nastasi e Lima^(28,29) estudaram a formação de complexos entre a tetraciclina e os elementos lantanídicos e investigaram a possibilidade de usar este agente complexante para separar não só os elementos lantanídicos entre si, mas também para separar urânio desses elementos.

Saiki e Lima⁽³⁶⁾ determinaram as constantes de estabilidade dos complexos formados entre os elementos lantanídicos e a tetraciclina. Para o cálculo dos valores das constantes de estabilidade os autores lançaram mão de diferentes métodos e a técnica por eles escolhida para a obtenção dos dados experimentais foi a extração com solventes.

Nastasi e Lima⁽³⁰⁾ estudaram a extração do neptúnio com solução de tetraciclina em álcool benzílico em função do pH da fase aquosa, assim como também mostraram a possibilidade de utilizar a tetraciclina para obter a separação entre urânio e neptúnio.

Saiki e Lima⁽³⁷⁾ estudaram a separação entre tório e urânio usando a técnica de extração com solventes, atuando a tetraciclina como agente complexante e o ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA) como agente mascarante para o tório.

CAP. I

Saiki e Lima⁽³⁸⁾ estudaram a separação de urânio de lantanídeos e escândio, usando o EDTA como agente mascarante de escândio e lantanídeos. Em outros trabalhos dos mesmos autores foi estudada a separação de urânio de uma série de elementos⁽³⁹⁾, e a separação de escândio e zinco entre si⁽⁴⁰⁾.

Em trabalhos mais recentes, Saiki e Lima de terminaram as constantes de estabilidade dos complexos formados entre o tório e a tetraciclina⁽⁴¹⁾ e, ainda, estudaram a extração do protoactínio e a separação de urânio de protoactínio e tório e, de tório e protoactínio entre si⁽⁴²⁾.

Os diversos trabalhos realizados na Área de Radioquímica do IPEN, mostraram que a substância tetraciclina apresenta características adequadas para ser utilizada quando se visa obter a separação entre si de urânio, tório, lantanídeos e elementos transurânicos. Os estudos até agora desenvolvidos, foram feitos com soluções contendo os radioisótopos dos elementos considerados, no nível de atividade correspondente ao de traçadores, isto é, soluções com nível de radioatividade muito baixa.

Em vista dos bons resultados que, do ponto de vista de separações químicas, já foram obtidos, apresenta interesse estudar o efeito da radiação gama sobre o reagente tetraciclina, tendo agora como finalidade estudar a pos

sibilidade de utilizar este complexante em sistemas de extração em que o nível de radioatividade situa-se acima do nível de traçadores.

Tendo como objetivo explorar o uso da radiação para esterilizar antibióticos, entre os quais a tetraciclina, já foram publicados trabalhos em que é apresentado o efeito da radiação gama sobre essas substâncias, no estado sólido, incluindo a tetraciclina e seus derivados^(9,10,13,20). Nesses trabalhos foram estudadas, principalmente, as mudanças provocadas pela radiação na atividade biológica dos antibioticos.

O efeito da radiação ionizante sobre soluções de antibióticos foi estudado somente por poucos autores^(11, 12,16,33).

Holland e colaboradores⁽¹⁶⁾ estudaram as mudanças ocorridas em algumas propriedades de soluções aquosas e metanólicas de oxitetraciclina e de clorotetraciclina provocadas pelo efeito da radiação gama.

Dziegielewski⁽¹²⁾ estudou o efeito da radiação gama sobre soluções de tetraciclina e determinou a quantidade de tetraciclina decomposta, por meio de diferentes métodos.

CAP. I

Jacobs⁽¹⁹⁾ estudou a esterilização do cloridrato de tetraciclina por ação da radiação gama, e Dziegielewski e colaboradores⁽¹⁰⁾ estudaram a radiólise da tetraciclina no estado sólido.

Em trabalho mais recente, Dziegielewski e colaboradores⁽¹⁴⁾ estudaram a reatividade da tetraciclina e da oxitetraciclina com radicais OH, quando submetidas à radiação.

No presente trabalho foi examinado o efeito da radiação gama sobre a molécula de tetraciclina relativamente ao seu comportamento como agente complexante e extrator. Neste estudo foi considerado o efeito da radiação gama não somente sobre a tetraciclina no estado sólido, mas, também, sobre a solução de tetraciclina em álcool benzílico e, ainda, sobre o álcool benzílico sozinho, por ser este diluente utilizado no processo de extração.

Estes estudos consistiram na determinação da variação da porcentagem de extração de íons lantanídicos (Eu(III)), em função da variação do pH, usando tetraciclina e álcool benzílico, irradiados e não-irradiados.

Os experimentos foram executados utilizando o álcool benzílico previamente equilibrado com água destilada. Por este motivo, foi examinada a existência ou não da influ

CAP. I

ência da pré-saturação do álcool benzílico com água, sobre a variação da extração. Esta verificação foi feita porque as moléculas de água que se encontram na solução orgânica devido à existência da miscibilidade mútua entre álcool benzílico e água, poderiam dar origem aos radicais livres, produtos da radiólise da água, e contribuir para alterações na molécula de tetraciclina. Com a finalidade de verificar, por outro meio, se há ou não influência da presença das moléculas de água na degradação da molécula de tetraciclina causada pela radiação gama, foi realizada a comparação dos espectros de absorção obtidos para as soluções de tetraciclina em álcool benzílico com e sem pré-saturação com água.

Realizaram-se medidas espectrofotométricas observando as modificações provocadas pela radiação gama nos espectros de absorção de soluções de tetraciclina em álcool benzílico.

Também foi estudado o comportamento de soluções aquosas de tetraciclina não-irradiadas e irradiadas, relativamente à sua ação como agente complexante de íons lanthanídicos (Eu(III)), por meio da técnica espectrofotométrica.

Foi verificada a variação na eficácia de extração em função do tempo decorrido após a preparação e após a irradiação da solução em álcool benzílico pré-saturado com água.

Foi estudado o efeito de diferentes doses de radiação gama sobre a extração do európio quando soluções de tetraciclina em álcool benzílico foram irradiadas em atmosferas de diferentes naturezas, a saber: oxigênio, nitrogênio, óxido nitroso e hexa-fluoreto de enxofre. Os resultados obtidos foram comparados com os referentes às operações de extração realizadas com a solução de tetraciclina em álcool benzílico ao ar atmosférico.

Por meio da técnica espectrofotométrica foi calculada a variação na concentração das soluções de tetraciclina em álcool benzílico provocada pela ação de diferentes doses de radiação gama sobre a solução de tetraciclina em álcool benzílico.

Deve ser notado que, muito embora existam já na literatura estudos referentes à radiólise da tetraciclina em soluções aquosa e metanólica⁽¹²⁾, não foram encontrados trabalhos referentes a estudos feitos para a solução de tetraciclina em álcool benzílico.

Além disso, os trabalhos já existentes sobre a radiólise da tetraciclina não consideram o seu comportamento como agente complexante e extrator, no que consiste precisamente, o objetivo do presente trabalho.

Desta forma, realizaram-se no presente trabalho

CAP. I

lho os estudos cujo objetivo é saber se a radiação gama provoca alterações na molécula de tetraciclina modificando o seu desempenho como agente extrator, quando a tetraciclina encontra-se dissolvida em álcool benzílico. Com esta finalidade comparou-se o comportamento, quanto à extração de ^{152}Eu - ^{154}Eu , de soluções não-irradiadas de tetraciclina em álcool benzílico com o comportamento de soluções de tetraciclina em álcool benzílico preparadas usando, por um lado, a tetraciclina irradiada no estado sólido, por outro lado, o álcool benzílico irradiado e, finalmente usando a própria solução irradiada de tetraciclina em álcool benzílico, para a execução dos experimentos de extração.

Por outro lado, utilizou-se a técnica espectrofotométrica para examinar as alterações que a radiação gama provoca na molécula de tetraciclina com relação à sua capacidade de agente complexante.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Deve ser ressaltado o fato de que, no presente trabalho, em que é feito o estudo do efeito da radiação gama sobre a molécula de tetraciclina, lançou-se mão, principalmente, de duas técnicas, a saber, a extração com solventes e a espectrofotometria, para examinar os sistemas estudados, antes e depois de serem submetidos à ação da radiação gama.

Por este motivo serão apresentadas, inicialmente, algumas considerações sobre as duas grandezas que servem para descrever o comportamento de um sistema de extração, que são a razão de distribuição e a porcentagem de extração. Serão, a seguir, feitas considerações sobre a Química de Radiações.

II.1.- Algumas Considerações Teóricas Sobre a Extração com Solventes.

A extração com solventes está baseada na distribuição ou partição de um soluto entre duas fases praticamente imiscíveis.

II.1.1.- Grandezas que Descrevem o Comportamento de um Sistema de Extração: Razão de Distribuição e Porcentagem de Extração.

A grandeza constante de distribuição, K_D , também chamada de coeficiente de partição, somente é aplicável a sistemas nos quais o soluto se encontra em ambas as fases sob a mesma forma química ou seja, com o mesmo peso molecular. Porém, no caso de o soluto apresentar fenômenos de associação ou dissociação em uma ou em ambas as fases, os valores determinados experimentalmente para a relação das concentrações ou atividades termodinâmicas nas duas fases, não são independentes da concentração total do soluto.

Já que, na maioria das aplicações práticas da extração com solventes, o interesse principal reside na determinação da fração total do soluto presente em uma ou em outra fase, é introduzida uma nova grandeza, qual seja, a razão de distribuição, D , que leva em consideração as concentrações totais do soluto em cada uma das fases, sem levar em consideração seu modo de dissociação, associação ou interação com outras espécies dissolvidas.

Portanto, a razão de distribuição, D , de um metal que se distribui entre uma fase aquosa e uma orgânica será dada pela seguinte relação:

CAP. II

$$D = \frac{\text{concentração total de metal na fase orgânica}}{\text{concentração total de metal na fase aquosa}} \quad (\text{II.1})$$

Do ponto de vista analítico, a razão de distribuição, D , tem interesse muito maior do que a constante de distribuição, K_D , porque a razão de distribuição inclui todas as espécies do mesmo componente em cada uma das fases. Desta forma, segue que a razão de distribuição representa a distribuição total ou estequiométrica do componente de interesse entre as fases.

Tratando-se de sistemas onde as condições são ideais, isto é, onde as espécies não se associam nem se dissociam e nem tomam parte em reações com outros componentes, a razão de distribuição torna-se igual à constante de distribuição:

$$D = K_D \quad (\text{II.2})$$

Do ponto de vista analítico, a outra grandeza que é extremamente importante para descrever o comportamento de um sistema de extração é a porcentagem de extração, $\%E$, que representa a porcentagem da quantidade total do distribuendo que está presente na fase orgânica após a realização da operação de extração, ou seja, após a ocorrência da partição.

CAP. II

$$\%E = \frac{\text{quantidade de soluto presente na fase orgânica}}{\text{quantidade de soluto inicialmente presente}} \times 100 \quad (\text{II.3})$$

A porcentagem do metal extraído para a fase orgânica varia em função do pH da fase aquosa e para cada valor de pH é dada pela seguinte equação:

$$\%E = 50 \{ 1 - \tanh 1,1513 N \{ \text{pH}_{1/2} - \text{pH} \} \} \quad (\text{II.4})$$

onde:

$\%E$ - porcentagem do metal extraído.

N - carga do cátion do metal considerado.

$\text{pH}_{1/2}$ - valor do pH para o qual a extração atinge o valor de 50%.

A representação gráfica da equação (II.4) é uma curva sigmóide na qual os valores de 0% e 100% de extração são atingidos assintoticamente.

A porcentagem de extração, $\%E$, e a razão de distribuição, D , estão relacionadas entre si da seguinte maneira:

$$\%E = \frac{100 D}{D + V_a/V_o} \quad (\text{II.5})$$

sendo:

CAP. II

$\%E$ - porcentagem de extração.

D - razão de distribuição.

V_a - volume da fase aquosa.

V_o - volume da fase orgânica.

quando $V_a = V_o$ segue:

$$\%E = \frac{100 D}{D + 1} \quad (\text{II.6})$$

Do ponto de vista analítico é mais conveniente apresentar os resultados em termos de porcentagem de extração ao invés de razão de distribuição. Quando a eficiência da extração se aproxima de 100%, a razão de distribuição tende para infinito como limite. Para valores de porcentagem de extração compreendidos entre 99 e 100%, que indicam uma extração quase completa, os valores correspondentes da razão de distribuição variam desde 99 até infinito. Uma observação inicial dos valores da razão de distribuição tão diferentes poderia, erroneamente, sugerir uma discrepância séria, quando na realidade, a extração é quase completa se ja ela expressa em termos de porcentagem de extração seja em termos de razão de distribuição.

II.2.- Algumas Considerações Teóricas Sobre Química de Radiações.

CAP. II

A Química de Radiações é definida por Spinks⁽⁴⁵⁾ como sendo o estudo dos efeitos químicos produzidos em um sistema pela absorção da radiação ionizante. Entre estas radiações ionizantes destacam-se os raios X, raios gamma, elétrons, prótons, dêuterons, partículas alfa, etc.

Pode-se considerar que as radiações ionizantes modificam a estrutura físico-química da matéria pela distribuição quantizada de energia que permanece localizada dentro de um volume de dimensões moleculares. A maioria dos processos primários importantes são colisões nas quais a energia da radiação é transferida para o sistema eletrônico do átomo ou da molécula. Essa energia transferida pode ser suficiente para romper as ligações químicas.

Quase todos os materiais quando sob a ação de radiações ionizantes, sofrem um conjunto de fenômenos que pode ser dividido em três estádios característicos; a saber:

1. Estádio físico (10^{-18} a 10^{-15} s), durante o qual ocorre a transferência de energia da radiação para a matéria. Esse processo leva principalmente a excitações moleculares e ionizações. As espécies primárias formadas em geral são muito instáveis sofrendo, logo a seguir, reações secundárias tanto espontaneamente como por colisões com moléculas vizinhas.

CAP. II

2. Estádio físico-químico (10^{-14} a 10^{-11} s), durante o qual são produzidas espécies secundárias reativas, comumente átomos ou radicais livres, que podem resultar de uma reação única ou de uma sucessão complexa de reações.
3. Estádio químico (10^{-10} s em diante), que se inicia quando o sistema restabelece seu equilíbrio térmico que havia sido alterado pela absorção da energia da radiação. Nessa fase as espécies reativas continuam a reagir entre si e com outras espécies vizinhas.

Os produtos primários são os precursores de todos os fenômenos observáveis decorrentes da absorção de energia.

Em certos casos, as espécies secundárias reativas formadas que muitas vezes são os radicais livres, têm uma vida muito curta, recombina-se prontamente e volta a formar, em alguns casos, a espécie original e dando origem, em outros casos a novos produtos que são os chamados produtos de radiólise. No caso em que ocorre a recombinação, o resultado global é a inexistência de alterações nas propriedades do material ou da substância submetida à ação da radiação gama.

II.2.1.- Fontes de Radiação

CAP. II

As fontes de radiação usadas na Química de Radiações podem ser classificadas em três grupos⁽³²⁾:

- a- Fontes de radioisótopos,
- b- Máquinas aceleradoras de partículas,
- c- Reatores nucleares.

O primeiro grupo inclui as fontes clássicas de radiação, como o rádio e o radônio e, também, após a descoberta dos isótopos radioativos artificiais, o ^{60}Co , ^{137}Cs e ^{90}Sr . Com relação às classificadas no segundo grupo, a mais antiga e a mais usada é o tubo de raios X. Também são incluídos nesse grupo os aceleradores lineares, o Van de Graaff, o betatron, o ciclotron e outros engenhos que envolvem altas energias. Os reatores nucleares podem ser usados como fontes de nêutrons e de raios gama.

As características energéticas destas fontes e a quantidade de energia depositada pela radiação emitida por unidade de percurso num determinado material, definem os seus respectivos campos de aplicação.

A energia absorvida por unidade de massa denomina-se dose absorvida e, em Química de Radiações, é expressa, geralmente, em termos de uma unidade denominada Gray^(*), com seus respectivos múltiplos: kGy e MGy. Um Gray corresponde a 10^4 ergs de energia absorvidos por grama de produto irra

(*) A unidade de dose de radiação absorvida, rad, foi alterada desde 19 de junho de 1975 pelo "Bureau International des Poids et Mesures" passando a vigorar em seu lugar Gray(Cy). $1 \text{ Gy} = 10^2 \text{ rad}$.

CAP. II

diado ($1 \text{ Cy} = 10^4 \text{ erg/g}$).

Geralmente, nos processos de irradiação de materiais, procura-se obter uma distribuição a mais homogênea possível da dose absorvida, em todo o volume do produto irradiado. Esta condição, juntamente com o valor da dose de radiação requerida para que um dado processo tenha lugar, são os fatores essenciais que decidem a aplicação de um ou de outro tipo de fonte de radiação.

Neste Capítulo consideraremos o tipo de fonte de radioisótopos, que foi o tipo utilizado no presente trabalho.

Apesar da grande variedade de radioisótopos e de produtos de fissão emissores de radiação gama, o ^{60}Co é o radioisótopo mais utilizado nas fontes de radiação. Esta circunstância é devida a fatores técnicos e econômicos associados ao ^{60}Co , tais como: meia vida, energia da radiação gama emitida, atividade específica, disponibilidade, riscos de operação e custo.

O ^{60}Co é produzido pela irradiação do ^{59}Co em um reator nuclear sendo obtido com uma atividade específica alta. O ^{60}Co emite raios gama com energias de 1,17 e 1,33 MeV e sua meia vida é de 5,27 anos.

CAP. II

Um irradiador de ^{60}Co pode ser utilizado fazendo uma correção da taxa de dose à medida que o ^{60}Co decai com o tempo.

Existe mais de um tipo de arranjos onde a fonte pode ser colocada para o seu uso. O irradiador de ^{60}Co do IPEN é apropriado para irradiações de pequenas amostras e, por possuir uma blindagem de proteção adequada, pode ser colocado num laboratório normal.

O ^{60}Co está em forma de pastilhas localizadas uniformemente em "lâpis" colocados em um suporte que tem a forma circular.

A taxa de dose absorvida, para o irradiador de ^{60}Co , que corresponde à dose absorvida por unidade de tempo, (Gy/h, Gy/s), foi medida pelo uso de um dosímetro de Fricke.

Na dosimetria química a dose de radiação é determinada pelas mudanças químicas produzidas pela radiação em um determinado sistema. Essas mudanças são proporcionais à dose absorvida. Para o cálculo da dose é necessário conhecer o valor de G para a reação ou para o produto formado e este é encontrado pela comparação do sistema químico com algumas formas de dosímetros absolutos. Os dosímetros químicos são dosímetros secundários, e são usados devido a sua gran

CAP. II

de conveniência prática, que é o caso do dosímetro de Fricke.

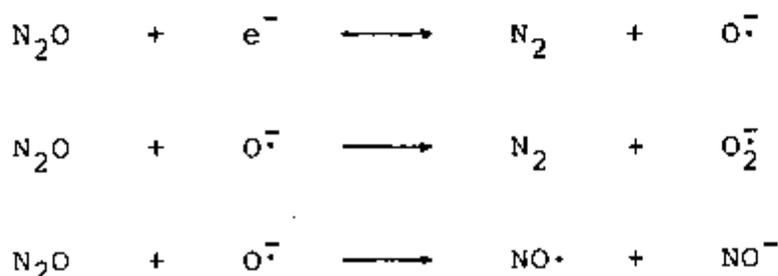
O sistema dosimétrico de sulfato ferroso- sulfato férrico, conhecido como dosímetro de Fricke, é aceito como padrão em Química de Radiações.

O dosímetro de Fricke envolve a transformação de íons ferrosos a íons ferrícos, na presença de oxigênio e sob a influência da radiação.

II.2.2.- Substâncias Captadoras de Elétrons

Substâncias captadoras de elétrons, tais como óxido nitroso e hexa-fluoreto de enxofre, são capazes de alterar o rendimento de produtos formados na radiólise, de cujo mecanismo o elétron participa, e podem ser utilizadas na pesquisa do mecanismo segundo o qual a radiação gama interage com as moléculas das substâncias.

A captura de elétrons pelo N_2O , é representada pelo seguinte mecanismo:



CAP. II

Estas substâncias captadoras de elétrons foram usadas nas irradiações das soluções de tetraciclina em álcool benzílico para verificar se as alterações observadas nas propriedades extratoras da tetraciclina poderiam ocorrer por meio da ação de elétrons.

CAPÍTULO III

P A R T E E X P E R I M E N T A L

III.1.- Equipamentos e Materiais de Laboratório Usados.

- Irradiador de ^{60}Co , "Gammacell 220" da "Atomic Energy of Canada Limited";
- Agitador banho-maria com controle de temperatura, marca B.T.L.;
- Centrífuga marca Clay-Adams;
- Destilador de quartzo para água;
- Medidor de pH marca Metrohm modelo E-350 B;
- Espectrofotômetro marca Perkin-Elmer, modelo 457 A, equi

gado com grade de difração;
- Espectrofotômetro marca Beckman, modelo DB;
- Espectrômetro de raios gama, constituído de um analisador monocanal (Nuclear-Chicago), acoplado a um detector de cintilação de NaI(Tl) do tipo poço, de 5,1 x 4,4 centímetros;
- Para a realização das operações químicas foi utilizado material de uso comum em laboratório, tal como: balões volumétricos, pipetas, buretas, copos, etc.

CAP.III

III.2.- Reagentes.

- Cloridrato de tetraciclina cedido pela Laborterápica Bristol, São Paulo;
- Álcool benzílico de grau de pureza p.a., de procedência Carlo Erba;
- Óxido de európio de grau de pureza p.a., de procedência "British Drug Houses";
- Perclorato de sódio de grau de pureza p.a., de procedência Merck;
- Ácido perclórico de grau de pureza p.a., de procedência Merck;
- Hidróxido de sódio de grau de pureza p.a., de procedência Carlo Erba;
- Cloreto de potássio de grau de pureza p.a., de procedência Reanal;
- Biftalato de potássio de grau de pureza p.a., de procedência QEEL;
- Fosfato monobásico de potássio de grau de pureza p.a., de procedência QEEL;
- Ácido clorídrico de grau de pureza p.a., de procedência Carlo Erba;
- Fenolftaleína, de procedência Merck;
- Nitrogênio gasoso, de procedência White Martins;

CAP. III

- Oxigênio gasoso, de procedência White Martins;
- Óxido nitroso gasoso, de procedência Merck;
- Hexa-fluoreto de enxofre gasoso, de procedência Merck.

III.3.- Preparação das Soluções.

Para a preparação de todas as soluções aquosas usadas no presente trabalho foi empregada água desionizada e em seguida destilada em destilador de quartzo.

A solução de tetraciclina foi preparada pela dissolução do cloridrato de tetraciclina com álcool benzílico previamente saturado com água. Também preparou-se solução de tetraciclina em álcool benzílico sem que este último fosse submetido, previamente, à saturação com água. A dissolução do cloridrato de tetraciclina com álcool benzílico não pré-saturado com água somente foi possível após aquecimento em banho-maria, durante vários minutos.

A solução de perclorato de sódio foi preparada por dissolução do sal mono-hidratado, com água pré-saturada com álcool benzílico.

Tanto o álcool benzílico como a água, usados na preparação das soluções utilizadas nos experimentos de extração, foram pré-saturados, respectivamente, com água e

CAP. III

álcool benzílico. A pré-saturação mútua das fases orgânica e aquosa evita que, durante a operação de extração, ocorra variação nos volumes das fases. Além disso, na pré-saturação do álcool benzílico a água tem a função de retirar o possível ácido benzóico nele existente.

A pré-saturação da fase orgânica consistiu na agitação de volumes iguais de álcool benzílico e água. As fases foram posteriormente separadas por decantação seguida de centrifugação. A fase orgânica pré-saturada foi utilizada nos experimentos de extração e a aquosa foi desprezada. Analogamente, foi realizada a pré-saturação da fase aquosa, usando o solvente orgânico previamente saturado com água numa proporção em volume de 3:1 (água:álcool benzílico).

Para a preparação da solução de ^{152}Eu - ^{154}Eu , primeiramente irradiou-se o óxido de európio, sob um fluxo de nêutrons térmicos de $10^{12} \text{ n}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, no retor IEA-R1, durante oito horas. Posteriormente, a solução foi obtida por dissolução, a quente, do óxido irradiado com algumas gotas de ácido perclórico concentrado, sendo o excesso de ácido eliminado por evaporação da solução até secura. Em seguida foram realizadas diluições sucessivas do resíduo obtido com água pré-saturada com álcool benzílico, de modo a ser obtida uma solução de concentração final $1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ em Eu(III) , contendo perclorato de sódio, numa concentração $0,1 \text{ M}$ para a realização dos experimentos de extração.

CAP. III

As soluções de hidróxido de sódio, e de ácido perclórico, foram preparadas respectivamente, por dissolução do hidróxido e diluição do ácido com água destilada, de modo a serem obtidas soluções de concentração 0,1M.

Para calibração do medidor de pH foram preparadas soluções-tampões de pH = 2,0; 4,0 e 7,0, de acordo com Lange⁽²³⁾. Na preparação dessas soluções foram utilizados cloreto de potássio, fosfato monobásico de potássio, biftalato de potássio, hidróxido de sódio e ácido clorídrico. Como indicador na padronização das soluções foi utilizada fenolftaleína.

III.4.- Irradiação das Amostras.

Todas as amostras irradiadas, a saber: as de tetraciclina no estado sólido, as das soluções de tetraciclina em álcool benzílico e, ainda, as de álcool benzílico sozinho, foram submetidas a diferentes doses de radiação gama proveniente de um irradiador de ⁶⁰Co, com uma atividade de 5450 Ci, calculada em abril de 1978, data em que se iniciaram as irradiações realizadas no presente trabalho.

Para a operação de irradiação no irradiador utilizado, amostras são colocadas na câmara de amostras cujas dimensões são de 15,49 cm de diâmetro por 20,47 cm de altura e é selecionado, no painel de controle, o tempo necessá

CAP. III

rio para que as amostras recebam as doses escolhidas. Acionando o botão de contrôle, a câmara de amostras desce automaticamente, indo colocar-se na posição de irradiação ficando as amostras expostas às radiações do ^{60}Co . Esta fonte está localizada no centro de uma blindagem de chumbo e consiste de 26 "lâpis" cada um dos quais possui 7 pastilhas de cobalto.

A taxa de dose da fonte, determinada pelo uso do dosímetro de Fricke, era de $4,0 \times 10^3$ Gy/h quando foram realizadas as primeiras irradiações referentes ao presente trabalho (abril de 1978). À medida que, no decorrer do tempo, novas irradiações foram sendo realizadas, foram sendo calculadas as novas taxas de dose, devido ao decaimento do ^{60}Co .

No presente trabalho foram também realizadas irradiações das soluções de tetraciclina em álcool benzílico com borbulhamento constante de gases, a saber: N_2 , N_2O , O_2 e SF_6 . O borbulhamento destes gases foi realizado por meio de mangueira de borracha permitindo a conexão entre o cilindro contendo o gás a ser borbulhado e o recipiente contendo a solução a ser irradiada. Esta mangueira foi introduzida na câmara de amostras do irradiador de ^{60}Co pela parte superior, por meio de um duto especial para a realização deste tipo de experimento.

CAP. III

III.5.- Modo de Operação Adotado Para a Realização dos Experimentos de Extração.

Para a execução das operações de extração foram usados funis de separação especialmente feitos para este fim. São recipientes de forma cilíndrica e de capacidade adequada, onde as fases aquosa e orgânica são postas em contato.

O sistema considerado no processo de extração era constituído de 5 ml de solução do traçador ^{152}Eu - ^{154}Eu ($1,0 \times 10^{-5}\text{M}$) contendo perclorato de sódio (0,1M) para manter a força iônica do meio constante, formando a fase aquosa, e 5 ml de solução de tetraciclina ($1,0 \times 10^{-2}\text{M}$) em álcool benzílico pré-saturado com água, formando a fase orgânica. Por adição de volumes adequados de soluções de hidróxido de sódio (0,1M) e ácido perclórico (0,1M) era realizado o ajuste do pH aos valores em que seriam posteriormente executados os experimentos de extração. É importante conhecer os volumes adicionados de hidróxido de sódio e de ácido perclórico porque, para os cálculos das porcentagens de metal extraído, é necessário fazer correções de volume, pois os volumes das duas fases não são iguais. Para ser estabelecido o equilíbrio entre as fases, os recipientes que as continham eram submetidos à agitação, à temperatura de 25°C, em um agitador mecânico termostatizado. O tempo de agitação usado para a realização dos experimentos foi de trinta minutos, tempo

CAP. III

suficiente para ser atingido o equilíbrio entre as fases⁽³⁶⁾.

Terminada a agitação, e após a separação inicial das fases, por decantação nos próprios recipientes onde fora feita a operação de extração, cada uma das fases era transferida para um tubo de centrífuga, a fim de que, por meio da centrifugação, fosse obtida a separação completa entre ambas as fases.

Depois de feita a separação das fases, era medido o valor de pH da fase aquosa, sendo esse o valor tomado como aquele em que o equilíbrio entre as fases fora estabelecido.

De cada uma das fases eram, então, tomadas alíquotas de 1 mililitro, cujas radioatividades eram medidas usando um espectrômetro de raios gama. As medidas de radioatividade foram feitas em sistema integral ou seja, sem discriminação de energias, uma vez que os experimentos foram realizados com os radioisótopos de um único elemento químico.

O cálculo da porcentagem de extração, %E, foi feito usando a seguinte relação:

$$\%E = \frac{(\text{cpm/ml})_o V_o \times 100}{(\text{cpm/ml})_o V_o + (\text{cpm/ml})_a V_a} \quad (\text{III.1})$$

onde,

$(\text{cpm/ml})_o$ - representa a radioatividade, em número de contagens por minuto, de um mililitro da fase orgânica.

$(\text{cpm/ml})_a$ - representa a radioatividade, em número de contagens por minuto, de um mililitro da fase aquosa.

V_o - volume da fase orgânica.

V_a - volume da fase aquosa.

III.6.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina no Estado Sólido.

Para a realização deste estudo amostras de tetraciclina no estado sólido, foram submetidas a doses de radiação gama de $1,6 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy. Posteriormente, as soluções com as quais os experimentos de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu foram realizados (Item III.5), foram preparadas pela dissolução da tetraciclina previamente irradiada, com o álcool benzílico.

Neste estudo, assim como também em todos os estudos que envolveram operações de extração, a concentração inicial da solução de tetraciclina em álcool benzílico foi sempre de $1,0 \times 10^{-2}$ M.

CAP. III

III.7.- Espectros de Absorção Obtidos na Região do Infravermelho para a Molécula de Tetraciclina no Estado Sólido.

Foram registrados e examinados os espectros de absorção na região do infravermelho da tetraciclina no estado sólido, sem irradiação e após ser submetida a uma dose de radiação gama de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy. Em ambos os casos os espectros foram obtidos usando Nujol para obter a suspensão de tetraciclina, usada para a medida.

III.8.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Radiação Gama Sobre o Álcool Benzílico.

O álcool benzílico foi submetido a diferentes doses de radiação gama, a saber: $1,6 \times 10^{-2}$; $6,4 \times 10^{-2}$; $34,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, antes de ser usado para a dissolução da tetraciclina.

III.9.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Radiação Gama Sobre a Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico.

Para a execução deste tipo de estudo as próprias soluções de tetraciclina em álcool benzílico foram submetidas a diferentes doses de radiação gama, a saber: $1,6 \times$

CAP. III

10^{-2} ; $6,4 \times 10^{-2}$; $18,8 \times 10^{-2}$; $34,4 \times 10^{-2}$; $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy. As soluções irradiadas foram usadas, a seguir, para a realização dos experimentos de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu . As operações foram realizadas sempre de acordo com o que está apresentado no Item III.5.

III.10.- Verificação da Existência (ou Não) da Influência da Pré-Saturação do Álcool Benzílico com Água, Sobre o Valor da Extração.

Para este estudo foram utilizadas soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a uma dose de radiação gama de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy. As soluções com as quais o ^{152}Eu - ^{154}Eu foi extraído, foram preparadas usando álcool benzílico tanto pré-saturado como não-saturado previamente com água.

III.11.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Irradiadas de Tetraciclina em Álcool Benzílico Pré-Saturado e Não-Saturado Previamente com Água.

As medidas espectrofotométricas das soluções de tetraciclina preparadas com álcool benzílico pré-saturado e não-saturado previamente com água e, submetidas à dose de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, foram realizadas usando cubetas de quartzo de 5 milímetros de comprimento do percurso.

CAP. III

Fora previamente verificado que, quando são usadas cubetas de quartzo de 5 milímetros de comprimento do percurso, a concentração máxima da solução de tetraciclina em álcool benzílico que pode ser medida no equipamento usado é $1,0 \times 10^{-4}$ M. Em vista deste fato, as soluções de tetraciclina em álcool benzílico cuja concentração inicial era $1,0 \times 10^{-2}$ M quando irradiadas, foram diluídas cem vezes antes de ser feita a medida espectrofotométrica.

III.12.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama.

As medidas espectrofotométricas das soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a diferentes doses de radiação gama, a saber: $1,6 \times 10^{-2}$; $6,4 \times 10^{-2}$; $18,2 \times 10^{-2}$; $34,4 \times 10^{-2}$; $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, foram realizadas usando cubetas de quartzo de 5 milímetros de comprimento do percurso.

Foram examinados e registrados os espectros tanto de soluções cuja concentração era $1,0 \times 10^{-2}$ M quando irradiadas e que foram, posteriormente, diluídas cem vezes antes de ser feita a medida espectrofotométrica, como de solução de tetraciclina cuja concentração já era $1,0 \times 10^{-4}$ M ao ser submetida a uma dose de radiação gama de $6,4 \times 10^{-2}$ MGy.

CAP. III

III.13.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Aquosas de Tetraciclina Irrradiadas e Não-Irradiadas Quando em Ausência e em Presença de Íons de Európio.

Foram registrados e examinados os espectros de absorção das soluções relacionadas abaixo:

- Soluções aquosas de tetraciclina não-irradiadas;
- Soluções aquosas de tetraciclina não-irradiadas e em presença de íons de európio;
- Soluções aquosas de tetraciclina submetidas a uma dose de $1,6 \times 10^{-2}$ MGy.

A concentração das soluções aquosas de tetraciclina, cujos espectros de absorção foram examinados foi sempre a mesma, a saber, $4,0 \times 10^{-5}$ M, porém cada uma delas apresentava um valor de pH diferente. O acerto do valor do pH das diversas soluções, foi feito por meio da adição de solução de ácido perclórico 0,1M ou, então, de solução de hidróxido de sódio 0,1M.

Após ser feito o ajuste do pH das soluções a serem submetidas a medidas espectrofotométricas, o volume final de cada uma das soluções foi completado, com água destilada, para 10 mililitros. Posteriormente, o pH de cada solução foi novamente medido, sendo esse último valor de pH, o considerado no exame da variação do comprimento de onda dos picos de absorção máxima, em função da variação do pH.

CAP. III

Posteriormente, foi feito o exame dos espectros de absorção de soluções aquosas de tetraciclina não-irradiadas contendo o íon metálico Eu(III). A concentração de európio nessas soluções era $4,0 \times 10^{-4}$ M e a de tetraciclina, $4,0 \times 10^{-5}$ M. Foi usado excesso de metal possibilitando que toda tetraciclina fosse usada para complexar o metal, não permanecendo tetraciclina livre na solução. O ajuste e medida de pH foram realizados, também para essas soluções, conforme descrito anteriormente.

Em todos os sistemas foi usada solução de perclorato de sódio, cuja concentração final no sistema examinado era 0,1M, para manter a força iônica do meio constante. Essa adição foi feita antes do ajuste do pH.

Nas medidas espectrofotométricas de soluções aquosas de tetraciclina usaram-se cubetas de quartzo de 10 milímetros de comprimento do percurso, varrendo o espectro no intervalo de 440 a 220 nm. Foram usadas cubetas de quartzo de 10 milímetros de comprimento do percurso porque neste caso usaram-se soluções aquosas de tetraciclina de concentração $4,0 \times 10^{-5}$ M.

O mesmo procedimento anteriormente descrito para as medidas espectrofotométricas de soluções aquosas de tetraciclina não-irradiadas (em ausência e em presença de íons de Eu(III)), foi adotado para as soluções aquosas de

CAP. III

tetraciclina, após submetê-las a uma dose de radiação gama de $1,6 \times 10^{-2}$ MGy.

III.14.- Verificação da Variação na Eficácia de Extração em Função do Tempo Decorrido Após a Preparação e Após a Irradiação da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico Pré-Saturado com Água.

Prepararam-se três soluções de tetraciclina em álcool benzílico pré-saturado com água, numa concentração de $1,0 \times 10^{-2}$ M.

Duas destas amostras foram submetidas à ação da radiação gama, sendo de $6,4 \times 10^{-2}$ MGy a dose aplicada a uma delas e de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy a dose a que foi submetida a outra. Posteriormente, ajustou-se o pH da fase de cada solução de maneira a obter, aproximadamente, 50% de extração de ^{152}Eu - ^{154}Eu .

O procedimento usado na operação de extração foi o mesmo já descrito no Item III.5.

As porcentagens de extração foram determinadas imediatamente após a preparação e, também, imediatamente após a irradiação das soluções e, ainda, em dias subsequentes, tomando alíquotas das soluções inicialmente preparadas, até observação da variação na porcentagem de extra

CAP. III

ção do ^{152}Eu - ^{154}Eu .

III.15.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Quando Submetida à Irradiação em Atmosferas de Diferentes Naturezas.

Para estudar o efeito produzido sobre a molécula de tetraciclina quando a solução de tetraciclina em álcool benzílico é irradiada em atmosferas de diferentes naturezas, realizaram-se, também, experimentos de extração usando soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy sob borbulhamento constante de diferentes gases a saber: O_2 , SF_6 e N_2O , durante a operação de irradiação. No caso em que a solução foi submetida a borbulhamento com N_2 a dose de radiação gama utilizada foi de $6,4 \times 10^{-2}$ MGy.

III.16.- Decomposição da Solução de Tetraciclina. Estudos Feitos com Relação ao Grupamento β -Dicetona Fenólica.

Utilizando as medidas espectrofotométricas de soluções de tetraciclina em álcool benzílico, conforme descrito no Item III.12, determinou-se a diminuição na concentração inicial da solução de tetraciclina provocada pela ação da radiação gama quando soluções de tetraciclina em álcool

CAP. III

cool benzílico foram submetidas a diferentes doses de radiação gama, a saber: $1,6 \times 10^{-2}$; $6,4 \times 10^{-2}$; $18,2 \times 10^{-2}$; $34,4 \times 10^{-2}$; $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy.

Neste estudo determinou-se a variação do valor da absorbância correspondente ao pico de absorção máxima localizado em 360 nm que é o pico associado ao grupo β -dicetona fenólica, para as soluções de tetraciclina submetidas às doses de radiação gama acima apresentadas.

CAPÍTULO IV

R E S U L T A D O S

IV.1.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina no Estado Sólido.

As curvas de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidas com as soluções de tetraciclina em álcool benzílico preparadas com tetraciclina submetida no estado sólido, a doses de radiação gama de $1,6 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, são apresentadas na Figura IV.1, (valores da Tabela IV.1). Para efeito de comparação, juntamente com estas curvas é apresentada, também, aquela referente à operação de extração realizada com solução preparada com tetraciclina não-submetida à ação da radiação gama.

Observa-se que, graficamente, as três curvas de extração apresentadas na Figura IV.1, parecem ser coincidentes, porém, para afirmar se os valores experimentais são tais que realmente levam à coincidência das três curvas, lançou-se mão de testes estatísticos.

Os testes estatísticos utilizados não podem ser aplicados diretamente aos valores das curvas de extração

CAP. IV

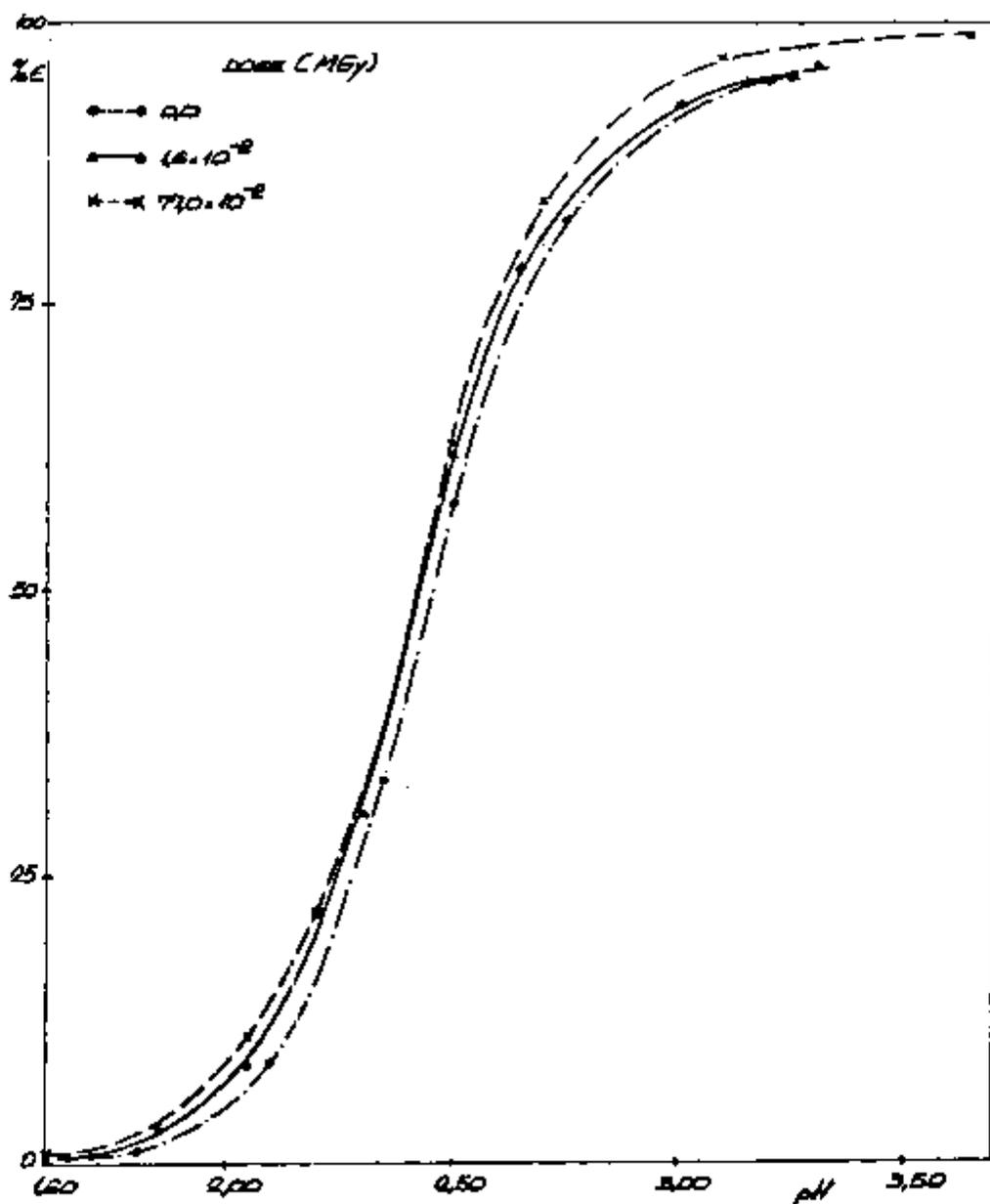


FIGURA IV.1.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração $1,0 \times 10^{-2}$ M), Preparadas com Tetraciclina Não-Irradiada e Submetida, no Estado Sólido, à Ação da Radiação Gama.

CAP. IV

Tabela IV.1.- Variação da Porcentagem de Extração e do Logaritmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Concentração $1,0 \times 10^{-2} M$ de Tetraciclina em Álcool Benzílico Usando Tetraciclina Não-Irrradiada e Submetida, no Estado Sólido, à Ação da Radiação Gama.

DOSE (MGy)								
0,0			$1,6 \times 10^2$			$77,0 \times 10^2$		
pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D
1,60	0,4	—	1,65	0,6	—	1,60	0,9	—
1,80	1,1	—	1,70	0,7	—	1,85	3,1	-1,49
2,10	8,7	-1,02	2,05	8,7	-1,02	2,05	11,3	-0,89
2,35	34,7	-0,28	2,30	30,8	-0,35	2,20	22,1	-0,55
2,50	57,9	0,14	2,50	62,5	0,22	2,50	63,1	0,23
2,75	82,8	0,68	2,65	78,5	0,56	2,70	84,3	0,73
3,00	93,2	1,14	3,00	92,8	1,11	3,10	97,2	1,54
3,20	95,2	—	3,15	95,0	—	3,65	99,1	—
3,30	96,1	—	3,25	95,7	—			

CAP. IV

apresentadas na Figura IV.1 uma vez que, tais curvas, que mostram a variação da porcentagem de extração em função da variação do pH, não representam a variação de uma função linear. Lembrando, porém, que tanto a porcentagem de extração como a razão de distribuição são grandezas que representam o comportamento de um sistema de extração e que ambas estão ligadas entre si pela relação (II.5), apresentada no Capítulo II, é possível realizar o estudo estatístico da coincidência, lançando mão da variação do logaritmo da razão de distribuição, $\log D$, em função da variação do pH pois, neste caso, trata-se de uma função linear, como pode ser observado nas retas apresentadas na Figura IV.2, (valores da Tabela IV.1).

O estudo estatístico realizado para verificar a condição de coincidência entre as retas obtidas, consistiu no exame prévio da condição de paralelismo entre elas, e, uma vez verificada que esta condição era satisfeita, examinou-se a condição de coincidência entre as retas paralelas.

Para a aplicação dos testes estatísticos descritos no Apêndice I, os valores de pH foram tomados como os valores da variável independente e os valores dos logaritmos da razão de distribuição referentes à extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu com soluções de tetraciclina em álcool benzílico, foram tomados como os valores da variável dependente. Os testes estatísticos foram realizados comparando as retas duas

CAP. IV

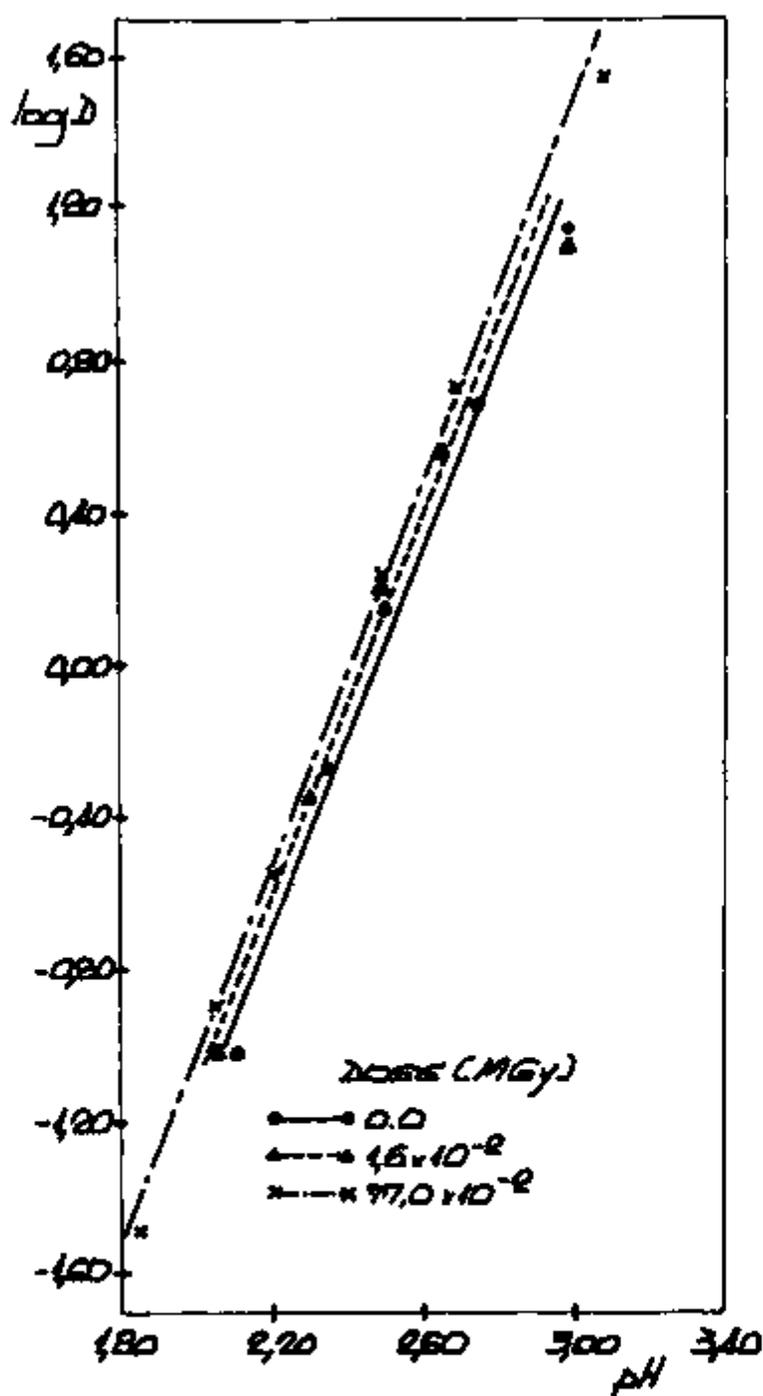


FIGURA IV.2.- Variação do Logarítmo da Razão de Distribuição ($\log D$) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$), Usando Tetraciclina Não-Irrradiada e Submetida, no Estado Sólido, à Ação da Radiação Gama.

a duas, tomando sempre como referência a reta correspondente à operação de extração realizada com a solução preparada com a tetraciclina não-irradiada. A coincidência entre as retas analisadas foi comprovada estatisticamente em um nível de significância de 0,02. Tem-se, desta forma, uma comprovação de que as curvas de extração mostradas na Figura IV.1 são, realmente, coincidentes.

IV.2.- Espectros de Absorção Obtidos na Região do Infravermelho Para a Molécula de Tetraciclina no Estado Sólido.

As Figuras IV.3 e IV.4 apresentam os espectros de absorção, obtidos na região do infravermelho, para a molécula de tetraciclina no estado sólido sem sofrer irradiação e após ser submetida a uma dose de radiação gama de $77,0 \times 10^2$ MGy, respectivamente. Para obtenção dos espectros, ambas as amostras foram dissolvidas com Nujol, possibilitando a obtenção dos espectros na região do infravermelho.

IV.3.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Radiação Gama Sobre o Álcool Benzílico.

Encontram-se, na Tabela IV.2, os resultados obtidos para a variação da porcentagem de extração do ^{152}Eu e ^{154}Eu em função da variação do pH e para a variação do loga

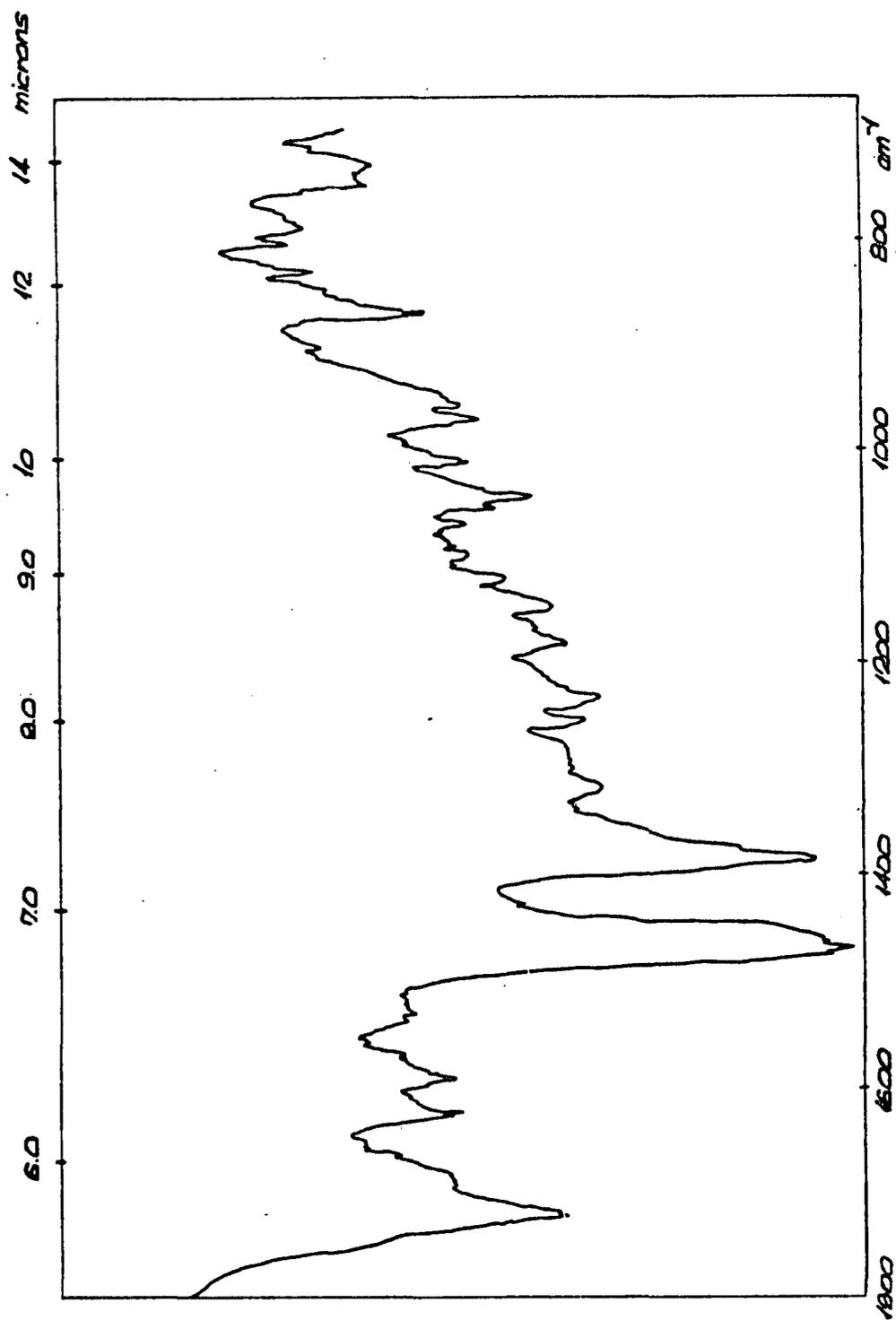


FIGURA IV.3.- Espectro de Absorção Obtido na Região do Infravermelho, para a Molécula de Tetraciclina Não-Irradiada no Estado Sólido.

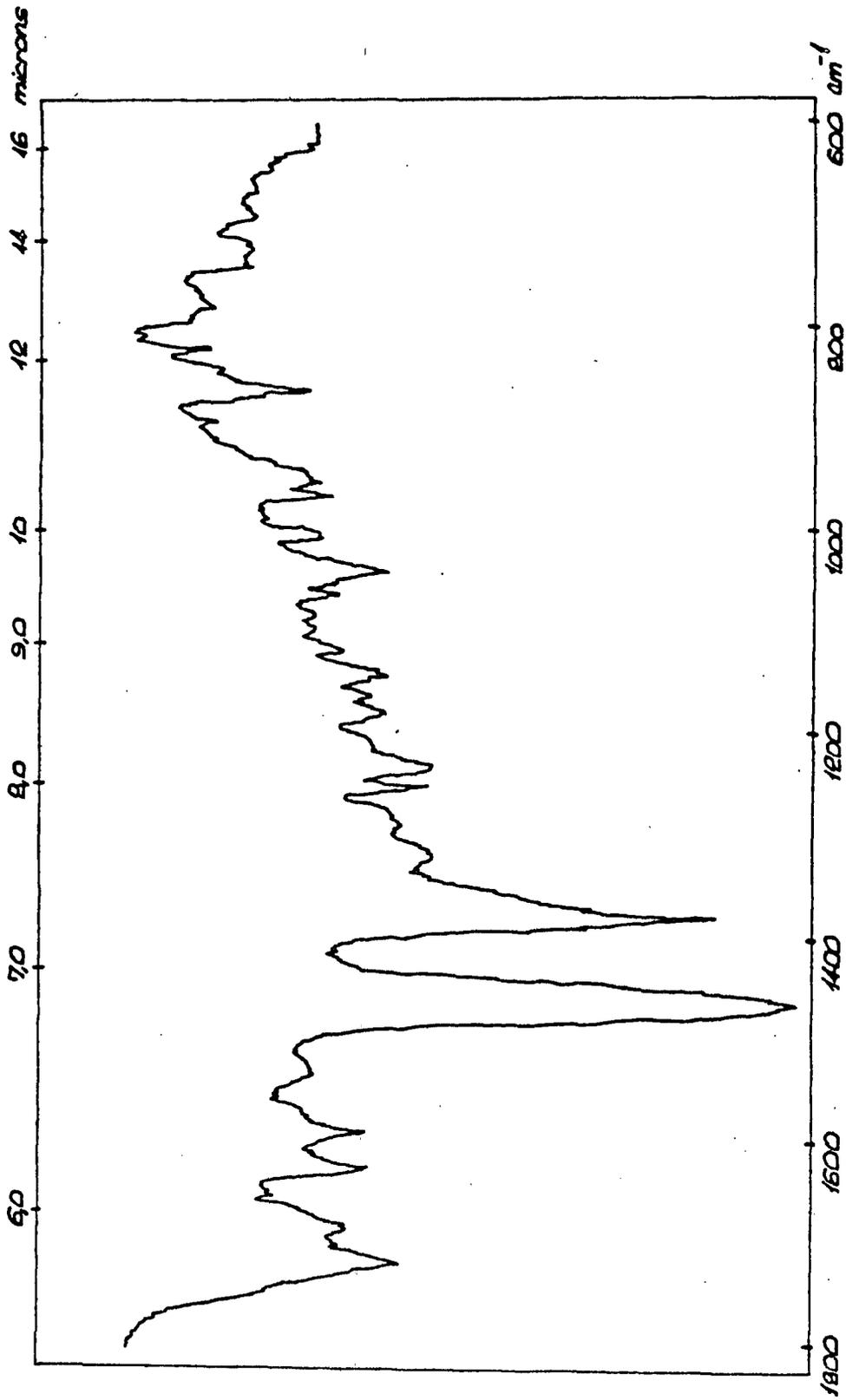


FIGURA IV.4.- Espectro de Absorção Obtido na Região do Infravermelho, para a Molécula de Tetraciclina, no Estado Sólido, Após Ser Submetida a uma Dose de Radiação Gama de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy.

CAP. IV

Tabela IV.2.- Variação da Porcentagem de Extração e do Logarítmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Concentração $1,0 \times 10^{-2} M$ de Tetraciclina em Álcool Benzílico, Preparadas com Álcool Benzílico Não-Irradiado e Submetido a Diferentes Doses de Radiação Gama Antes de Ser Usado para Dissolver a Tetraciclina.

pH	DOSE (MGy)																
	0,0			$1,6 \times 10^{-2}$			$6,4 \times 10^{-2}$			$34,4 \times 10^{-2}$			$77,0 \times 10^{-2}$				
	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D
1,60	0,4	—	1,60	1,7	—	1,60	1,0	—	1,90	1,9	-1,71	1,80	2,4	-1,61	1,80	2,4	-1,61
1,80	1,1	—	1,80	2,8	-1,54	1,85	1,9	-1,71	2,15	9,3	-0,99	2,05	10,1	-0,95	2,05	10,1	-0,95
2,10	8,7	-1,02	2,10	14,1	-0,78	2,15	11,3	-0,89	2,35	28,4	-0,40	2,30	33,6	-0,30	2,30	33,6	-0,30
2,35	34,7	-0,27	2,30	33,3	-0,30	2,35	32,3	-0,32	2,55	57,0	0,12	2,60	71,0	0,39	2,60	71,0	0,39
2,50	57,9	0,14	2,50	63,7	0,24	2,50	59,4	0,17	2,70	72,9	0,43	2,80	81,1	0,63	2,80	81,1	0,63
2,75	82,8	0,68	2,70	78,8	0,57	2,75	76,9	0,52	3,00	88,0	—	2,95	87,0	—	2,95	87,0	—
3,00	93,2	1,14	3,00	89,1	—	3,00	87,2	—	3,30	91,5	—	3,25	91,3	—	3,25	91,3	—
3,20	95,2	—	3,30	94,0	—	3,25	91,8	—	3,50	92,5	—	3,40	92,5	—	3,40	92,5	—
3,30	96,1	—	3,60	95,5	—	3,70	94,8	—	3,80	94,9	—	3,85	95,0	—	3,85	95,0	—

CAP. IV

rítmo da correspondente razão de distribuição também em função da variação do pH, para os experimentos de extração executados com cada uma das soluções de tetraciclina em álcool benzílico, preparadas com o álcool benzílico submetido a doses de radiação gama de $1,6 \times 10^2$; $6,4 \times 10^2$; $34,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy, antes de ser usado para a dissolução da tetraciclina. Para efeito de comparação, a Tabela IV.2 apresenta, também, os resultados obtidos nos experimentos de extração realizados com a solução de tetraciclina preparada com o álcool benzílico sem sofrer irradiação.

A Figura IV.5, (valores da Tabela IV.2) apresenta as curvas de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidas com soluções de tetraciclina em álcool benzílico, sendo este submetido a diferentes doses de radiação gama, antes de ser usado para dissolver a tetraciclina. A mesma Figura IV.5 apresenta, também, para efeito de comparação, a curva de extração obtida nos experimentos de extração feitos com a solução de tetraciclina preparada com álcool benzílico não-submetido à ação da radiação gama.

O exame da Figura IV.5 mostra que, neste caso, ocorre algo semelhante àquilo que foi observado quando se fez o estudo do comportamento da tetraciclina irradiada no estado sólido, ou seja, graficamente parece haver coincidência das curvas de extração obtidas ao usar soluções preparadas com álcool benzílico submetido previamente à ação da ra

CAP. IV

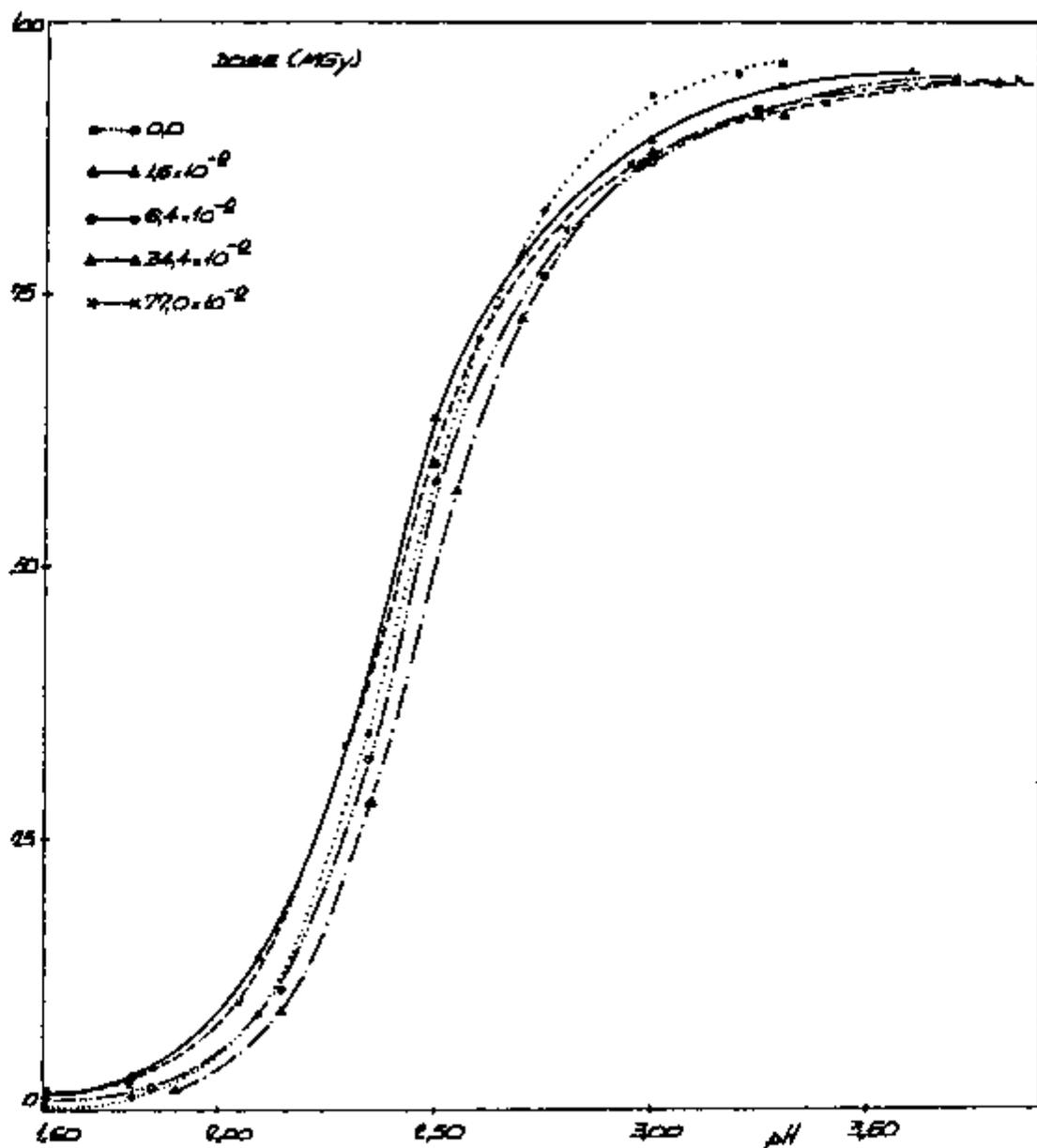


FIGURA IV.5.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$), Preparadas com Álcool Benzílico Não-Irradiado e Submetido a Diferentes Doses de Radiação Gama Antes de Ser Usado para Dissolver a Tetraciclina.

CAP. IV

dição gama.

Assim sendo, tornou-se necessário um estudo estatístico para examinar a condição de coincidência das retas que dão a variação do logaritmo da razão de distribuição em função da variação do pH, estando os valores correspondentes apresentados na Tabela IV.2. A Figura IV.6 mostra as retas referentes a cada conjunto de experimentos de extração realizados com as soluções de tetraciclina em álcool benzílico preparadas utilizando o álcool benzílico submetido à ação da radiação gama (doses de $1,6 \times 10^2$; $6,4 \times 10^2$; $34,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy) antes de ser usado para dissolver a tetraciclina, e mostra, também, a reta correspondente aos experimentos de extração realizados com a solução de tetraciclina preparada com o álcool benzílico não-irradiado previamente.

Os testes estatísticos foram realizados comparando as retas duas a duas tomando sempre como referência a reta correspondente à operação de extração realizada com a solução de tetraciclina em álcool benzílico não-irradiado previamente. A aplicação dos testes estatísticos descritos no Apêndice I, mostrou que as retas da Figuras IV.6 são coincidentes em um nível de significância de 0,05.

IV.4.- Estudo do Efeito de Diferentes Doses de Radiação Gama Sobre a Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico.

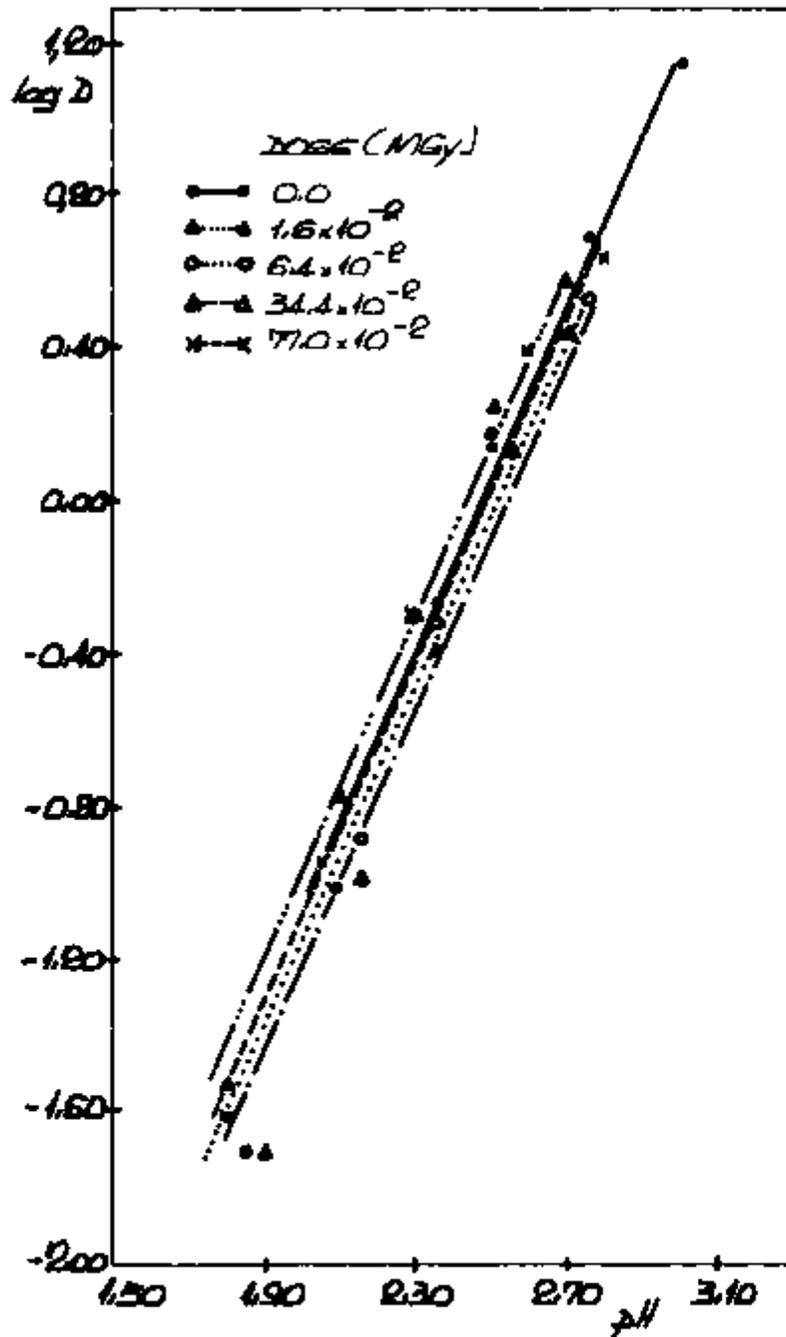


FIGURA IV.6.- Variação do Logarítmo da Razão de Distribuição (log D) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração $1,0 \times 10^{-2}\text{M}$), Preparadas com Álcool Benzílico Não-Irradiado e Submetido a Diferentes Doses de Radiação Gama Antes de Ser Usado para Dissolver a Tetraciclina.

CAP. IV

Depois de ter executado os experimentos em que foram usadas soluções preparadas usando, por um lado, a tetraciclina irradiada no estado sólido (Item IV.1) e, por outro lado, o álcool benzílico irradiado antes de ser usado para dissolver a tetraciclina (Item IV.3) foram realizados também os experimentos de extração em que a própria solução de tetraciclina em álcool benzílico foi submetida a diferentes doses de radiação gama.

Para cada uma das doses de radiação gama, a saber: $1,6 \times 10^2$; $6,4 \times 10^2$; $18,2 \times 10^2$; $34,4 \times 10^2$; $44,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy, a que foram submetidas as soluções de tetraciclina em álcool benzílico, cuja concentração inicial era $1,0 \times 10^{-2} M$, encontram-se, na Tabela IV.3, os valores das porcentagens de extração, %E, para os diversos valores de pH em que os experimentos de extração foram executados. Na mesma Tabela IV.3 encontram-se, também, os resultados referentes aos experimentos de extração realizados com a solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico.

As curvas obtidas para a extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu quando se irradiaram as próprias soluções de concentração inicial $1,0 \times 10^{-2} M$, preparadas pela dissolução da tetraciclina em álcool benzílico, submetendo-as às diferentes doses de radiação gama acima mencionadas, são apresentadas na Figura IV.7, juntamente com a curva correspondente à operação de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu , realizada com solução não-

Tabela IV.3.- Variação da Porcentagem de Extração do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$ de Tetraciclina em Álcool Benzílico, Não-Irradiada e Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama.

0,0		$1,6 \times 10^{-2}$		$6,4 \times 10^{-2}$		$18,2 \times 10^{-2}$		$34,4 \times 10^{-2}$		$44,4 \times 10^{-2}$		$77,0 \times 10^{-2}$	
		%E	pH	%E	pH	%E	pH	%E	pH	%E	pH	%E	pH
1,60	0,4	1,70	0,7	1,65	0,2	2,00	0,5	2,30	0,6	2,55	1,2	2,45	0,5
1,80	1,1	1,85	0,9	1,85	0,5	2,30	1,4	2,50	1,2	2,80	4,4	2,65	2,0
2,10	8,7	2,15	8,2	2,10	1,7	2,60	2,8	2,80	5,2	3,10	12,8	3,00	8,8
2,35	34,7	2,35	23,6	2,30	5,4	2,85	9,0	3,00	11,9	3,40	41,9	3,30	28,5
2,50	57,9	2,60	59,8	2,50	14,8	3,20	44,1	3,25	28,3	3,70	75,4	3,55	61,4
2,75	82,8	2,75	77,2	2,80	48,6	3,45	74,4	3,50	59,0	3,95	87,8	3,85	86,5
3,00	93,2	3,05	91,2	3,00	77,2	3,80	93,1	3,85	87,6	4,30	96,0	4,10	93,8
3,20	95,2	3,40	-94,5	3,40	93,9	4,15	96,8	4,10	95,2	4,40	96,8	4,25	96,2
3,30	96,1	3,70	96,9	3,65	97,3	4,45	98,0	4,25	96,8			4,45	99,4

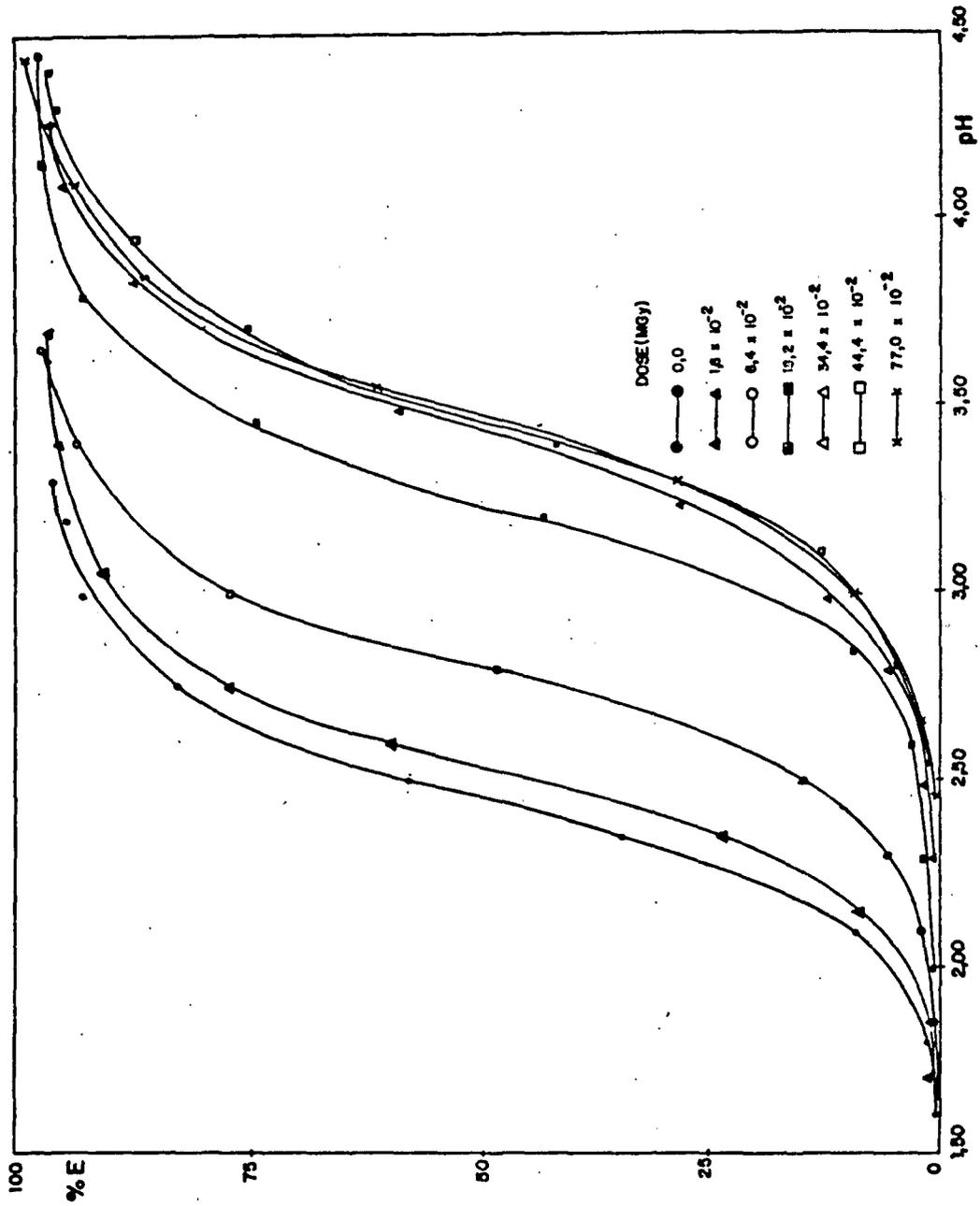


FIGURA IV.7.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Solução Não-Irradiada de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2}\text{M}$) e com Soluções da Mesma Concentração Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama.

CAP. IV

irradiada de tetraciclina em álcool benzílico.

Observa-se que, graficamente, as curvas de extração correspondentes às doses de $34,4 \times 10^2$; $44,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy apresentadas na Figura IV.7, parecem ser coincidentes. Lançou-se mão dos testes estatísticos descritos no Apêndice I para examinar se a coincidência entre tais curvas ocorre ou não. Com valores da Tabela IV.4, obtiveram-se as retas apresentadas na Figura IV.8 possibilitando assim, a aplicação dos testes estatísticos. Os resultados destes testes permitiram concluir que, estatisticamente, as retas correspondentes aos experimentos de extração realizados com soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas às doses de $34,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy não são coincidentes e que as retas correspondentes ao caso das doses de $44,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy são coincidentes em um nível de significância de 0,10.

IV.5.- Verificação da Existência (ou Não) da Influência da Pré-Saturação do Álcool Benzílico com Água, Sobre o Valor da Extração.

A comparação que a Figura IV.7 permite fazer entre a curva de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtida quando é usada solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico para os experimentos de extração, e as curvas de extração correspondentes aos experimentos feitos com soluções

CAP. IV

Tabela IV.4.- Variação do Logarítmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$ de Tetraciclina em Álcool Benzílico, Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama.

DOSE (MGy)					
$34,4 \times 10^2$		$44,4 \times 10^2$		$77,0 \times 10^2$	
pH	log D	pH	log D	pH	log D
2,30	—	2,55	-1,92	2,45	—
2,50	-1,92	2,80	-1,34	2,65	-1,69
2,80	-1,26	3,10	-0,83	3,00	-1,02
3,00	-0,87	3,40	-0,14	3,30	-0,40
3,25	-0,40	3,70	0,49	3,55	0,20
3,50	0,16	3,95	—	3,85	0,81
3,85	—	4,30	—	4,10	—
4,10	—	4,40	—	4,25	—
4,25	—			4,45	—

CAP. IV

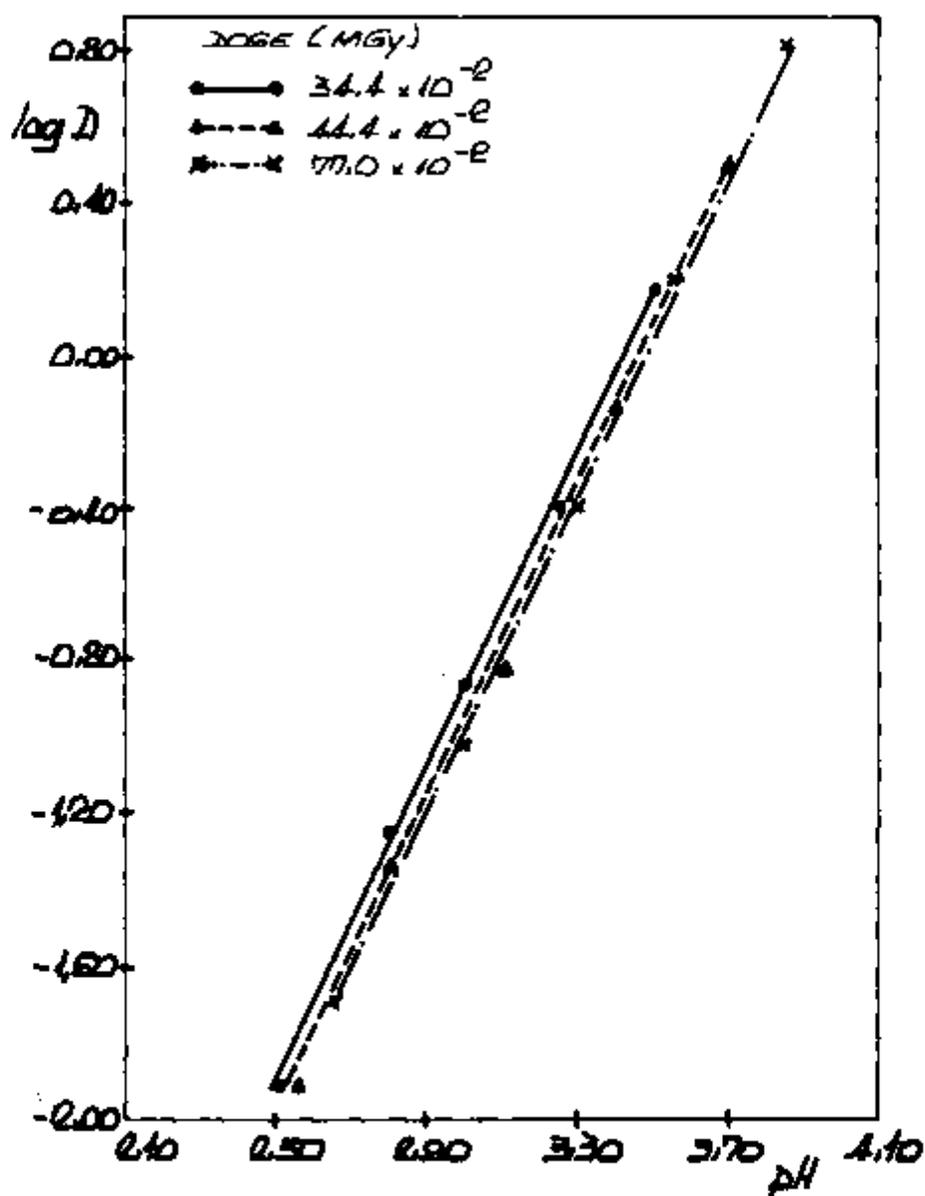


FIGURA IV.8.- Variação do Logaritmo da Razão de Distribuição (log D) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$), Submetidas a Doses de Radiação Gama de $34,4 \times 10^{-2}$; $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy.

CAP. IV

submetidas a diferentes doses de radiação gama, mostra, para estas duas condições, a existência de uma diferença significativa na porcentagem de extração, para um mesmo valor de pH. Como o álcool benzílico usado para a dissolução da tetraciclina era previamente saturado com água, levantou-se a hipótese de que a radiação poderia estar agindo sobre as moléculas de água existentes na solução, e que seriam os radicais formados na radiólise da água, os responsáveis pelas alterações na molécula de tetraciclina. Assim sendo, surgiu a necessidade de realizar experimentos de extração com soluções de tetraciclina irradiadas preparadas com álcool benzílico pré-saturado e não-saturado previamente com água, para examinar a influência da pré-saturação do álcool benzílico com água, sobre a extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu .

A Figura IV.9 apresenta as curvas de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidas com soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas à dose de $77,0 \times 10^2$ MGy, das quais uma foi preparada com álcool benzílico sem ser previamente saturado com água e a outra solução foi preparada com álcool benzílico pré-saturado com água.

Mais uma vez, e da maneira anteriormente apresentada, lançou-se mão dos testes estatísticos para examinar se a coincidência entre as curvas ocorre ou não. Os testes estatísticos descritos no Apêndice I foram aplicados para a variação do logaritmo da razão de distribuição em função da

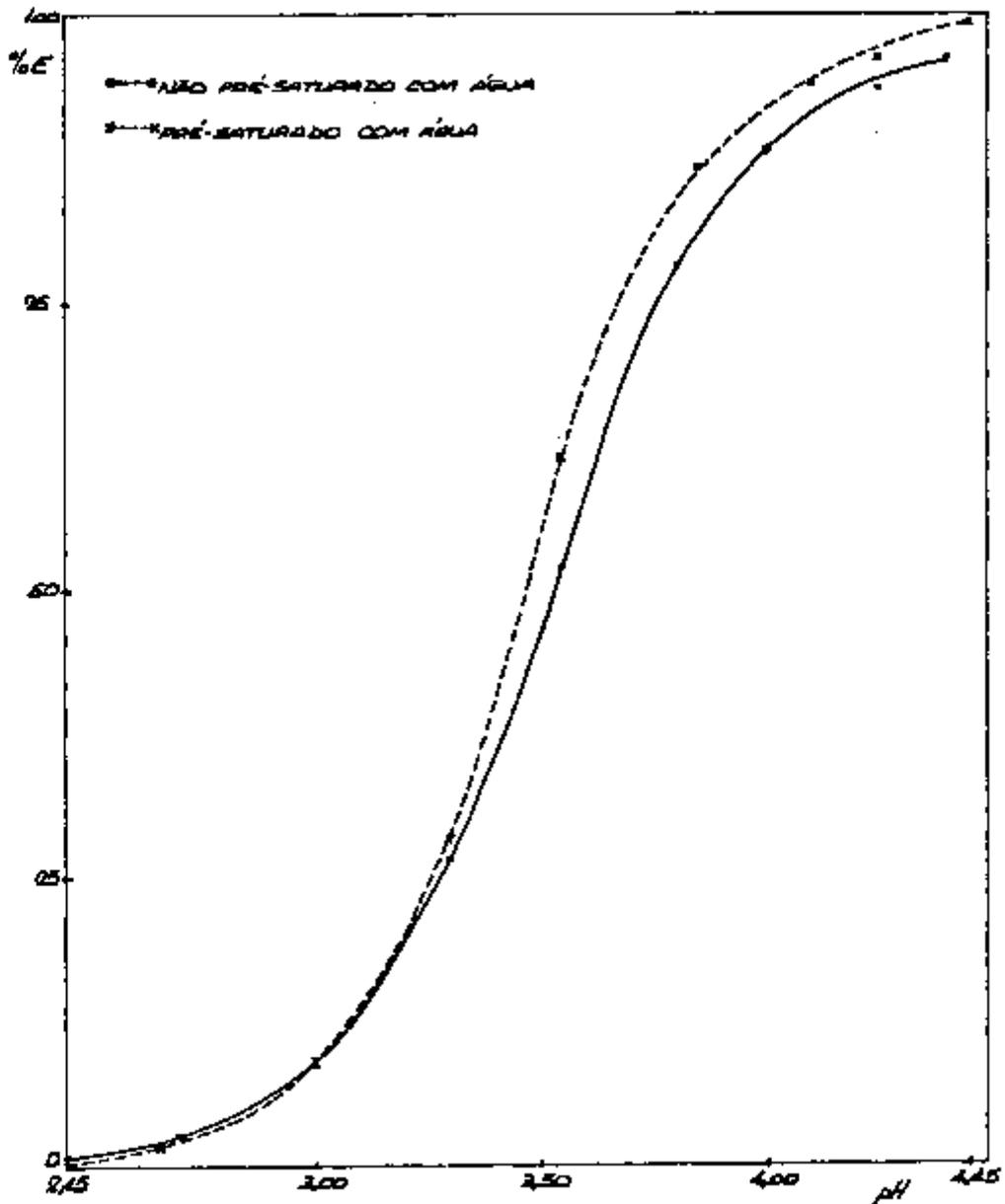


FIGURA IV.9.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico Pré-Saturado ou Não com Água (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$), Submetidas a uma Dose de $77,0 \times 10^{-2} \text{ MGy}$.

CAP.IV

variação do pH. Com os valores da Tabela IV.5, obtiveram-se as retas apresentadas na Figura IV.10. Em primeiro lugar, examinou-se a condição de paralelismo e uma vez verificado que esta condição era satisfeita, examinou-se a condição de coincidência entre as retas paralelas. Os resultados dos testes permitiram concluir que, estatisticamente, estas retas são coincidentes em um nível de significância de 0,05.

IV.6.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Irradiadas de Tetraciclina em Álcool Benzílico Pré-Saturado e Não-Saturado Previamente com Água.

Com a finalidade de verificar, por meio de outro tipo de medidas (além dos ensaios descritos no Item IV.5), se há ou não influência da presença das moléculas de água na ocorrência das alterações provocadas pela radiação gama na molécula de tetraciclina, foram obtidos os espectros de absorção para as soluções irradiadas preparadas pela dissolução da tetraciclina com álcool benzílico pré-saturado e não-saturado previamente com água.

A Figura IV.11 apresenta os espectros de absorção de soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a uma dose de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, sendo usado para a preparação das soluções, álcool benzílico tanto previamente submetido à saturação com água, como não-saturado previamente.

CAP. IV

Tabela IV.5.- Variação da Porcentagem de Extração e do Logaritmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2}$ M de Tetraciclina em Álcool Benzílico Pré-Saturado ou Não com Água e Submetidas a Uma Dose de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy.

ÁLCOOL BENZÍLICO					
NÃO PRÉ-SATURADO COM ÁGUA			PRÉ-SATURADO COM ÁGUA		
pH	ZE	log D	pH	ZE	log D
2,45	0,8	—	2,45	0,5	
2,70	2,6	-1,57	2,65	2,0	-1,69
3,00	8,9	-1,01	3,00	8,8	-1,02
3,30	26,8	-0,44	3,30	28,5	-0,40
3,55	51,9	0,03	3,55	61,4	0,20
3,80	77,9	—	3,85	86,5	—
4,00	87,9	—	4,10	93,8	—
4,25	93,5	—	4,25	96,2	—
4,40	96,1	—	4,45	99,4	—

CAP. IV

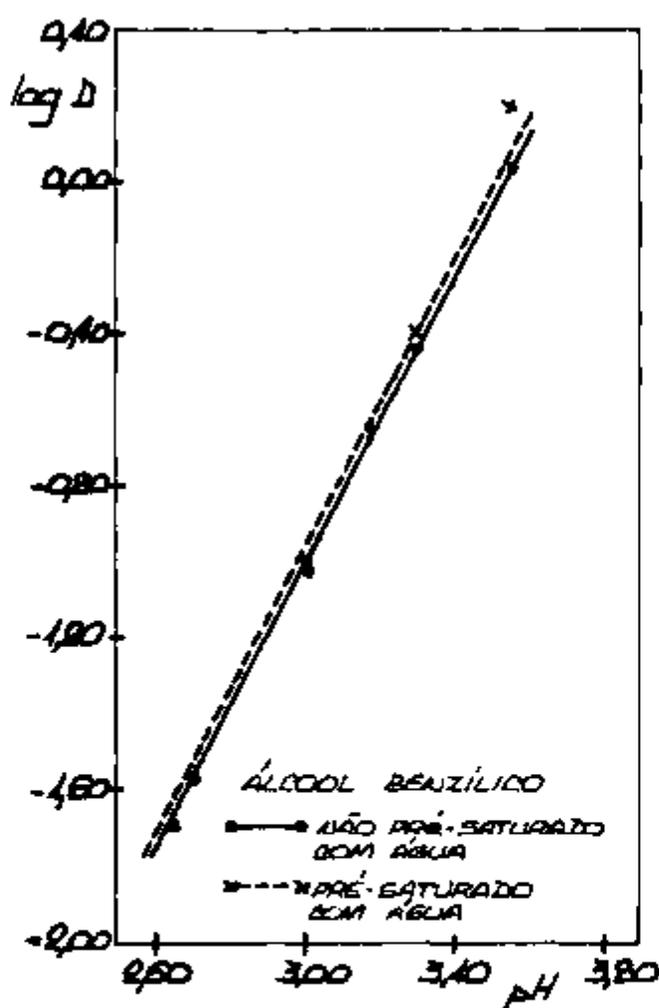


FIGURA IV.10.- Variação do Logarítmo da Razão de Distribuição ($\log D$) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico Pré-Saturado ou Não com Água, Submetidas a uma Dose de $77,0 \times 10^{-2}$ MCy. (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2}$ M).

CAP. IV

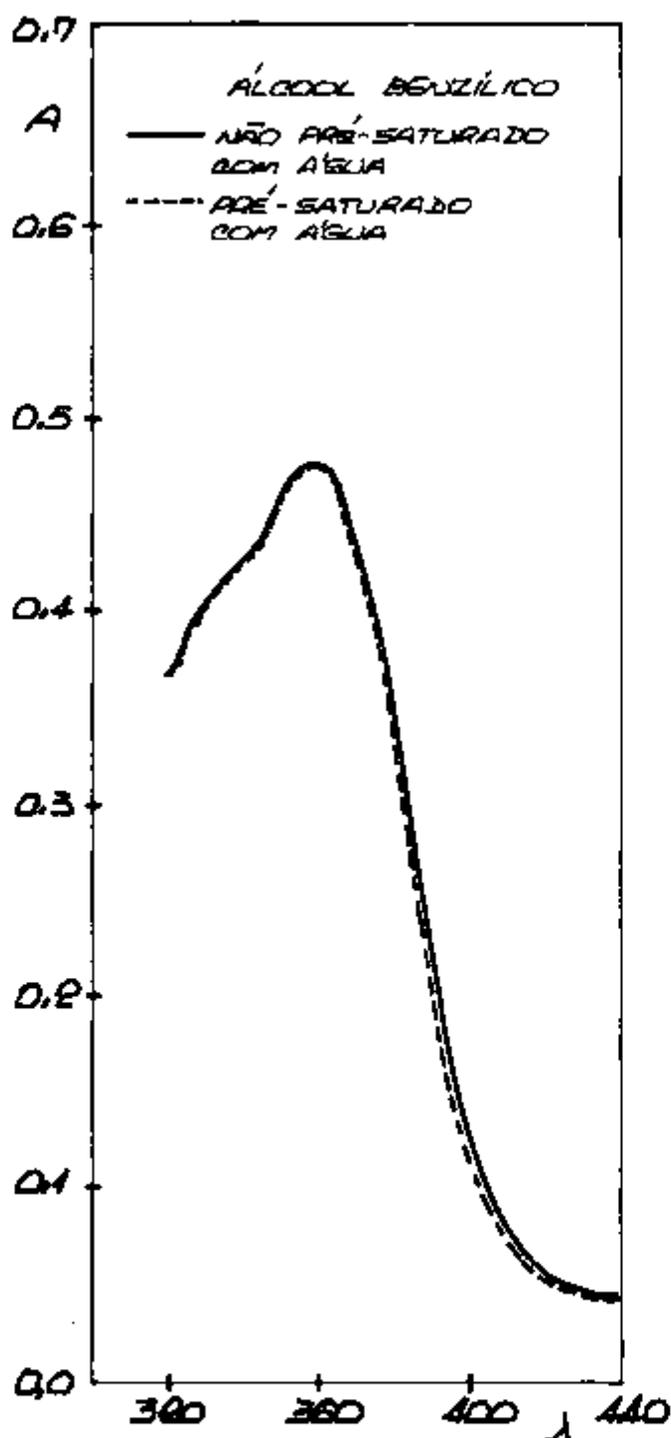


FIGURA IV.11.- Espectros de Absorção de Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$), Preparadas com Álcool Benzílico Pré-Saturado ou Não com Água, Submetidas a uma Dose de $77,0 \times 10^{-2} MCy$.

Conforme mostra a Figura IV.11 não há alteração, na região de comprimento de onda de 320 a 440 nm, nos espectros de absorção obtidos para as soluções examinadas. Tendo sido, portanto, verificado que a pré-saturação do álcool benzílico com água não afeta o comportamento, quanto à extração, da solução de tetraciclina em álcool benzílico, adotou-se a prática de pré-saturar sempre o álcool benzílico com água antes de usá-lo para dissolver a tetraciclina.

IV.7.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama.

A Figura IV.12 apresenta os espectros de absorção de soluções de tetraciclina preparadas com álcool benzílico pré-saturado com água, após serem submetidas a diferentes doses de radiação gama. Os resultados das medidas espectrofotométricas mostram uma diminuição no valor da absorbância no pico de absorção máxima localizado em 360 nm, ao aumentar a dose de radiação gama a que as soluções de tetraciclina foram submetidas.

As medidas espectrofotométricas foram realizadas após submeter as soluções de tetraciclina de concentração inicial de $1,0 \times 10^{-2} M^{(*)}$ a doses de radiação gama de

(*) Esta é a concentração das soluções de tetraciclina em álcool benzílico que usualmente são empregadas nos estudos das aplicações analíticas da tetraciclina.

CAP. IV

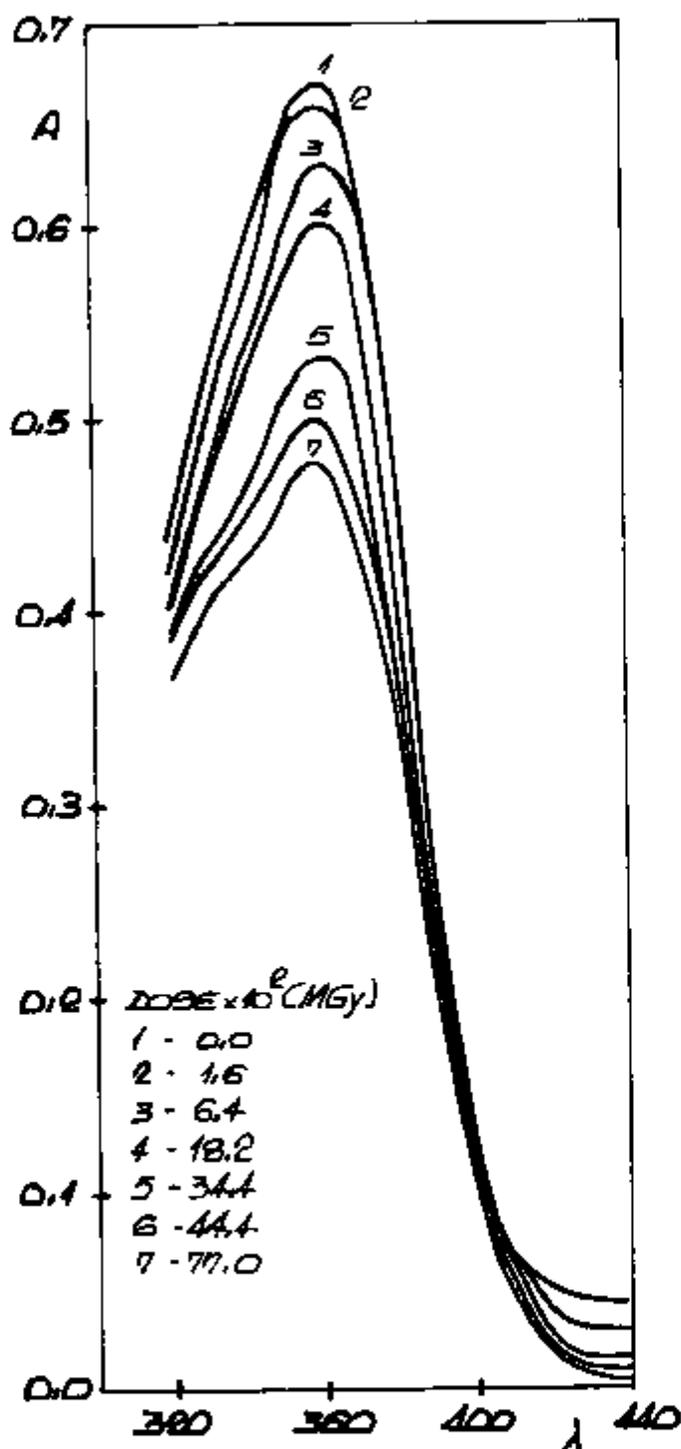


FIGURA IV.12.- Espectros de Absorção de Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$), Submetidas a Diferentes Doses de Radiação Gama.

CAP. IV

$1,6 \times 10^2$; $6,4 \times 10^2$; $18,2 \times 10^2$; $34,4 \times 10^2$; $44,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy. Para efetuar as medidas espectrofotométricas essas soluções foram diluídas 100(cem) vezes, para tornar possível a medida espectrofotométrica e a correspondente observação da variação na altura do pico de absorção máxima da tetraciclina. Para a realização das medidas espectrofotométricas foi utilizada esta concentração devido ao fato de a lei de Lambert-Beer ser obedecida pelo menos, dentro do intervalo de concentração de 0 a $1,0 \times 10^{-4}$ M (Figura IV.13, valores da Tabela IV.6), ao utilizar uma cubeta de quartzo de 5mm de comprimento do percurso.

Para evitar a diluição que se faz necessária para poder efetuar as medidas espectrofotométricas, foram feitos novos experimentos em que se irradiou diretamente a solução de tetraciclina de concentração inicial $1,0 \times 10^{-4}$ M com uma dose de radiação gama de $6,4 \times 10^2$ MGy.

A Figura IV.14 mostra os espectros de absorção obtidos para as soluções de tetraciclina em álcool benzílico de concentração inicial de $1,0 \times 10^{-4}$ M não-irradiada e após ser submetida a uma dose de radiação gama de $6,4 \times 10^2$ MGy.

IV.8.- Estudo Espectrofotométrico de Soluções Aquosas de Tetraciclina Irradiadas e Não-Irradiadas Quando em Ausência e em Presença de Ions de Európio.

CAP. IV

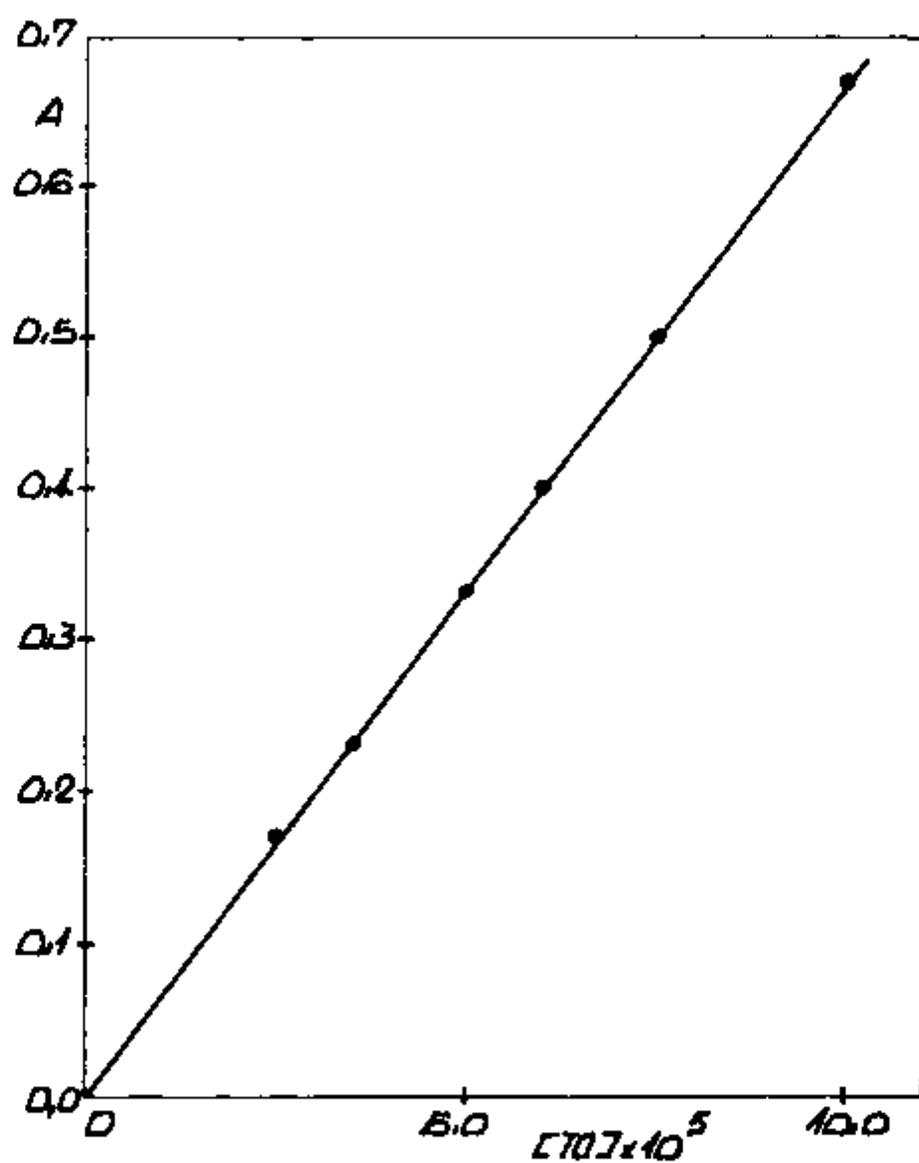


FIGURA IV.13.- Variação da Absorbância em Função da Variação da Concentração da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico, no Pico de Absorção Máxima Localizado em 360 nm.

CAP. IV

Tabela IV.6.- Variação da Absorbância em Função da Variação da Concentração da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico, no Pico de Absorção Máxima da Tetraciclina Localizado em 360 nm.

$[TC] \times 10^5$	A
2,5	0,17
3,5	0,23
5,0	0,33
6,0	0,40
7,5	0,50
10,0	0,67

CAP. IV

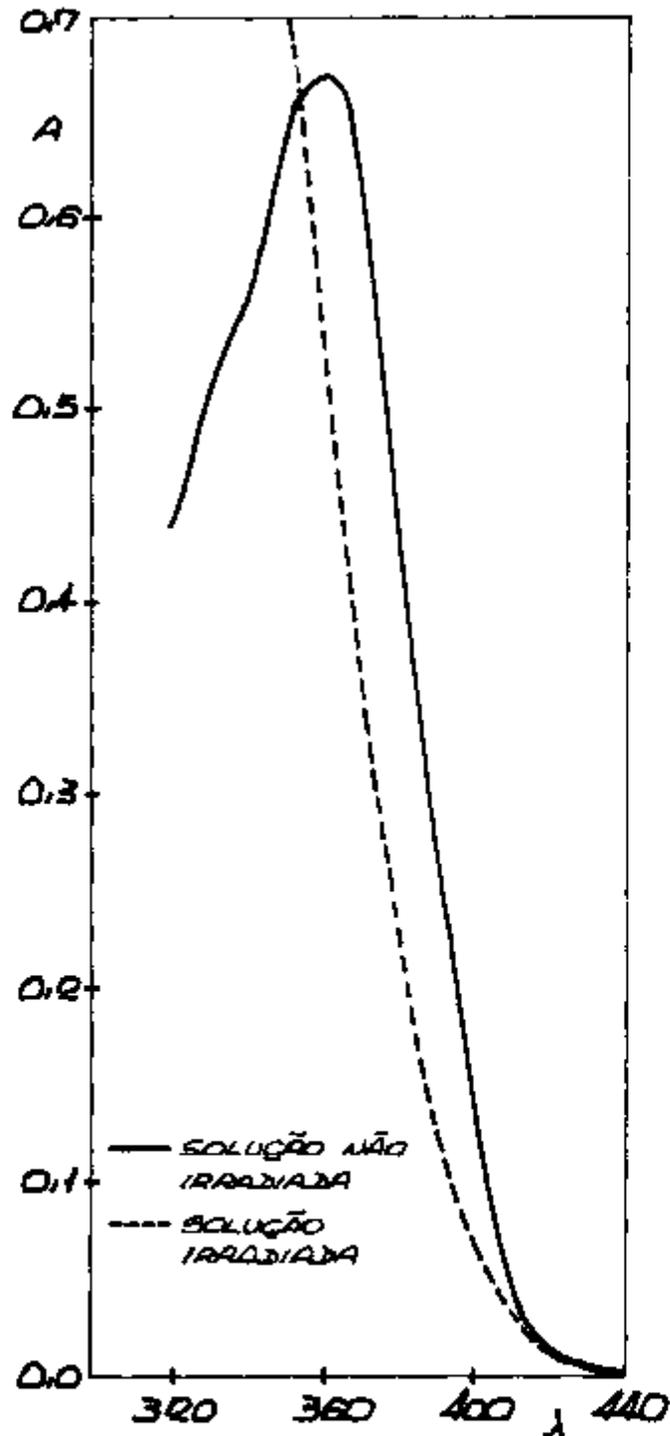


FIGURA IV.14.- Espectros de Absorção de Solução Não-Irradiada de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-4} M$) e de Solução de Concentração $1,0 \times 10^{-4} M$ Submetida a uma Dose de Radiação Gama de $6,4 \times 10^{-2} MGy$.

O propósito deste estudo espectrofotométrico foi examinar qual o comportamento das soluções aquosas de tetraciclina não-irradiadas e irradiadas, com relação à sua capacidade como agente complexante.

Os espectros das soluções aquosas de tetraciclina com pH no intervalo entre 2,00 e 6,80 apresentam picos de absorção máxima que se localizam em 275 e 360 nm.

A Figura IV.15 apresenta a localização dos picos de absorção máxima de soluções aquosas de tetraciclina, não-irradiadas, em ausência e em presença de íons de európio, em diferentes valores de pH. Nesta Figura IV.15 pode-se observar que a adição de íons de Eu(III) faz variar a posição do pico de absorção máxima da solução de tetraciclina localizado em 360 nm, porém praticamente não altera a localização do pico de absorção máxima que aparece em 275 nm

Com relação ao pico de absorção máxima localizado em 275 nm as soluções aquosas não-irradiadas de tetraciclina, quando em presença de íons de európio, mostraram uma variação no valor da absorbância em relação ao valor encontrado para as soluções aquosas de tetraciclina que não contêm íons de európio, conforme mostra a Figura IV.16.

As medidas espectrofotométricas realizadas com soluções aquosas irradiadas de tetraciclina de concentração

CAP. IV

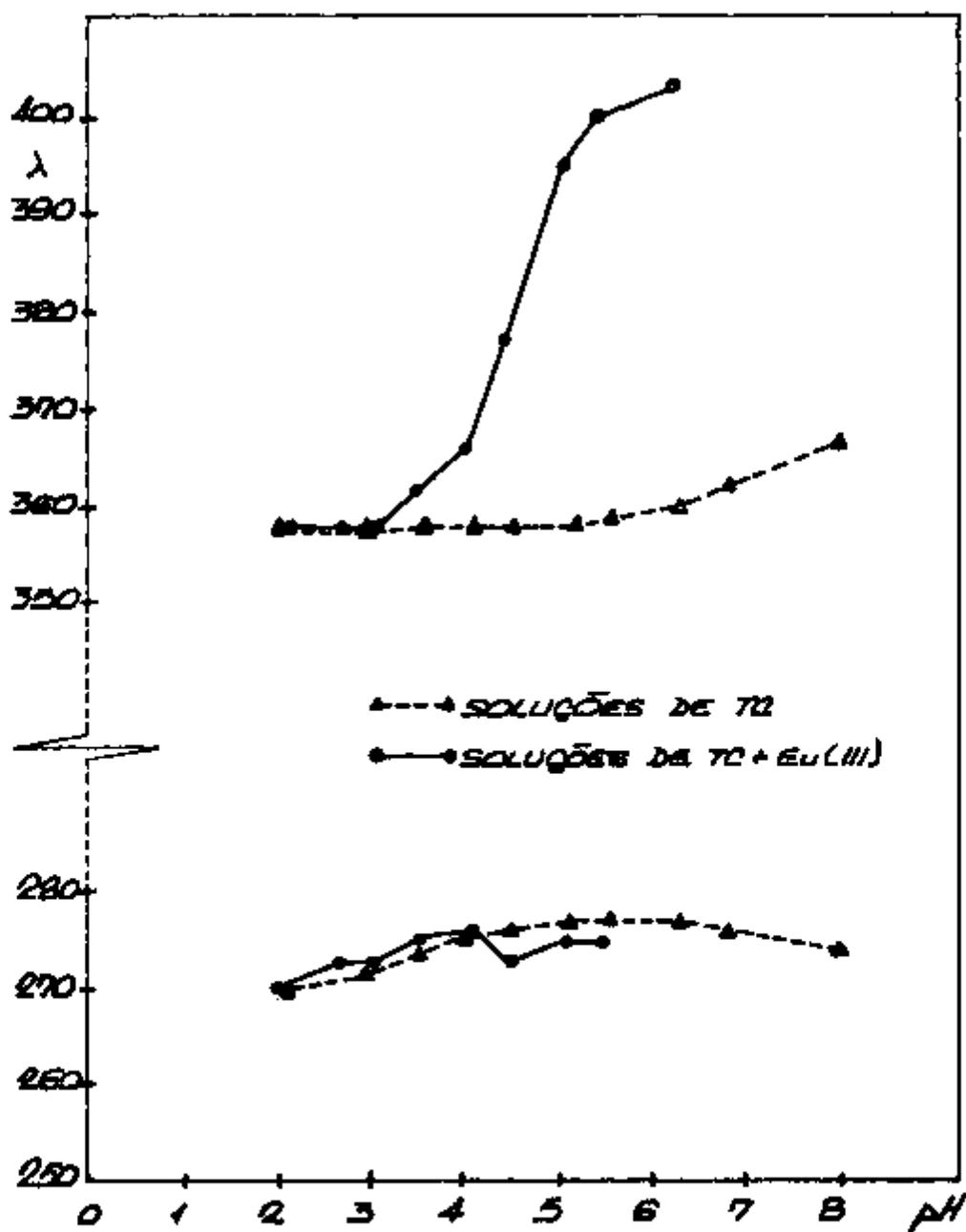


FIGURA IV.15.- Localização dos Picos de Absorção de Soluções Aquosas Não-Irradiadas de Tetraciclina (Concentração $4,0 \times 10^{-5}$ M), em Ausência e em Presença de Íons de Európio, a Diferentes Valores de pH.

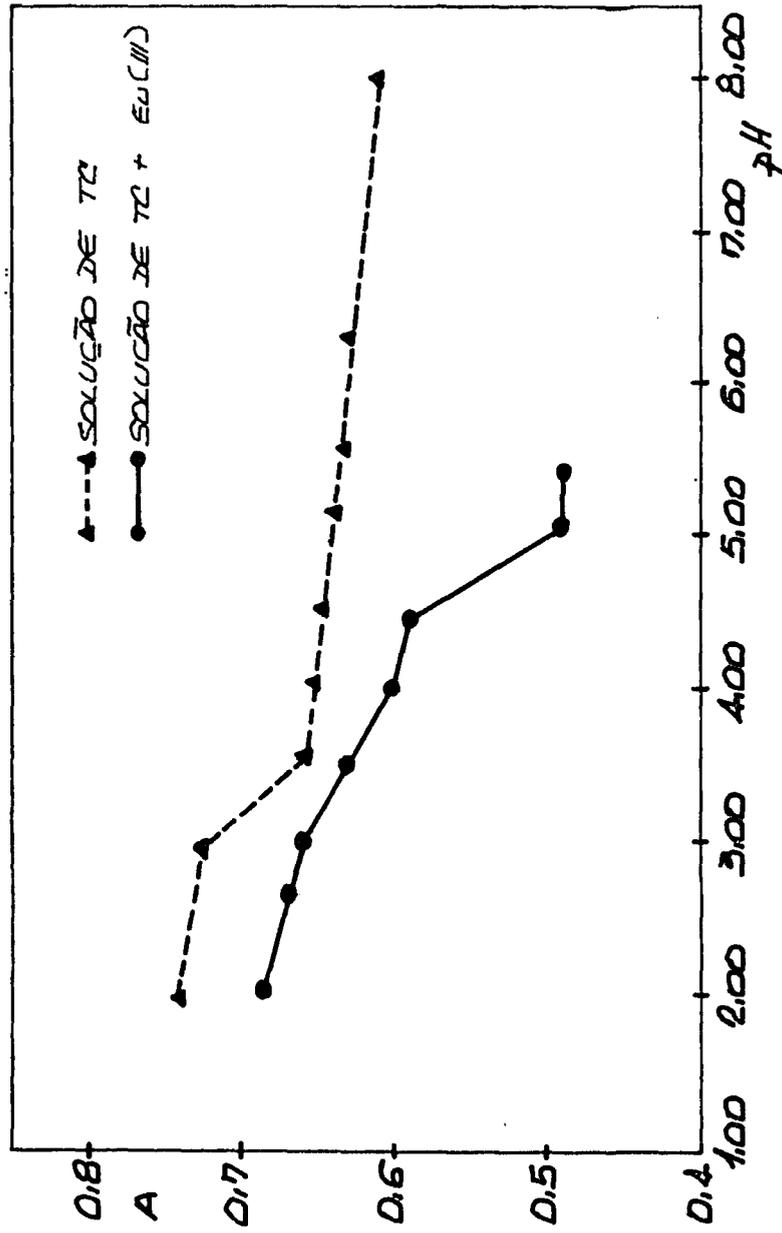


FIGURA IV.16.- Variação da Absorbância no Pico de Absorção Máxima Localizado em 275 nm, em Função da Variação do pH de Soluções Aquosas Não-Irradiadas de Tetraciclina. (Concentração $4,0 \times 10^{-5} \text{M}$), em Ausência e em Presença de Íons de Európio.

CAP. IV

inicial $4,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, mostraram que não houve aparecimento de nenhum pico de absorção em toda a região de comprimento de onda examinada (220 a 440 nm) em nenhum valor de pH considerado, entre 2,00 e 8,00. A Figura IV.17 mostra, como ilustração do fato observado para todos valores de pH examinados, o espectro de absorção para a solução de pH=3,20 e submetida a uma dose de radiação gama de $1,6 \times 10^2 \text{ MGy}$. Para efeito de comparação é apresentado, na mesma Figura IV.17, o espectro obtido para a solução aquosa de tetraciclina de concentração inicial $4,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ e também em pH=3,20, porém não-submetida à ação da radiação gama.

IV.9.- Verificação da Variação na Eficácia de Extração em Função do Tempo Decorrido Após a Preparação e Após a Irradiação da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico Prê-Saturado com Água.

Nastasi e Lima⁽²⁹⁾ mostraram que uma solução de tetraciclina preparada com álcool benzílico sem sofrer pré-saturação com água, pode ser guardada para uso posterior sem que haja alteração em seu comportamento quanto à extração de íons lantanídicos, pelo menos por um período de 18 dias após sua preparação.

Como no presente trabalho o álcool benzílico utilizado para a preparação das soluções de tetraciclina, era previamente saturado com água, realizou-se o estudo refe

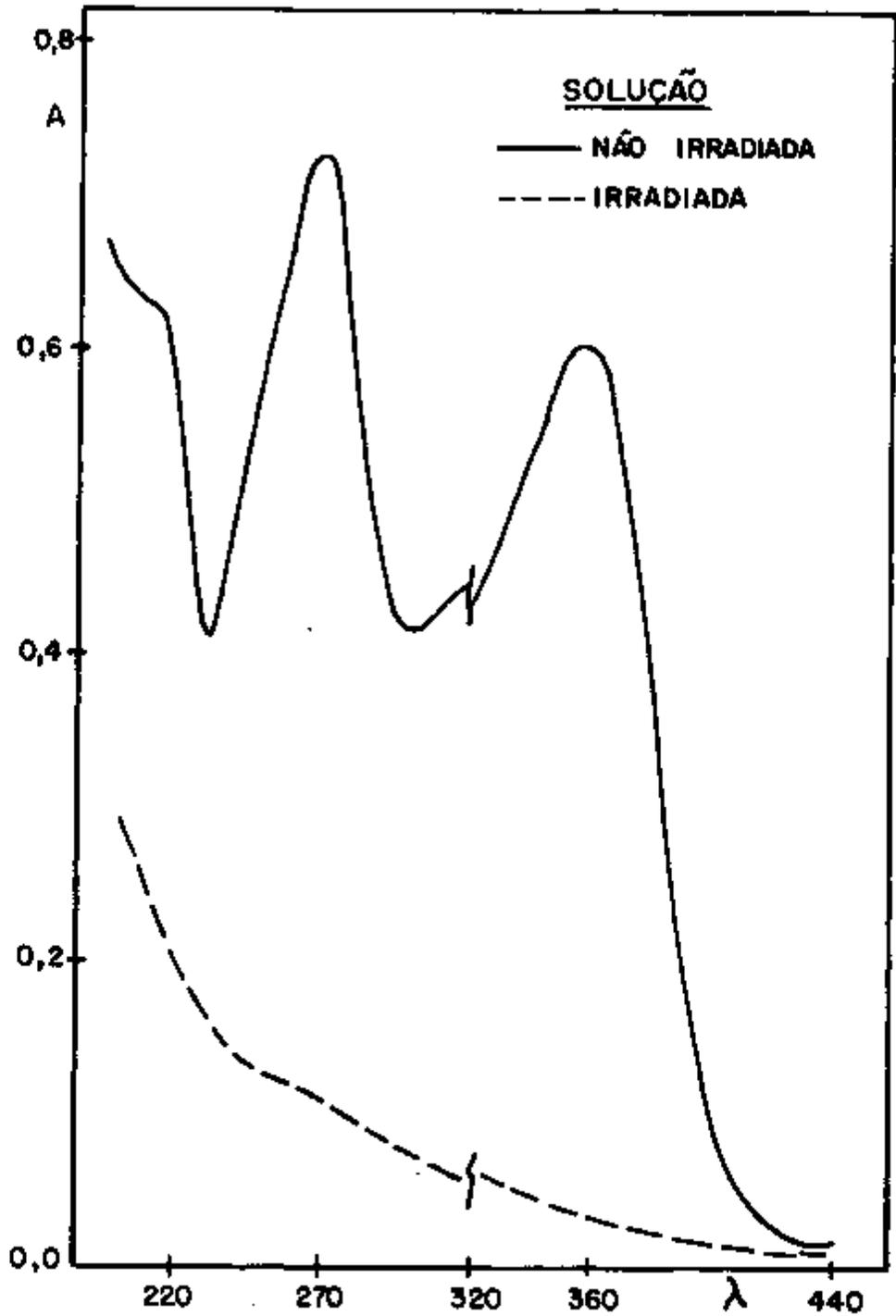


FIGURA IV.17.- Espectros de Absorção de Solução Aquosa Não-Irradiada de Tetraciclina (Concentração Inicial $4,0 \times 10^{-5} \text{ M}$) e de Solução da Mesma Concentração Submetida a uma Dose de $1,6 \times 10^{-2} \text{ MGy}$ a $\text{pH} = 3,2$.

(()) Significa o Ponto em que Foi Feita a Mudança de Lâmpadas para Realizar as Medidas

CAP. IV

rente à variação na eficácia de extração das soluções de tetraciclina em álcool benzílico pré-saturado com água, em função do tempo decorrido após a preparação e após a irradiação. Tal estudo foi feito para saber por quanto tempo permanecem inalteradas as soluções irradiadas e não-irradiadas de tetraciclina preparadas com álcool benzílico pré-saturado com água, no que diz respeito à sua ação como agente extrator.

Deve também ser considerado o fato de que realiza-se, no presente trabalho, o estudo do efeito da radiação gama sobre a molécula de tetraciclina e é, portanto, necessário saber se a variação observada na porcentagem de extração é devida à decomposição da solução por ação da radiação ou se a decomposição é devida ao tempo decorrido após a preparação da solução, principalmente nos casos de irradiações longas, em que se poderia ter decomposição devida ao tempo inerente à duração da própria irradiação.

A Tabela IV.7 apresenta os valores da porcentagem de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidos com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico e, também, com soluções submetidas a doses de radiação gama de $6,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, sendo, em ambos os casos, usado para preparação das soluções, álcool benzílico pré-saturado com água.

Tabela IV.7.- Porcentagem de Extração do Európio em Função do Tempo Decorrido Após a Preparação e Após a Irradiação das Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico Pré-Saturado com Água (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$).

A.- Solução Não-Irradiada - pH = 2,50										
Tempo Decorrido (Dias)	Imediatamente Após a Preparação									
	3	6	10	13	15	16				
%E	53,7	54,1	52,6	51,4	50,5	48,3				
B.- Solução Submetida a uma Dose de $6,4 \times 10^{-2}$ MGy (19 Horas) - pH = 2,90										
Tempo Decorrido (Dias)	Imediatamente Após a Irradiação									
	1	2	3	6	8	9				
%E	61,4	62,3	62,1	62,8	59,5	56,2				
C.- Solução Submetida a uma Dose de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy (229 Horas) - pH = 3,60										
Tempo Decorrido (Dias)	Imediatamente Após a Irradiação									
	3	4								
%E	57,9	56,9	47,1							

CAP. IV

IV.10.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Quando Submetida à Irradiação em Atmosferas de Diferentes Naturezas.

A natureza da atmosfera na qual é realizada a irradiação das substâncias é muito importante uma vez que os produtos de radiólise podem variar dependendo de tal fator. Por este motivo, foi feito o estudo do efeito da radiação gama sobre a molécula de tetraciclina, com a finalidade de saber se a natureza da atmosfera em presença da qual é realizada a irradiação das soluções de tetraciclina em álcool benzílico, está relacionada com os efeitos que a radiação gama induz nestas soluções. Além das irradiações feitas ao ar atmosférico realizaram-se, também, irradiações das soluções de tetraciclina em álcool benzílico mantendo-as em atmosferas de oxigênio, de nitrogênio, de óxido nitroso e de hexa-fluoreto de enxofre. Estas duas últimas substâncias são gases captadores de elétrons e que, por este motivo, podem dar informações sobre o fato de as alterações na molécula de tetraciclina ocorrerem ou não, pela ação de elétrons. Após realizar as irradiações das soluções de tetraciclina em álcool benzílico com borbulhamento constante dos gases mencionados, executaram-se os experimentos de extração conforme descrito no Item III.5 e comparou-se o comportamento das extrações obtidas com estas soluções, com o comportamento das extrações obtidas com as soluções de tetraciclina em álcool benzílico irradiadas normalmente ao ar atmosférico.

CAP. IV

IV.10.1.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Irrradiada em Atmosfera de Oxigênio.

Na Tabela IV.8 encontram-se os valores das porcentagens de extração obtidos para os diversos valores de pH em que os experimentos de extração foram realizados. Para a execução de tais experimentos foram usadas soluções de tetraciclina em álcool benzílico, submetidas a doses de $1,6 \times 10^2$ e $6,4 \times 10^2$ MGy, com borbulhamento constante de oxigênio e ao ar atmosférico. A mesma Tabela IV.8 apresenta, também, os resultados correspondentes às operações de extração realizadas com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico e sem sofrer borbulhamento de oxigênio.

A Figura IV.18 apresenta as curvas de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidas com soluções de tetraciclina em álcool benzílico, submetidas a doses de $1,6 \times 10^2$ e $6,4 \times 10^2$ MGy com borbulhamento constante de oxigênio durante as irradiações e ao ar atmosférico. Para efeito de comparação, juntamente com estas curvas é apresentada, também, aquela referente à operação de extração realizada com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico e sem sofrer borbulhamento de oxigênio.

A Figura IV.19 (valores da Tabela IV.9) apresenta as curvas de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidas quando foram usadas soluções não-irradiadas de tetraciclina em ál

Tabela IV.8.- Variação da Porcentagem de Extração do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Solução Não-Irradia da de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$) ao Ar Atmosférico e Soluções da Mesma Concentração Submetidas a Doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy Com Borbulhamento de Oxigênio e ao Ar Atmosférico.

		DOSE (MGy)							
		$1,6 \times 10^{-2}$			$6,4 \times 10^{-2}$				
Ao Ar Atmosférico		Irradiação Ao Ar Atmosférico		Irradiação Com Borbulhamento de O_2		Irradiação Ao Ar Atmosférico		Irradiação Com Borbulhamento de O_2	
pH	%E	pH	%E	pH	%E	pH	%E	pH	%E
1,60	0,4	1,70	0,7	1,50	0,4	1,65	0,2	1,70	1,2
1,80	1,1	1,85	0,9	1,80	2,6	1,85	0,5	2,00	8,8
2,10	8,7	2,15	8,2	2,10	16,4	2,10	1,7	2,20	23,9
2,35	34,7	2,35	23,6	2,30	35,4	2,30	5,4	2,40	44,0
2,50	57,9	2,60	59,8	2,45	58,3	2,50	14,8	2,50	59,4
2,75	82,8	2,75	77,2	2,65	77,8	2,80	48,6	2,70	75,5
3,00	93,2	3,05	91,2	2,90	89,9	3,00	77,2	2,90	86,1
3,20	95,2	3,40	94,5	3,20	95,0	3,40	93,9	3,20	94,0
3,30	96,1	3,70	96,9	3,40	97,0	3,65	97,3	3,50	97,2

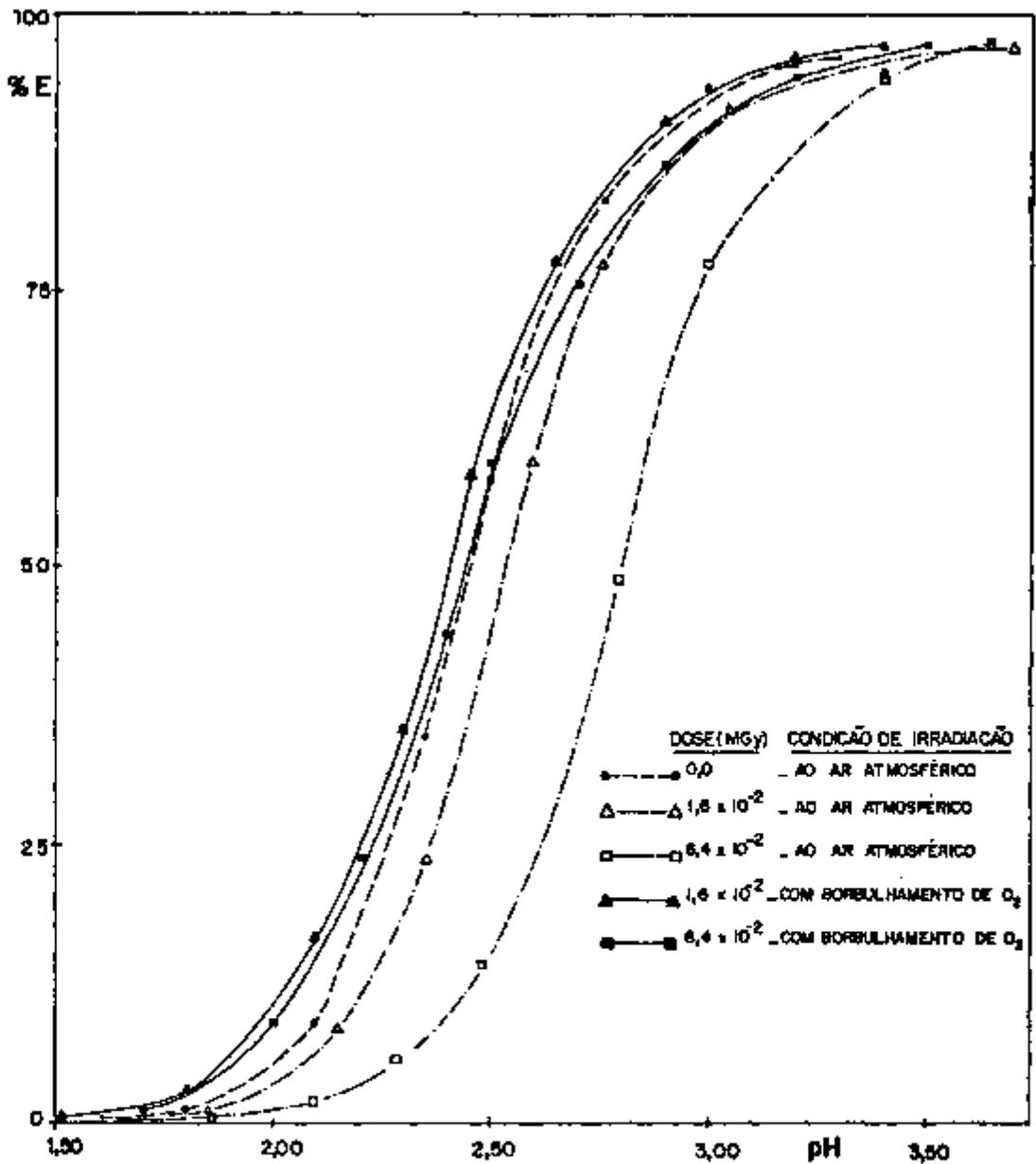


FIGURA IV.18.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Solução Não-Irradiada de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2}\text{M}$) ao Ar Atmosférico e com Soluções da Mesma Concentração Submetidas a Doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy ao Ar Atmosférico e com Borbulhamento de Oxigênio.

CAP. IV

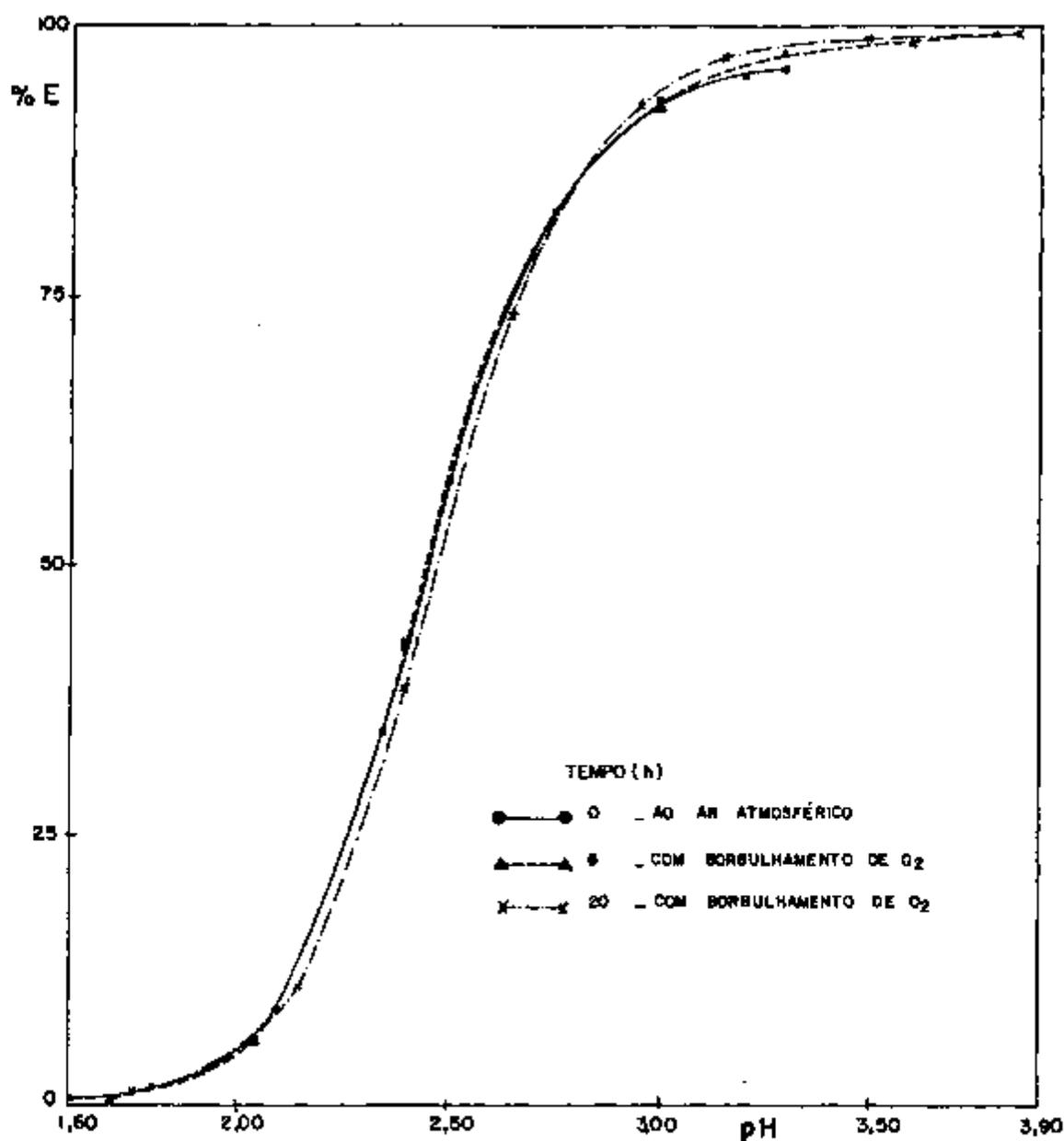


FIGURA IV.19.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Soluções Não-Irradiadas de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração $1,0 \times 10^{-2}\text{M}$) ao Ar Atmosférico e com Borbulhamento de Oxigênio por 8 e 20 Horas.

CAP. IV

Tabela IV.9.- Variação da Porcentagem de Extração e do Logaritmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções Não-Irradiadas de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração $1,0 \times 10^{-2} M$) ao Ar Atmosférico e Com Borbulhamento de Oxigênio por Períodos de Tempo de 8 e 20 Horas.

TEMPO (h)								
0			8			20		
Ao Ar Atmosférico			Com Borbulhamento de O ₂			Com Borbulhamento de O ₂		
pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D
1,60	0,4	—	1,70	0,5	-2,30	1,75	1,0	-2,00
1,80	1,1	—	2,05	5,6	-1,23	2,15	10,5	-0,93
2,10	8,7	-1,02	2,40	42,6	-0,13	2,40	38,6	-0,20
2,35	34,7	-0,27	2,70	78,9	0,57	2,65	73,1	0,43
2,50	57,9	0,14	3,00	92,8	1,11	2,95	92,8	1,11
2,75	82,8	0,68	3,30	97,4	—	3,15	97,1	1,52
3,00	93,2	1,14	3,60	98,7	—	3,50	98,7	—
3,20	95,2	—	3,80	99,5	—	3,85	99,5	—
3,30	96,1	—						

CAP. IV

cool benzílico nas quais foi feito borbulhamento constante de oxigênio por períodos de tempo de 8 e 20 horas. Estes são os tempos que seriam os necessários para submetê-las às doses de $1,6 \times 10^2$ e $6,4 \times 10^2$ MGy. Pode, desta forma, ser examinado o efeito do oxigênio sobre a molécula de tetraciclina, independente mente do efeito da radiação gama. A mesma Figura IV.19 apresenta, também, para comparação, a curva de extração obtida nos experimentos feitos com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico e sem sofrer borbulhamento de oxigênio.

A Figura IV.20 (valores da Tabela IV.9), apresenta as retas que dão a variação do logaritmo da razão de distribuição em função da variação do pH para a extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu com soluções não-irradiadas de tetraciclina em álcool benzílico as quais foram submetidas a borbulhamento constante de oxigênio por períodos de tempo de 8 e 20 horas e, também, a reta que dá a mesma variação para os experimentos em que a solução de tetraciclina em álcool benzílico foi utilizada logo após a sua preparação, sem sofrer borbulhamento de oxigênio. Estatisticamente foi comprovada a coincidência entre as três retas apresentadas na Figura IV.20, em um nível de significância de 0,10.

IV.10.2.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Irradiada em Atmosfera de Nitrô-gênio.

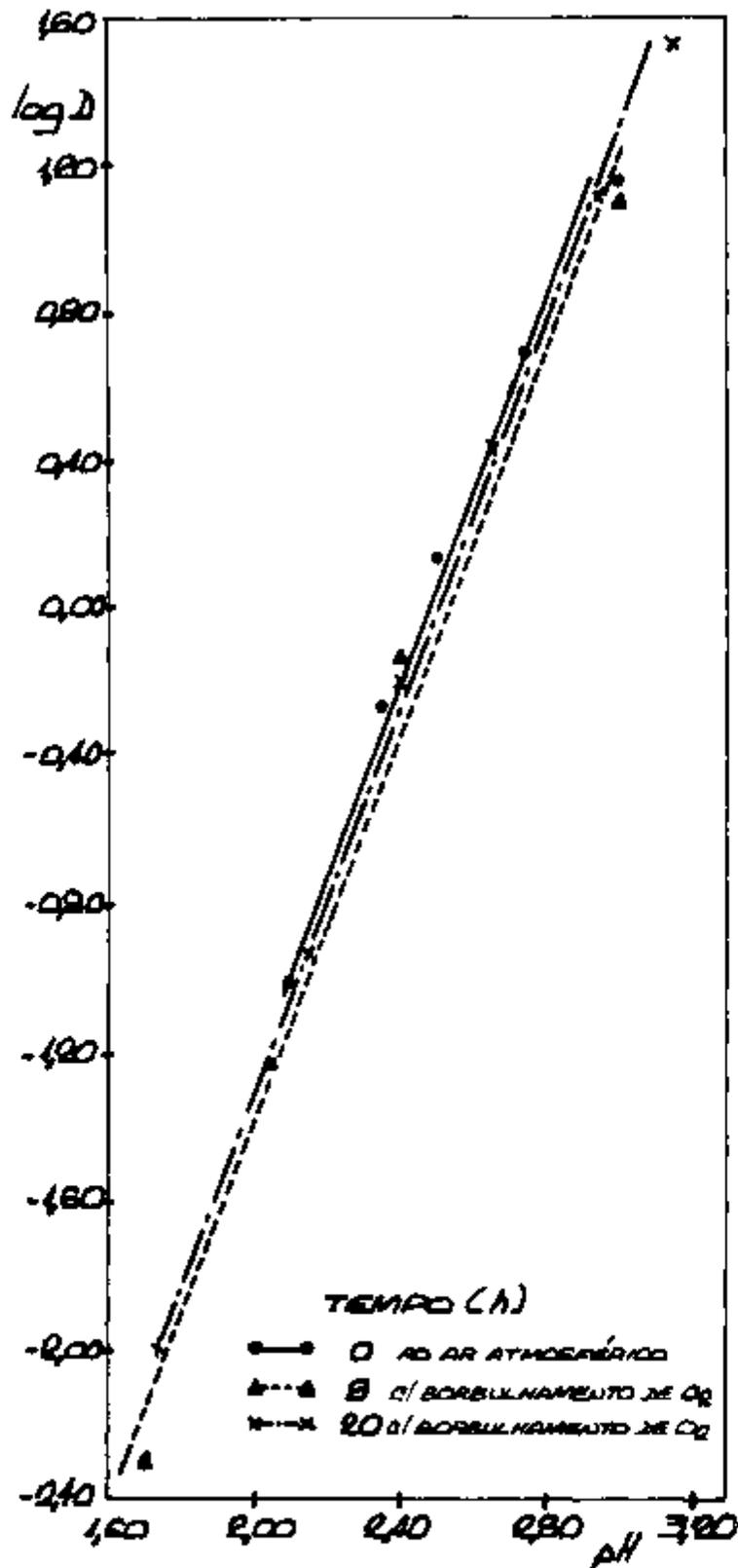


FIGURA IV.20.- Variação do Logaritmo da Razão de Distribuição ($\log D$) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções Não-Irradiadas de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração $1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$) ao Ar Atmosférico e com Borbulhamento de Oxigênio por 8 e 20 Horas.

CAP. IV

Os resultados obtidos para a variação da porcentagem de extração e para a variação do logaritmo da razão de distribuição do ^{152}Eu - ^{154}Eu , ambas em função da variação do pH, para os experimentos de extração executados com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico e com soluções submetidas a uma dose de radiação gama de $6,4 \times 10^2$ MGy, considerando os casos em que a irradiação foi feita com borbulhamento de nitrogênio e ao ar atmosférico, encontram-se na Tabela IV.10.

A curva de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu com solução de tetraciclina em álcool benzílico submetida a uma dose de radiação gama de $6,4 \times 10^2$ MGy com borbulhamento constante de nitrogênio, é apresentada na Figura IV.21. Juntamente com essa curva, é apresentada, também, aquela referente às operações de extração realizadas com solução de tetraciclina em álcool benzílico submetida à mesma dose de radiação gama, mas ao ar atmosférico. Para efeito de comparação encontra-se ainda na mesma Figura IV.21 a curva de extração obtida quando os respectivos experimentos foram executados simplesmente com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico.

A Figura IV.22 (valores da Tabela IV.10), apresenta as retas que dão a variação do logaritmo da razão de distribuição do ^{152}Eu - ^{154}Eu em função da variação do pH, representando uma variação linear a qual permite a aplicação

CAP. IV

Tabela IV.10.- Variação da Porcentagem de Extração e do Logaritmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Solução Não-Irradiada de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$) ao Ar Atmosférico, e Soluções da Mesma Concentração com Borbulhamento de Nitrogênio e ao Ar Atmosférico.

DOSE (MGy)								
0,0			$6,4 \times 10^{-2}$					
Ao Ar Atmosférico			Irradiação Feita Ao Ar Atmosférico			Irradiação Feita Com Borbulhamento de N ₂		
pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D
1,60	0,4	—	1,65	0,2	—	1,90	0,4	—
1,80	1,1	—	1,85	0,5	-2,30	2,10	2,0	-1,68
2,10	8,7	-1,02	2,10	1,7	-1,76	2,30	6,3	-1,17
2,35	34,7	-0,27	2,30	5,4	-1,24	2,50	16,6	-0,70
2,50	57,9	0,14	2,50	14,8	-0,76	2,80	47,7	-0,04
2,75	82,8	0,68	2,80	48,6	-0,02	3,00	78,4	0,56
3,00	93,2	1,14	3,00	77,2	0,53	3,10	87,1	—
3,20	95,2	—	3,40	93,9	—	3,30	92,8	—
3,30	96,1	—	3,65	97,3	—	3,65	97,6	—

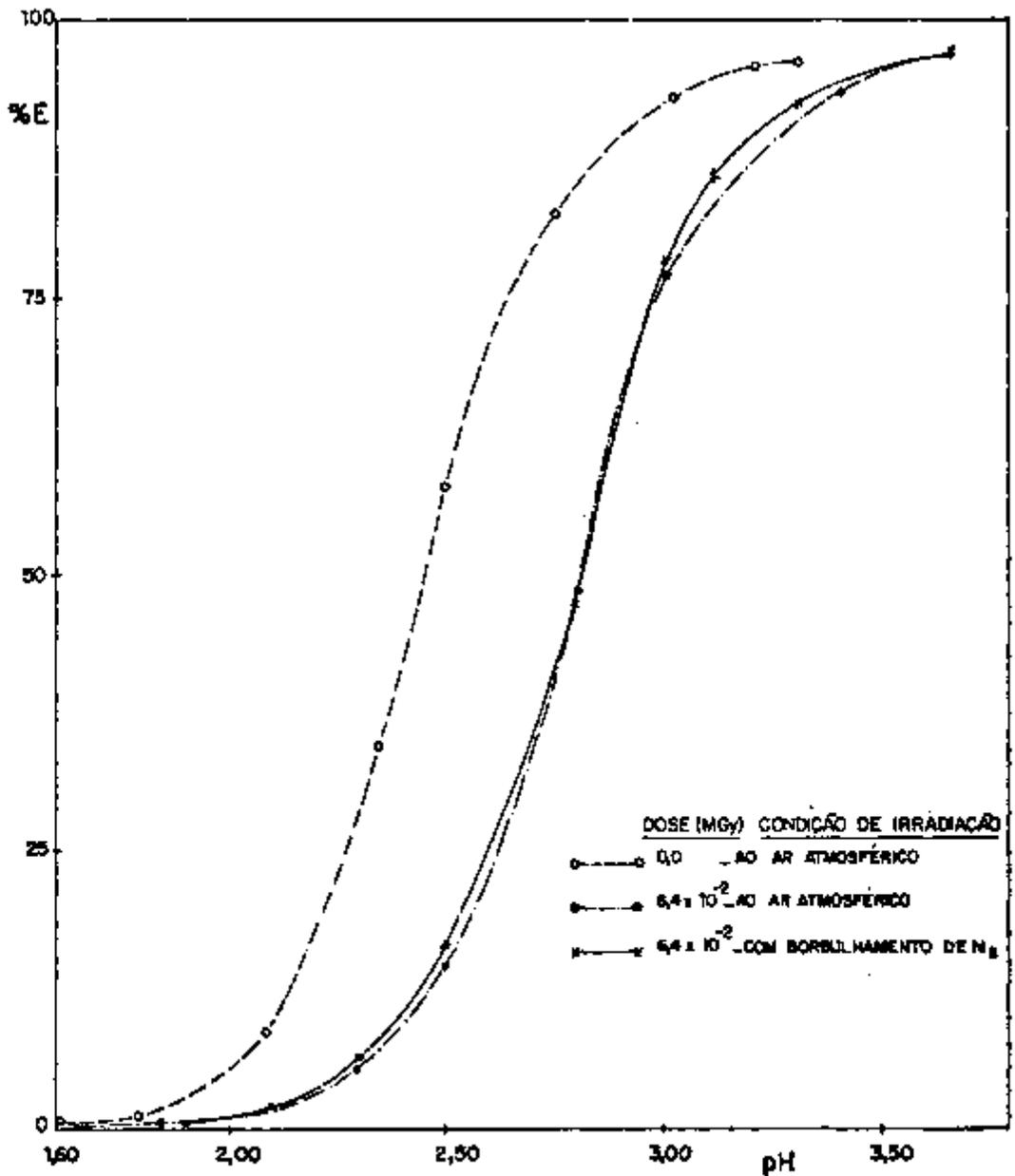


FIGURA IV.21.- Curvas de Extração do $^{152}\text{Eu}-^{154}\text{Eu}$ Obridas com Soluções de Tetraciclina em álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$) ao Ar Atmosférico e com Soluções da Mesma Concentração Submetidas a uma Dose de $6,4 \times 10^{-2} \text{MGy}$ com Borbulhamento de Nitrogênio e ao Ar Atmosférico.

CAP. IV

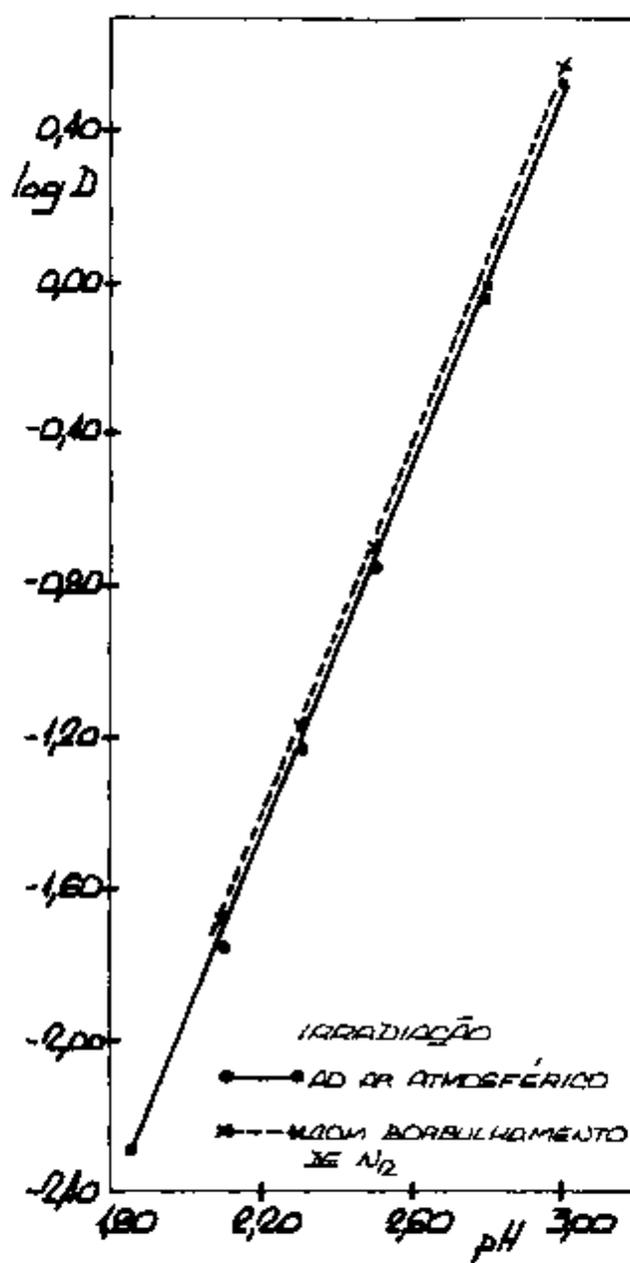


FIGURA IV.22.- Variação do Logarítmo da Razão de Distribuição ($\log D$) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$), Submetidas a uma Dose de $6,4 \times 10^{-2} \text{MGy}$ ao Ar Atmosférico e com Borbulhamento de Nitrogênio.

dos testes estatísticos para comprovar a coincidência entre estas retas referentes às operações de extração realizadas com soluções de tetraciclina em álcool benzílico ambas submetidas a uma dose de radiação gama de $6,4 \times 10^2$ MGy, porém uma das quais foi irradiada sob borbulhamento constante de nitrogênio e a outra foi irradiada ao ar atmosférico.

A aplicação dos testes estatísticos, descritos no Apêndice I, permitiu comparar as retas apresentadas na Figura IV.22, e comprovar a coincidência entre elas, em um nível de significância de 0,10.

IV.10.3.- Estudo do Efeito da Radiação Gama Sobre a Molécula de Tetraciclina Irradiada em Atmosfera Constituída por Gases Captadores de Elêtrons.

Na Figura IV.23 (valores da Tabela IV.11) encontram-se as curvas de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu , obtidas para os diversos valores de pH em que os experimentos de extração foram realizados utilizando soluções de tetraciclina em álcool benzílico irradiadas sob borbulhamento constante de óxido nítrico e hexa-fluoreto de enxofre, e sob ar atmosférico, sendo submetidas a uma dose de $1,6 \times 10^2$ MGy.

Para o caso em que, nas mesmas condições acima, as soluções de tetraciclina em álcool benzílico foram submetidas a uma dose de $6,4 \times 10^2$ MGy, os resultados obtidos em

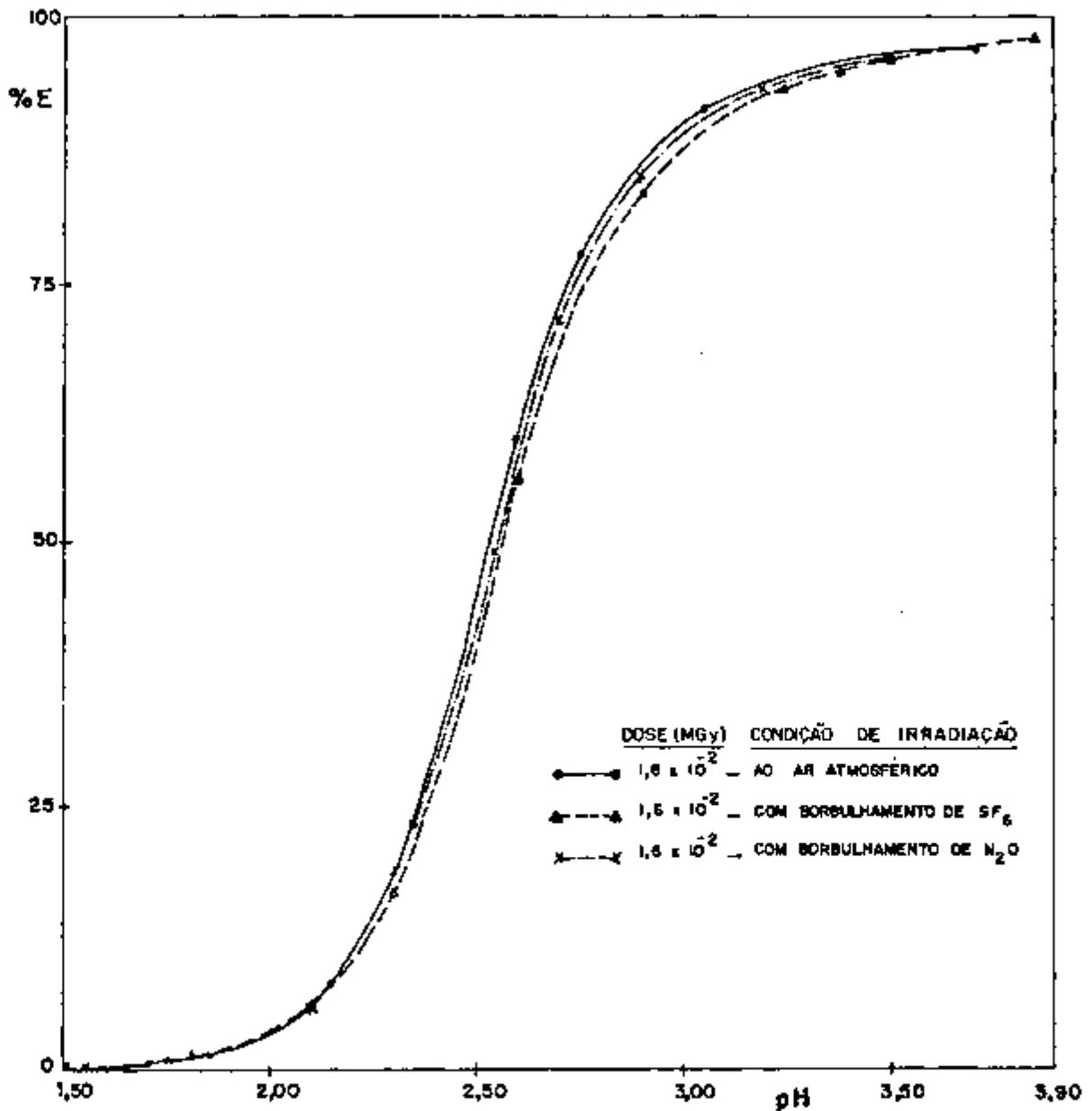


FIGURA IV.23.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2}$ M) Submetidas a uma Dose de $1,6 \times 10^{-2}$ MGy ao Ar Atmosférico e em Presença de Substâncias Captadoras de Elétrons.

CAP. IV

Tabela IV.11.- Variação da Porcentagem de Extração e do Logaritmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$) Submetidas a uma Dose de $1,6 \times 10^{-2}$ MGy ao Ar Atmosférico e em Presença de Substâncias Captadoras de Elétrons.

Irradiação Feita Ao Ar Atmosférico			Irradiação Feita Com Borbulhamento de SF ₆			Irradiação Feita Com Borbulhamento de N ₂ O		
pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D
1,70	0,7	-2,15	1,50	0,2	-2,70	1,55	0,1	—
1,85	0,9	-2,04	1,80	1,0	-2,00	1,75	0,8	-2,09
2,15	8,2	-1,05	2,10	5,8	-1,21	2,10	5,9	-1,20
2,35	23,6	-0,51	2,30	16,6	-0,70	2,30	19,0	-0,63
2,60	59,8	0,17	2,60	56,3	0,11	2,55	49,1	-0,02
2,75	77,2	0,53	2,90	83,1	—	2,70	70,9	0,39
3,05	91,2	—	3,25	93,1	—	2,90	85,1	—
3,40	94,5	—	3,50	95,9	—	3,20	92,9	—
3,70	96,9	—	3,85	98,0	—	3,50	96,0	—

CAP. IV

contram-se na Tabela IV.12 e a Figura IV.24 apresenta as respectivas curvas de extração. Juntamente com essas curvas, é apresentada, também, aquela referente às operações de extração realizadas com solução de tetraciclina em álcool benzílico submetida à mesma dose de radiação gama ao ar atmosférico.

Mais uma vez, lançou-se mão de testes estatísticos para examinar a coincidência entre as retas apresentadas na Figura IV.25 (valores da Tabela IV.11), assim como também daquelas apresentadas na Figura IV.26 (valores da Tabela IV.12), que mostram a variação do logaritmo da razão de distribuição em função da variação do pH. Estatisticamente foi comprovada a coincidência entre as retas da Figura IV.25 em um nível de significância de 0,10 e, entre as retas da Figura IV.26, em um nível de significância de 0,02.

IV.11.- Decomposição da Solução de Tetraciclina. Estudos Feitos com Relação ao Grupamento β -Dicetona Fenólica.

Conhecendo o valor da absorvância da solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico (concentração $1,0 \times 10^{-2} M$) e os valores das absorvâncias das soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a diferentes doses de radiação gama, a saber: $1,6 \times 10^{-2}$; $6,4 \times 10^{-2}$; $18,2 \times 10^{-2}$; $34,4 \times 10^{-2}$; $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, foi possível calcular quanto de tetraciclina (quantidade de moléculas) foi

CAP. IV

Tabela IV.12.- Variação da Porcentagem de Extração e do Logaritmo da Razão de Distribuição do Európio, em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} M$) Submetidas a uma Dose de $6,4 \times 10^{-2} MGy$ ao Ar Atmosférico e em Presença de Substâncias Captadoras de Elétrons.

Irradiação Feita Ao Ar Atmosférico			Irradiação Feita Com Borbulhamento de SP_6			Irradiação Feita Com Borbulhamento de N_2O		
pH	%E	log D	pH	%E	log D	pH	%E	log D
1,65	0,2	—	1,60	0,2	—	1,70	0,3	—
1,85	0,5	-2,30	1,80	0,4	-2,40	1,90	0,5	-2,30
2,10	1,7	-1,76	2,10	1,6	-1,79	2,10	1,6	-1,79
2,30	5,4	-1,24	2,30	5,0	-1,28	2,30	5,0	-1,28
2,50	14,8	-0,76	2,50	14,0	-0,79	2,50	14,2	-0,78
2,80	48,6	-0,02	2,80	48,0	-0,03	2,80	48,4	-0,03
3,00	77,2	0,53	3,00	76,0	0,50	3,00	76,8	0,52
3,40	93,9	—	3,40	92,1	—	3,40	93,0	—
3,65	97,3	—	3,60	96,4	—	3,60	97,0	—

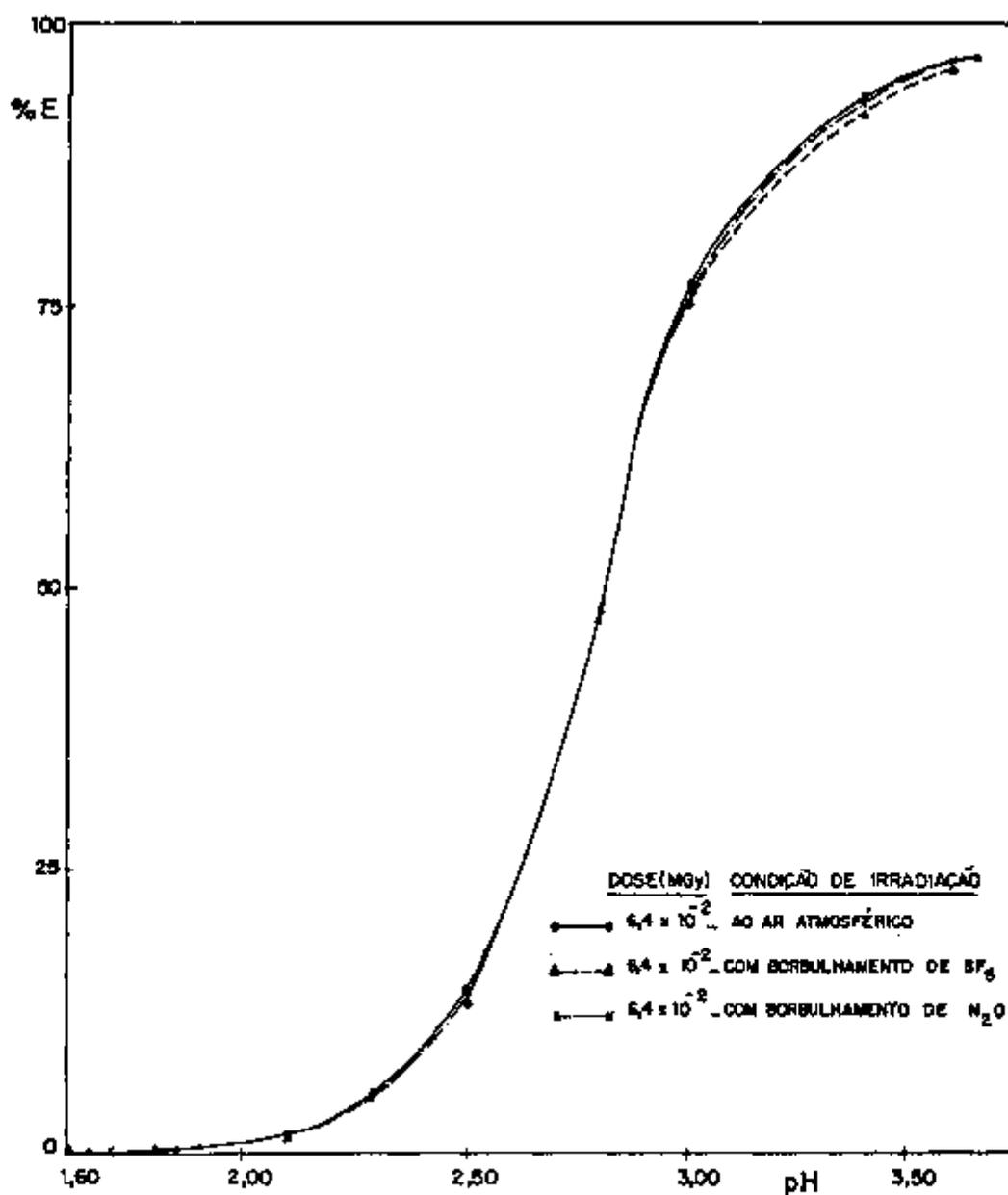


FIGURA IV.24.- Curvas de Extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu Obtidas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$) Submetidas a uma Dose de $6,4 \times 10^{-2} \text{MGy}$ ao Ar Atmosférico e em Presença de Substâncias Captadoras de Elétrons.

CAP. IV

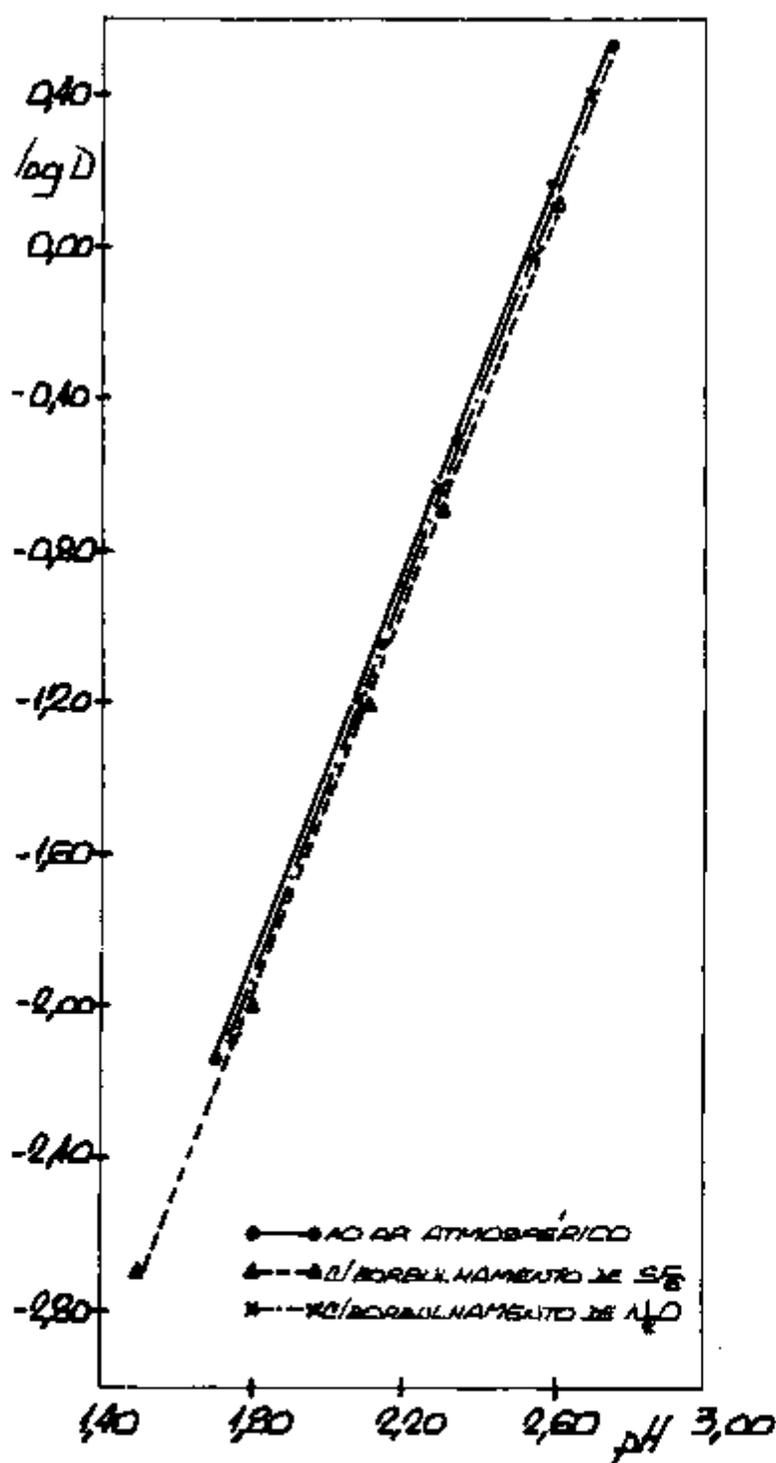


FIGURA IV.25.- Variação do Logarítmo da Razão de Distribuição ($\log D$) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$), Submetidas a uma Dose de $1,6 \times 10^{-2} \text{MGy}$ ao Ar Atmosférico e em Presença de Substâncias Captadoras de Elétrons.

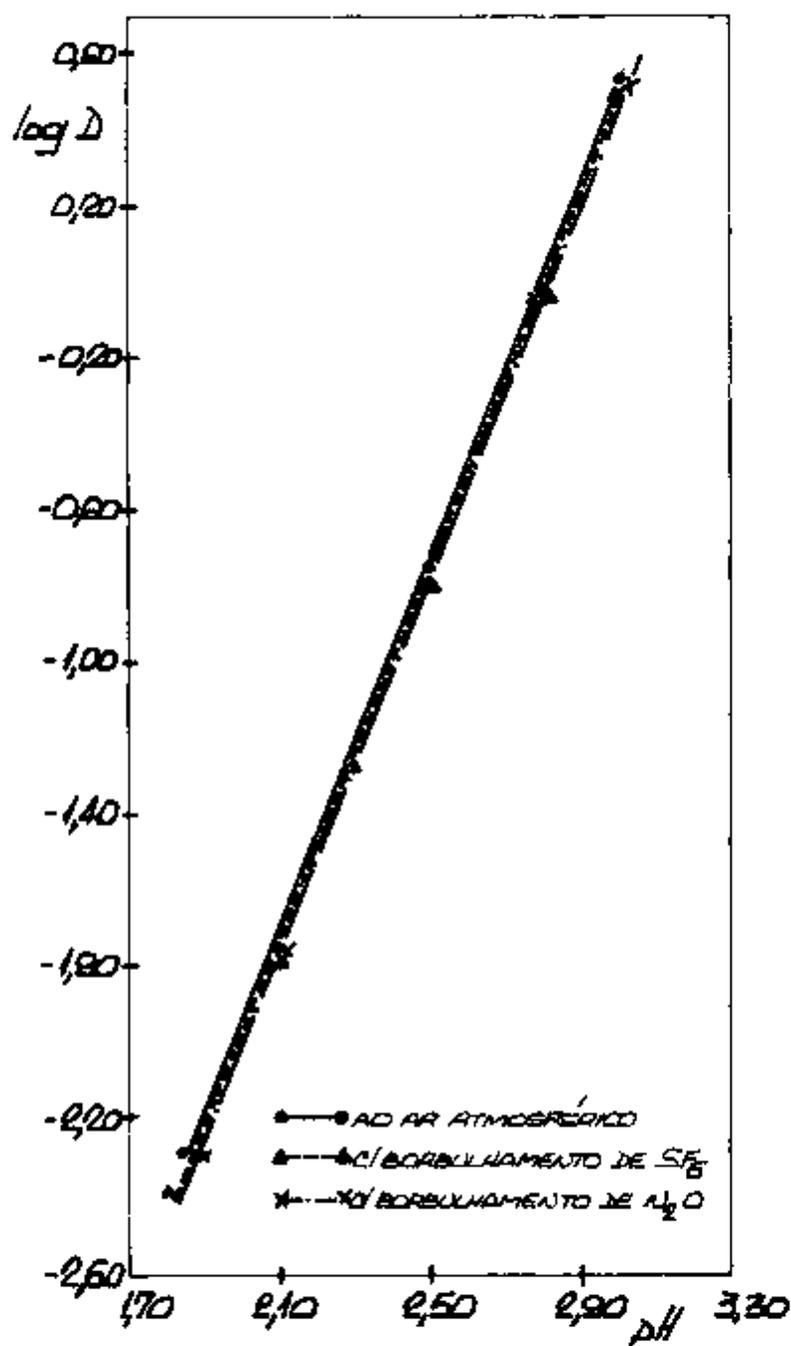


FIGURA IV.26.- Variação do Logarítmo da Razão de Distribuição ($\log D$) do ^{152}Eu - ^{154}Eu em Função da Variação do pH. Operações de Extração Realizadas com Soluções de Tetraciclina em Álcool Benzílico (Concentração Inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$), Submetidas a uma Dose de $6,4 \times 10^{-2} \text{MCy}$ ao Ar Atmosférico e em Presença de Substâncias Captadoras de Elétrons.

CAP. IV

decomposta por ação da radiação. A Tabela IV.13 apresenta os valores das concentrações das soluções decompostas (transformadas) pela ação de diferentes doses de radiação gama. Estas concentrações das soluções decompostas foram calculadas considerando a transformação que ocorre no grupamento β -dicetona fenólica, uma vez que as medidas das absorbâncias que serviram como base para o cálculo da concentração de cada solução examinada, foram feitas no comprimento de onda de 360 nm (comprimento de onda do pico de absorção associado ao grupamento β -dicetona fenólica).

A determinação dos valores das concentrações foi feita mediante o uso da reta apresentada na Figura IV.13, que dá a variação do valor da absorbância em função da variação da concentração das soluções de tetraciclina em álcool benzílico. Obteve-se assim, para cada solução irradiada, a concentração da solução correspondente à tetraciclina que não sofreu transformação causada pela radiação gama no grupamento β -dicetona fenólica.

Ressalta-se que, calculando a diferença entre a concentração da solução não-irradiada e a concentração que cada uma das soluções irradiadas apresentava, foi possível calcular a concentração da solução decomposta (Tabela IV.13).

A Figura IV.27 (valores da Tabela IV.13) apresenta a variação da concentração de tetraciclina em função da variação da dose de radiação gama.

CAP. IV

Tabela IV.13.- Variação da Concentração da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico em Função da Variação da Dose de Radiação Gamma a que a Solução Foi Submetida.

DOSE $\times 10^2$ (MGy)	A	[TC] $\times 10^2$ Não-Transformada	[TC] $\times 10^3$ Transformada
0,0	0,67	1,00	0,0
1,6	0,66	0,99	0,1
6,4	0,63	0,95	0,5
18,2	0,60	0,90	1,0
34,4	0,53	0,80	2,0
44,4	0,50	0,75	2,5
77,0	0,48	0,72	2,8

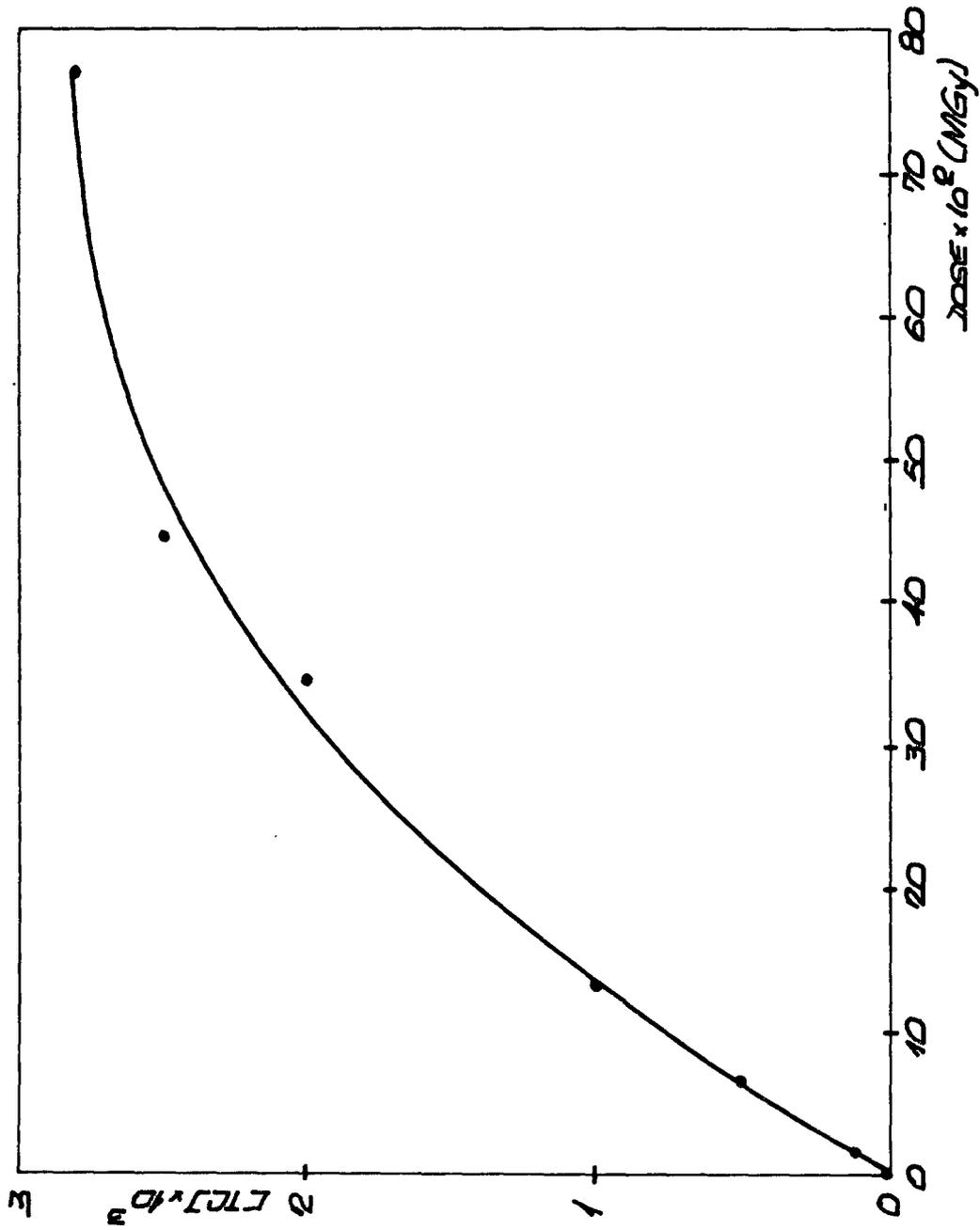


FIGURA IV.27.- Variação da Concentração da Solução de Tetraciclina em Álcool Benzílico Transformada pela Ação da Radiação Gama em Função da Variação da Dose Aplicada.

CAPÍTULO VD I S C U S S Ã O E C O N C L U S Õ E S

Considerando os resultados obtidos no estudo do efeito da radiação gama sobre a molécula de tetraciclina no estado sólido, pode-se afirmar que, quando submetida, no estado sólido, a doses de radiação gama no intervalo compreendido entre $1,6 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, a molécula de tetraciclina não sofre alterações no que diz respeito às suas propriedades de agente extrator. Tal conclusão decorre do fato de ter sido verificado que o comportamento, quanto à extração, de soluções de tetraciclina em álcool benzílico, preparadas com tetraciclina submetida, no estado sólido, a doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy é idêntico ao de uma solução preparada com tetraciclina não-irradiada (Figura IV.1). O que leva a esta conclusão é o fato de que as retas que dão a variação do logaritmo da razão de distribuição em função da variação do pH (Figura IV.2), as quais descrevem o comportamento dos sistemas de extração em que foram usadas as soluções acima mencionadas, são coincidentes com a reta correspondente à operação de extração realizada com solução de tetraciclina em álcool benzílico usando, para sua preparação, tetraciclina não-irradiada. Uma vez que foi verificado, por meio da aplicação dos testes estatísticos adequados, que as retas

CAP.V

são coincidentes em um nível de significância de 0,02, pode-se concluir que não há alteração no comportamento da tetraciclina como agente extrator quando ela é previamente submetida, no estado sólido, à ação da radiação gama (doses de até $77,0 \times 10^2$ MGy).

De acordo com trabalho realizado por Holland e colaboradores⁽¹⁶⁾, no qual eles estudaram a radiólise das tetraciclinas no estado sólido, com a finalidade de usar a radiação gama para esterilização destes compostos, foi verificado que as tetraciclinas são bastante resistentes à radiação. Pode-se afirmar que a molécula de tetraciclina ao ser submetida, no estado sólido, à ação da radiação gama sofre apenas vibrações energéticas que não alteram o seu comportamento como agente complexante e extrator.

A conclusão de que não há alteração no comportamento da tetraciclina como agente extrator quando ela é previamente submetida, no estado sólido, à ação da radiação gama (doses de até $77,0 \times 10^2$ MGy), foi confirmada, no presente trabalho, pelo exame dos espectros obtidos na região do infravermelho para a molécula de tetraciclina no estado sólido. Ao comparar o espectro de absorção apresentado na Figura IV.3 correspondente ao caso em que a tetraciclina, no estado sólido, não foi submetida à ação da radiação gama, com aquele apresentado na Figura IV.4 referente à molécula de tetraciclina após ser submetida no estado sólido, à dose

CAP.V

de radiação gama de $77,0 \times 10^2$ MGy, observa-se que não existem diferenças entre eles. Este resultado é concordante com a conclusão que se pode tirar a partir dos estudos realizados anteriormente nos quais foi mostrado que, quanto ao seu poder extrator, a tetraciclina comporta-se de maneira similar quando submetida ou não à ação da radiação gama (irradiação no estado sólido).

O exame das curvas de extração do európio obtidas nos experimentos realizados com soluções de tetraciclina preparadas com álcool benzílico irradiado antes da adição da tetraciclina (Figura IV.5) mostra que, neste caso, ocorre algo semelhante àquilo que foi observado quando se fez o estudo do comportamento, quanto à extração, de soluções de tetraciclina em álcool benzílico preparadas com tetraciclina submetida, no estado sólido, à ação da radiação gama, ou seja, graficamente, as curvas de extração da Figura IV.5 parecem ser coincidentes. Na realidade foi verificado estatisticamente que a reta da variação do logaritmo da razão de distribuição em função da variação do pH correspondente à extração realizada com a solução preparada com tetraciclina dissolvida com álcool benzílico não-irradiado previamente, coincide (Figura IV.6) com as retas que correspondem às operações de extração em que as soluções de tetraciclina foram preparadas com álcool benzílico previamente submetido a doses até $77,0 \times 10^2$ MGy. O fato de haver coincidência entre as retas que representam o comportamento dos sistemas de extra

CAP.V

ção nos quais foi utilizado álcool benzílico irradiado, com a reta que representa o comportamento do sistema de extração para o qual nenhum dos componentes sofreu irradiação, mostra que ambos os sistemas de extração comportam-se identicamente, o que significa que a irradiação do álcool benzílico não produziu alteração no comportamento de extração da solução obtida ao dissolver a tetraciclina com álcool benzílico previamente irradiado.

Estudos realizados por Sargent e Gardy⁽⁴³⁾ mostraram que na irradiação do álcool benzílico há formação de radicais livres, mas estes têm existência muito curta e, à temperatura ambiente, recombina-se rapidamente. Assim sendo, é de supor que no caso presente, a recombinação dos radicais livres do álcool benzílico formados por irradiação, ocorra antes de ser realizada a dissolução da tetraciclina com o álcool benzílico irradiado, não havendo, portanto possibilidade de estes radicais virem a interagir com a molécula de tetraciclina, alterando de alguma forma o seu comportamento como agente extrator.

Conforme pode ser visto na Figura IV.7, ao comparar a curva de extração obtida nas operações de extração realizadas com a solução de tetraciclina não irradiada, com as curvas de extração obtidas quando são usadas, para a operação de extração, soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a diferentes doses de radia

CAP.V

ção, observa-se que, para um mesmo valor de pH, existe uma diminuição na porcentagem de extração do európio, quando são considerados os experimentos de extração realizados com as soluções irradiadas. Tal fato aqui observado indica que alguma modificação na molécula de tetraciclina deve ter ocorrido, por efeito da radiação na solução de tetraciclina em álcool benzílico, levando a uma diminuição no poder da tetraciclina como agente extrator. Provavelmente, a diminuição observada no valor da porcentagem de extração para um mesmo valor de pH, quando foram usadas as soluções irradiadas, deve ser devido à diminuição na concentração da solução constituída pelas moléculas de tetraciclina que efetivamente complexam o metal. Na Figura IV.7, observa-se ainda que, a partir de uma dose de $1,6 \times 10^{-2}$ MGy, já podem ser notadas variações no valor da porcentagem de extração com relação às operações feitas com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico e que, quando as soluções são submetidas a doses crescentes de radiação gama, a variação (diminuição) na porcentagem de extração com o aumento da dose recebida pela solução de tetraciclina em álcool benzílico é menor para doses superiores a $34,4 \times 10^{-2}$ MGy do que nos casos em que as soluções foram submetidas a doses de $1,6 \times 10^{-2}$; $6,4 \times 10^{-2}$ e $18,2 \times 10^{-2}$ MGy. Foi verificado estatisticamente, que a reta correspondente à extração do európio realizada com a solução de tetraciclina em álcool benzílico submetida a uma dose de $44,4 \times 10^{-2}$ MGy coincide (Figura IV.8) com a reta que corresponde à extração do európio utilizando solução de tetracicli

CAP.V

na submetida a uma dose de $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, indicando que a partir de uma dose de $44,4 \times 10^{-2}$ MGy a radiação gama não altera mais o comportamento da molécula de tetraciclina como agente extrator.

A observação feita de que foi somente no caso em que foram realizadas as operações de extração usando a solução irradiada de tetraciclina em álcool benzílico que se notou a variação no comportamento de extração da tetraciclina, leva a considerar pelo menos duas hipóteses possíveis para explicar o comportamento verificado. Uma destas hipóteses refere-se à ação que os produtos de radiólise da água poderiam ter sobre a molécula de tetraciclina, alterando-a. Entretanto, de acordo com os resultados obtidos nos experimentos feitos para examinar tal ação e cuja discussão será apresentada logo a seguir, chegou-se à conclusão que tal hipótese não é verdadeira. A outra forma possível para explicar a alteração na molécula de tetraciclina que ocorre quando da irradiação de suas soluções em álcool benzílico, e que parece ser o que na realidade ocorre, é que são os radicais livres formados pela ação da radiação gama sobre o álcool benzílico que atuam sobre a molécula de tetraciclina, uma vez que tais radicais ao se formarem têm possibilidade de interagir imediatamente com a molécula de tetraciclina, antes de se passar o tempo necessário para a sua recombinação.

Na averiguação da existência (ou não) da influ

CAP.V

ência da pré-saturação do álcool benzílico com água, sobre a variação da extração, observa-se na Figura IV.9 que, graficamente, as curvas de extração do európio referentes às operações de extração realizadas com soluções de tetraciclina em álcool benzílico pré-saturado ou não, com água, e submetidas a uma dose de $77,0 \times 10^2$ MGy, parecem ser coincidentes. A coincidência entre as retas que dão a variação do logaritmo da razão de distribuição em função da variação do pH (Figura IV.10), foi confirmada estatisticamente. Portanto, a partir dessa condição de coincidência, verificada estatisticamente, pode-se, como conclusão desse estudo, afirmar que a água usada para a pré-saturação do álcool benzílico não exerce nenhuma influência sobre a variação da porcentagem de extração do európio que é observada quando são usadas para a extração soluções irradiadas de tetraciclina em álcool benzílico pré-saturado com água.

Estes estudos mostram então, que não se concretiza a hipótese inicialmente levantada de que seriam os produtos de radiólise da água (presente na fase orgânica devido à miscibilidade mútua entre álcool benzílico e água), os responsáveis pela diferença observada no comportamento de extração do európio ao usar soluções irradiadas de tetraciclina em álcool benzílico (Figura IV.7), considerando que tal diferença no comportamento quanto à extração seja uma consequência das alterações provocadas na molécula de tetraciclina.

CAP.V

Na Figura IV.11 pode-se observar que não existem diferenças entre os espectros de absorção obtidos no intervalo de comprimento de onda de 320 a 440 nm para soluções de concentração inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$ de tetraciclina em álcool benzílico, preparadas utilizando este último pré-saturado ou não com água. Tem-se, desta maneira, por meio da técnica espectrofotométrica, uma confirmação dos resultados obtidos por meio dos experimentos de extração, para os quais foi verificada, por meio de testes estatísticos, a condição de coincidência das curvas de extração correspondentes às duas condições estudadas. Já que não houve variação no valor da absorbância e, portanto, na concentração das soluções de tetraciclina irradiadas ($77,0 \times 10^2 \text{ MGy}$) preparadas com álcool benzílico pré-saturado ou não com água, pode-se concluir que as moléculas de tetraciclina não sofreram alterações provocadas pelos eventuais produtos de radiólise da água formados a partir das moléculas de água que acompanham o álcool benzílico após a operação de pré-saturação.

De acordo com o que está apresentado na Figura IV.13, foi verificado que a lei de Lambert-Beer é obedecida, para soluções de tetraciclina em álcool benzílico, pelo menos dentro do intervalo de concentrações que vai desde 0 até $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$, uma vez que o valor da absorbância mostra-se como uma função linear da concentração das soluções de tetraciclina em álcool benzílico. Tomando como base este comportamento da solução de tetraciclina em álcool benzílico,

é possível verificar a variação no valor da concentração de uma solução de tetraciclina em álcool benzílico provocada pela irradiação de amostras de tal solução.

A comparação das alturas do pico de absorção máxima, localizado em 360 nm, das soluções de concentração inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$ de tetraciclina em álcool benzílico submetidas à ação de diferentes doses de radiação gama (Figura IV.12), mostra que existe uma diminuição no valor da absorvância associada a tal pico, ou seja, é observada uma diminuição na concentração da solução de tetraciclina inicialmente presente, à medida que a dose de radiação aumenta. Com base nestes resultados (diminuição na altura do pico de absorção máxima) pode-se afirmar que a tetraciclina, por efeito da radiação gama, sofreu transformações mas ainda permaneceram moléculas de tetraciclina inalteradas, sendo estas as responsáveis pelo pico de absorção observado em 360 nm.

Para o caso em que se irradiou a solução de tetraciclina numa concentração inicial $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ com uma dose de $6,4 \times 10^2 \text{ MGy}$, pode-se observar, na Figura IV.14, que o pico de absorção máxima da tetraciclina desapareceu. O espectro de absorção da solução de tetraciclina de concentração inicial $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ não-irradiada, obtido nas mesmas condições experimentais, que para efeito de comparação é apresentado na mesma Figura IV.14, mostra, entretanto, o pico de absorção máxima localizado em 360 nm, apresentando uma

absorbância de 0,67.

O desaparecimento do pico de absorção (360 nm) provocado pela ação da radiação (dose de $6,4 \times 10^2$ MGy) sobre a solução de tetraciclina de concentração inicial $1,0 \times 10^{-4}$ M, leva a crer que ao irradiar soluções diluídas, todas as moléculas de tetraciclina presentes na solução foram alteradas. Pode-se afirmar que não permaneceu inalterado um número de moléculas suficiente para que a solução ainda apresentasse o pico de absorção em 360 nm, após a irradiação, já que esta solução é cem vezes mais diluída que a do caso anteriormente considerado. Devido ao fato de o número de moléculas de tetraciclina presentes nessa solução ser bem menor, (solução $1,0 \times 10^{-4}$ M), a radiação gama é capaz de alterar, praticamente, a totalidade das moléculas de tetraciclina presentes na solução, submetida à dose de $6,4 \times 10^2$ MGy, fato que não acontece com a solução de tetraciclina $1,0 \times 10^{-2}$ M, submetida à mesma dose, na qual o número de moléculas de tetraciclina é bem maior, considerando-se amostras de mesmo volume em ambos os casos.

De acordo com Conover⁽⁷⁾, o grupamento β -dicetona fenólica é o responsável pelo pico de absorção da tetraciclina que se localiza no comprimento de onda de aproximadamente 360 nm. De acordo com os estudos espectrofotométricos realizados no presente trabalho, pode-se afirmar que a radiação gama está modificando a molécula de tetraciclina no

CAP.V

grupamento β -dicetona fenólica uma vez que conforme mostram os espectros apresentados na Figura IV.12, soluções de tetraciclina em álcool benzílico de concentração inicial $1,0 \times 10^{-2} M$ apresentam diminuição no valor da absorbância associada ao pico de absorção máxima localizado em 360 nm. E, conforme mostra a Figura IV.14, este mesmo pico de absorção máxima, associado ao grupamento β -dicetona fenólica, pode mesmo desaparecer completamente se uma solução suficientemente diluída ($1,0 \times 10^{-4} M$) for submetida a uma dose de radiação gama de $6,4 \times 10^2$ MGy.

Sabendo que a mudança da posição de um pico de absorção máxima pode ser adotada como critério indicativo da formação de complexo⁽¹⁸⁾, pode-se estudar o comportamento de soluções aquosas de tetraciclina com relação à sua capacidade como agente complexante, examinando a mudança que a adição de cátions metálicos provoca no espectro das soluções aquosas de tetraciclina.

De acordo com o estudo espectrofotométrico que foi realizado no presente trabalho utilizando soluções aquosas de tetraciclina não-irradiadas mantidas em diferentes valores de pH e em ausência de íons metálicos (Figura IV.15), pode-se afirmar que não há variação na posição do pico de absorção máxima (360 nm) no intervalo de valores de pH que vai desde 2,00 até 6,80. A partir do valor de pH=6,80 a posição desse pico começa a variar.

O espectro de absorção obtido para uma solução aquosa de tetraciclina não-irradiada, contendo íons de európio (Figura IV.15) mostrou que até o valor de pH = 3,00 não há variação na formação do pico de absorção máxima da tetraciclina. A partir desse valor de pH, porém ainda em valores inferiores a 6,80, a posição do pico de absorção máxima variou, indicando a formação do complexo entre a tetraciclina e os íons de európio.

A observação feita no presente trabalho da variação na localização do pico de absorção máxima localizado em 360 nm provocada pela adição de íons de európio às soluções de tetraciclina (Figura IV.15) permite concluir que a complexação dos íons de európio pela tetraciclina se dá, pelo menos em parte, por meio do grupamento β -dicetona fenólica. De acordo com Nastasi e Lima⁽²⁸⁾ o grupamento β -dicetona fenólica é, pelo menos em parte, responsável pela formação de complexos entre a tetraciclina e íons lantanídeos. As medidas espectrofotométricas de soluções aquosas de tetraciclina em presença de íons de európio não foram realizadas para soluções de pH acima de 6,90 uma vez que a partir deste valor de pH foi observada a formação de um precipitado.

Na Figura IV.15, observa-se um pico de absorção máxima, também, em 275 nm, cuja posição varia pouco, ao aumentar o valor do pH da solução, para ambos os casos estudados, ou seja, soluções aquosas de tetraciclina em ausên

CAP.V

cia e em presença de íons de európio.

Vale salientar que nestes estudos realizados considerando o pico de absorção máxima, em 275 nm, não foi notada variação significativa na posição do pico de absorção ao comparar os espectros de soluções aquosas de tetraciclina em ausência e em presença de íons de európio, mas conforme mostra a Figura IV.16, observou-se uma variação na altura do pico de absorção ou seja, no valor da absorbância. De acordo com estudos realizados por Ishidate e Sakaguchi⁽¹⁸⁾ os quais estudaram a complexação de vários íons metálicos com clorotetraciclina, um dos critérios adotados por estes autores para afirmar se há ou não complexação, é a ocorrência de variação no valor da absorbância. Conforme mostra a Figura IV.16, foi observado no presente trabalho que à medida que o pH aumenta, fica maior a diferença entre os valores de absorbância correspondentes à solução de tetraciclina e à solução de tetraciclina em presença de íons de európio. Tomando como válido o critério adotado por Ishidate e Sakaguchi⁽¹⁸⁾, pode-se aventar a hipótese de que os íons de európio se estejam ligando à molécula de tetraciclina também na posição correspondente ao grupamento tricarbonilmetano que é o responsável pelo pico de absorção máxima localizado em 275 nm.

De acordo com Saiki e Lima⁽³⁶⁾, a complexação de íons metálicos com tetraciclina pode ocorrer também por

CAP.V

meio do grupamento tricarbonilmetano.

As medidas espectrofotométricas realizadas com as soluções aquosas de tetraciclina irradiadas, Figura IV.17, mostraram que não houve aparecimento do pico de absorção em toda a região de comprimentos de onda examinada (220 a 440 nm), em nenhum valor de pH considerado.

O desaparecimento de ambos os picos de absorção máxima da tetraciclina (Figura IV.17) pode ser tomado como uma indicação de que a radiação está induzindo modificações na molécula de tetraciclina, e de que estas modificações ocorrem exatamente nas posições da molécula correspondentes aos grupamentos que dão origem aos picos de absorção máxima.

Foi mostrado em trabalho anterior⁽²⁸⁾, realizado na Área de Radioquímica do IPEN, que uma solução de tetraciclina em álcool benzílico pode ser guardada para uso posterior sem que haja alteração em seu comportamento quanto à extração, pelo menos por um período de 18 dias após a sua preparação. Vale salientar que o álcool benzílico utilizado no trabalho mencionado acima, não era pré-saturado com água.

No presente trabalho, o álcool benzílico utilizado na preparação das soluções de tetraciclina era previamente saturado com água, por este motivo foi feito o estudo

para determinar por quanto tempo permanecem inalteradas as soluções irradiadas e não-irradiadas de tetraciclina, preparadas com álcool benzílico pré-saturado com água, no que diz respeito ao seu comportamento nos experimentos de extração.

Outro fato que deve ser considerado, é que no presente trabalho está sendo realizado o estudo do efeito da radiação gama sobre a molécula de tetraciclina e, para poder isolar os efeitos devidos aos diferentes fatores, radiação e tempo, é necessário saber se a variação observada na porcentagem de extração, é devida ao efeito do tempo decorrido após a preparação da solução, principalmente nos casos de irradiações longas, em que se pode ter decomposição devido ao tempo decorrido durante a própria irradiação. De acordo com os resultados obtidos e que estão apresentados na Tabela IV.7, pode-se afirmar que, para o caso da solução não-irradiada, pelo menos por um período de 15 dias após a sua preparação uma solução de concentração $1,0 \times 10^{-2} M$ de tetraciclina em álcool benzílico pré-saturado com água, mantém-se inalterada no que diz respeito ao seu comportamento nos experimentos de extração. Para o caso de soluções de tetraciclina preparadas com álcool benzílico pré-saturado com água e submetidas a doses de radiação gama de $6,4 \times 10^2$ e $77,0 \times 10^2$ MGy, pelo menos por um período de 8 e 3 dias, respectivamente, estas soluções permanecem inalteradas em relação ao comportamento da tetraciclina como agente extrator.

CAP.V

Portanto, pode-se concluir que, mantendo constante o valor do pH, a variação (diminuição) na porcentagem de extração observada quando foram usadas as soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas à ação da radiação (Figura IV.7), deve-se unicamente ao efeito da radiação gama sobre as soluções, não havendo efeito do tempo decorrido durante e nem após a irradiação, uma vez que todos os experimentos foram realizados logo após as irradiações.

Examinando as curvas de extração apresentadas na Figura IV.18 que mostram a variação da porcentagem de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu em função da variação do pH, observa-se que, para um mesmo valor de pH, os valores da porcentagem de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidos nas operações realizadas com soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy, com borbulhamento constante de oxigênio durante as irradiações, são maiores do que os obtidos no caso em que não houve borbulhamento de oxigênio durante as irradiações.

A comparação das curvas de extração referentes aos experimentos feitos com solução de tetraciclina não-irradiada e aos experimentos feitos com soluções submetidas a doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy ao ar atmosférico (Figura IV.18) mostra uma diminuição nos valores da porcentagem de extração provocado pela ação da radiação sobre as soluções. Na mesma Figura IV.18 observa-se que as curvas de extração

referentes aos experimentos realizados com soluções de tetraciclina irradiadas sob borbulhamento constante de oxigênio estão deslocadas para a esquerda (sentido de valores de pH mais baixos) com relação às curvas de extração obtidas nos experimentos de extração realizados com as soluções de tetraciclina irradiadas ao ar atmosférico. E, além disto, ambas as curvas de extração obtidas nos experimentos realizados com soluções de tetraciclina irradiadas (doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy) sob borbulhamento constante de oxigênio são coincidentes^(*) com a curva de extração referente aos experimentos realizados com a solução não-irradiada de tetraciclina.

Esta última observação permite concluir que o borbulhamento de oxigênio durante a irradiação da solução de tetraciclina em álcool benzílico provoca uma inibição do efeito deletério da radiação sobre a molécula de tetraciclina.

Para que se pudesse estudar, isoladamente, o efeito da ação da radiação gama e o efeito da ação do oxigênio sobre a molécula de tetraciclina, realizaram-se também os experimentos de extração em que foram usadas soluções não-irradiadas de tetraciclina em álcool benzílico que foram submetidas a borbulhamento constante de oxigênio durante pe

(*) Estatisticamente foi comprovada a coincidência entre estas curvas em um nível de significância de 0,05.

CAP.V

ríodos de tempo correspondentes à duração do borbulhamento de oxigênio na solução de tetraciclina quando submetida a doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy. Esses períodos de tempo são de 8 e 20 horas, respectivamente.

Conforme mostra a Figura IV.19, observa-se que não há variação no valor da porcentagem de extração quando a curva de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtida na operação realizada com solução não-irradiada de tetraciclina em álcool benzílico sem sofrer borbulhamento de oxigênio é comparada com aquelas obtidas nas operações realizadas com soluções não-irradiadas e submetidas a borbulhamento de oxigênio durante 8 e 20 horas. Tendo sido verificado estatisticamente que as retas ($\log D \times \text{pH}$) obtidas nos experimentos presentemente considerados (Figura IV.20) são coincidentes, pode-se concluir que não existe interação entre a molécula de tetraciclina e oxigênio em ausência da radiação

Depois de terem sido obtidos os resultados referentes aos experimentos de extração feitos com soluções de tetraciclina em álcool benzílico irradiadas, por um lado, ao ar atmosférico e, por outro lado, na presença de oxigênio, examinou-se, também, qual era o comportamento de extração das soluções irradiadas na ausência de oxigênio, mesmo o presente no ar atmosférico. Com esta finalidade realizaram-se os experimentos de extração em que foram usadas as soluções de tetraciclina em álcool benzílico irradiadas sob borbulhamento

CAP.V

to constante de nitrogênio.

Para ter certeza de que a operação de irradiação foi realizada em ausência de oxigênio, o borbulhamento da solução com nitrogênio foi iniciado antes de começar a operação de irradiação.

Com relação ao estudo do efeito do borbulhamento de nitrogênio durante a irradiação da solução de tetraciclina em álcool benzílico, a condição de coincidência entre as curvas de extração da Figura IV.21, que foi verificada estatisticamente por meio das retas que dão a variação do logaritmo da razão de distribuição em função do pH (Figura IV.22), permite concluir que o borbulhamento de nitrogênio durante a irradiação da solução de tetraciclina em álcool benzílico com uma dose de $6,4 \times 10^{-2}$ MGy, não influi no comportamento da tetraciclina como agente extrator. Por outro lado, pode-se afirmar que o oxigênio presente no ar atmosférico não influi na alteração do comportamento da solução quando submetida à radiação gama, uma vez que em atmosfera de nitrogênio e em presença de ar são idênticos os resultados referentes às operações de extração realizadas com soluções irradiadas (dose de $6,4 \times 10^{-2}$ MGy).

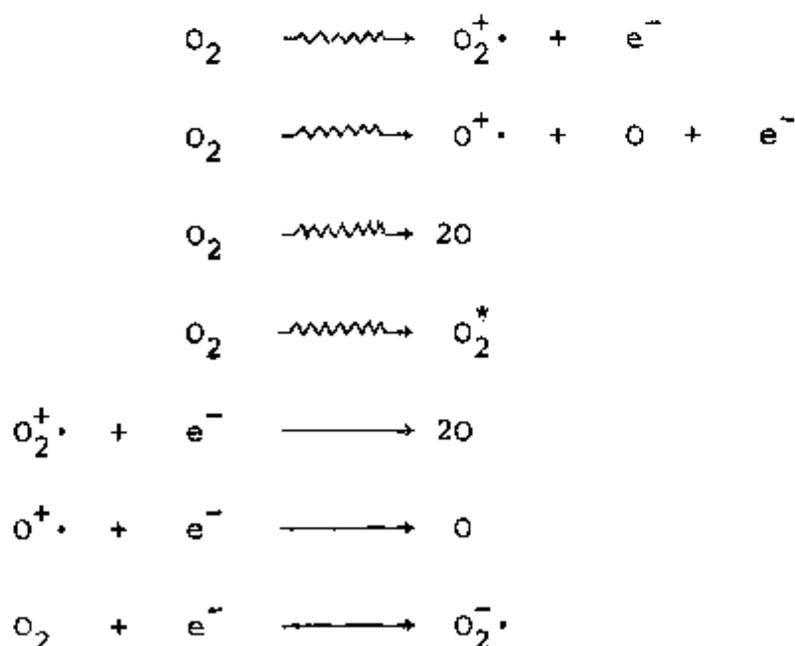
Algumas hipóteses podem ser levantadas para explicar a melhora observada no rendimento de extração (valores de porcentagem de extração mais elevados para um mesmo valor de pH)

CAP.V

no caso em que a operação de extração foi realizada com solução de tetraciclina em álcool benzílico irradiada sob borbulhamento constante de oxigênio, com relação ao caso em que a irradiação foi feita ao ar atmosférico (Figura IV.18).

A primeira destas hipóteses refere-se à possi**l**bilidade de ocorrer uma interação das espécies produzidas na radiólise do oxigênio com os elétrons provenientes da in**te**ração da radiação com o sistema irradiado. Possivelmente, tais elétrons tenham uma ação importante na radiólise da tetetraciclina dissolvida com álcool benzílico, afetando o seu comportamento como agente complexante e extrator.

Dziegielewski⁽¹²⁾, em um de seus trabalhos, afirma que a tetraciclina apresenta a capacidade de captar e létrons. Por outro lado, O'Donell e Sangster⁽³²⁾ propuseram um mecanismo para a radiólise do oxigênio que é o seguinte:



CAP.V

mostrando que o oxigênio forma radicais ativos capazes de captar elétrons.

Assim sendo, quando a solução de tetraciclina em álcool benzílico é irradiada com borbulhamento constante de oxigênio, poderiam ocorrer reações competitivas entre o oxigênio e a tetraciclina pelos elétrons.

Para confirmar se as alterações provocadas pela radiação gama na molécula de tetraciclina ocorrem ou não por meio da ação de elétrons, realizaram-se experimentos de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu usando soluções de tetraciclina em álcool benzílico irradiadas em presença de substâncias captadoras de elétrons. Assim sendo, ao adicionar um captador de elétrons à solução de tetraciclina, ele poderia captar os elétrons do meio, evitando que tais elétrons atuassem sobre a molécula de tetraciclina deixando-a, portanto, inalterada.

As curvas de extração apresentadas nas Figuras IV.23 e IV.24, obtidas nos experimentos realizados com soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas a doses de $1,6 \times 10^{-2}$ e $6,4 \times 10^{-2}$ MGy sendo a operação de irradiação realizada sob borbulhamento constante dos gases SF_6 e N_2O , que são captadores de elétrons, são coincidentes com aquelas obtidas nas operações de extração realizadas com soluções de tetraciclina em álcool benzílico submetidas às mesmas doses de radiação, porém, sem sofrer borbulhamento dos gases

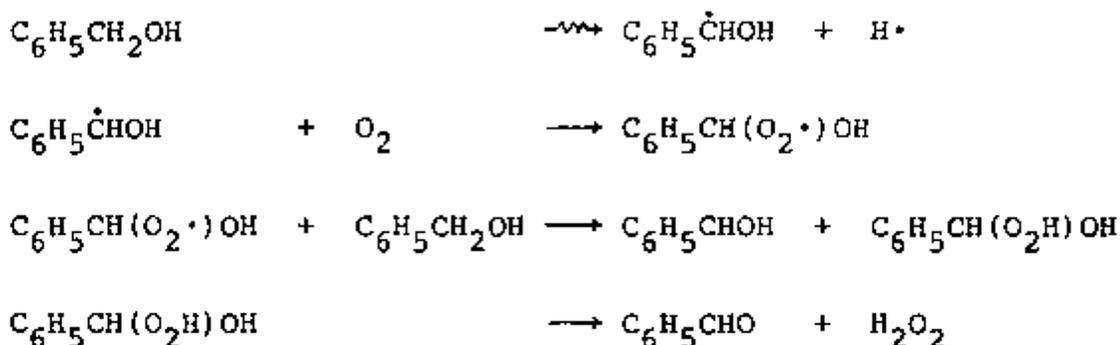
CAP.V

captadores de elétrons. Portanto, a partir dessa condição de coincidência, verificada estatisticamente, por meio das retas das Figuras IV.25 e IV.26, pode-se rejeitar a possibilidade de que a alteração da molécula de tetraciclina pela radição gama se dê mediante a ação dos elétrons sobre a molécula de tetraciclina, conforme uma das hipóteses inicialmente levantadas.

Uma outra hipótese que pode ser aventada para explicar o motivo pelo qual a presença (borbulhamento) de oxigênio durante a operação de irradiação da solução de tetraciclina em álcool benzílico, leva aos mesmos resultados de extração obtidos no caso em que a solução não é irradiada (o que leva a crer que a presença de oxigênio durante a irradiação evita que a radiação provoque alterações na molécula de tetraciclina), é que o oxigênio atue sobre as espécies reativas formadas pela ação da radiação gama sobre o álcool benzílico, que podem ser as prováveis responsáveis pelas alterações na molécula de tetraciclina.

Proskurnin e Barelko⁽³⁴⁾, propõem um mecanismo para a radiólise do álcool benzílico na presença de oxigênio, segundo o qual o oxigênio atua sobre o radical benzila que é uma das espécies reativas formadas, sendo o provãvel responsável pelas alterações da molécula de tetraciclina. Este mecanismo é o seguinte:

CAP.V



No caso do estudo presente, como a tetraciclina está em baixa concentração ($1,0 \times 10^{-2} \text{M}$), a substância que estaria sofrendo a ação da radiação gama com maior probabilidade seria o álcool benzílico, justamente por ser a substância que está presente em grande quantidade no sistema constituído por tetraciclina e álcool benzílico. Como o sistema em estudo contém oxigênio, proveniente do borbulhamento realizado durante a operação de irradiação, este poderia atuar sobre os radicais do álcool benzílico formados, impedindo sua interação com a molécula de tetraciclina e desta maneira a concentração inicial da solução utilizada permaneceria inalterada apresentando um comportamento, quanto à extração, similar ao caso em que ela não foi submetida à ação de radiação gama.

Em trabalho que está sendo realizado por outro integrante⁽¹⁵⁾ da Área de Radioquímica do IPEN, cujo objetivo é estudar o mecanismo da radiólise da tetraciclina, observou-se que a alteração causada pela radiação gama sobre a molécula de tetraciclina em álcool benzílico, deve-se, principalmente, à transferência de energia da radiação para a molé

CAP.V

cula de tetraciclina por meio da molécula do álcool benzílico. Assim sendo, as espécies reativas formadas pela ação da radiação gama sobre o álcool benzílico, seriam as responsáveis pelas alterações da molécula de tetraciclina, modificando, desta maneira, a sua ação como agente complexante e extrator, quando a solução de tetraciclina em álcool benzílico é irradiada na ausência de oxigênio. Entretanto, quando a irradiação é feita na presença de oxigênio a interação deste com os radicais benzila parece inibir ou mesmo impedir a interação destes radicais ativos com a molécula de tetraciclina sendo, assim, evitada sua alteração. Portanto, é bastante provável que seja verdadeira a hipótese aventada sobre o mecanismo que explica a inibição do efeito da radiação gama sobre a molécula da tetraciclina quando a irradiação é feita com borbulhamento de oxigênio.

Com os valores da Tabela IV.13 foi obtida a curva apresentada na Figura IV.27, que dá a variação da concentração da solução de tetraciclina transformada em função da variação da dose de radiação gama aplicada à solução de tetraciclina em álcool benzílico, mostrando que o rendimento relativo às transformações das moléculas de tetraciclina no grupamento β -dicetona fenólica, varia de forma não-linear com o aumento da dose de radiação gama diminuindo, gradualmente, com o aumento da dose de radiação a que a solução de tetraciclina em álcool benzílico é submetida.

CAP.V

Pode-se associar este comportamento da solução de tetraciclina em álcool benzílico, apresentado na Figura IV.27, com o fato observado experimentalmente e apresentado na Figura IV.7 que mostra serem coincidentes (condição confirmada estatisticamente) as curvas de extração do ^{152}Eu - ^{154}Eu obtidas para os sistemas de extração em que foram usadas soluções de mesma concentração inicial ($1,0 \times 10^{-2} \text{M}$) submetidas a doses de radiação gama de $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy.

Em outras palavras pode-se dizer que a extensão do dano (no grupamento β -dicetona fenólica) provocado pela radiação gama na solução de tetraciclina em álcool benzílico (concentração inicial $1,0 \times 10^{-2} \text{M}$) é da mesma magnitude, quando tal solução é submetida às doses de $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy.

Os valores das concentrações das soluções de tetraciclina não-transformada, conforme calculados pela técnica espectrofotométrica são de $0,75 \times 10^{-2}$ e $0,72 \times 10^{-2} \text{M}$ para as soluções de tetraciclina em álcool benzílico depois de submetidas às doses de $44,4 \times 10^{-2}$ e $77,0 \times 10^{-2}$ MGy, respectivamente.

APÊNDICE ITESTES ESTATÍSTICOS PARA VERIFICAR AS CONDIÇÕES DE PARALELISMO E COINCIDÊNCIA DE DUAS RETAS.

Os testes estatísticos usados para examinar as condições de paralelismo e coincidência somente permitem a comparação de retas duas a duas.

Para as retas cujas equações são:

$$Y_1 = a_1 + b_1x \quad (n_1 \text{ pontos})$$

$$Y_2 = a_2 + b_2x \quad (n_2 \text{ pontos})$$

foram calculados os valores de: x_i^2 , y_i^2 , \bar{x} , \bar{y} , $x_i - \bar{x}$, $(x_i - \bar{x})^2$, Σx_i^2 , Σy_i^2 , $\Sigma (x_i - \bar{x})^2$, $(\Sigma x_i)^2$ e $(\Sigma y_i)^2$, que serão usados no decorrer da aplicação dos testes, sendo:

Y_1 = valor de y_1 achado pela regressão linear para a primeira reta.

Y_2 = valor de y_2 achado pela regressão linear para a segunda reta.

x_i = valores de x para $i = 1 \dots n_1$ para a primeira reta e $i = 1 \dots n_2$ para a segunda reta.

y_i = valores de y para $i = 1 \dots n_1$ para a primeira reta e $i = 1 \dots n_2$ para a segunda reta.

AP. I

n_1 = número de pontos da primeira reta.

n_2 = número de pontos da segunda reta.

a_1 = valor da intersecção da primeira reta com o eixo das ordenadas.

a_2 = valor da intersecção da segunda reta com o eixo das ordenadas.

b_1 = coeficiente angular da primeira reta.

b_2 = coeficiente angular da segunda reta.

\bar{x} = média dos valores de x_i .

\bar{y} = média dos valores de y_i .

I.1.- Teste Estatístico Para Verificar a Condição de Paralelismo Entre Duas Retas.

A aplicação deste teste consiste dos seguintes passos; nos quais foram omitidos os índices:

a.- Calcula-se o coeficiente angular b para cada reta pela expressão (1):

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad (1)$$

b.- Calcula-se a variância S_0^2 para cada reta, pela expressão (2):

$$S_0^2 = \frac{1}{n-2} (\sum y^2 - \bar{y} \sum y - b(\sum xy - \bar{x} \sum y)) \quad (2)$$

AP.I

c.- Comparam-se as variâncias S_{O1}^2 e S_{O2}^2 pelo teste F:

$$F_{\text{exp}} = S_{O2}^2 / S_{O1}^2 \quad (3)$$

Se $F_{\text{tab}} > F_{\text{exp}}$ admite-se que as variâncias são iguais, sendo assim, calcula-se a variância média pela equação (4):

$$\bar{S}_O^2 = \frac{(n_1 - 2)S_{O1}^2 + (n_2 - 2)S_{O2}^2}{n_1 + n_2 - 4} \quad (4)$$

que tem $(n_1 + n_2 - 4)$ graus de liberdade.

d.- Calcula-se a variância da diferença entre os dois coeficientes angulares que é dada pela expressão (5):

$$S_{(b_1-b_2)}^2 = \frac{S_{O1}^2}{\Sigma(x_1 - \bar{x}_1)^2} + \frac{S_{O1}^2}{\Sigma(x_2 - \bar{x}_2)^2} \quad (5)$$

Como por hipótese S_{O1}^2 e S_{O2}^2 são estatisticamente iguais, obtem-se a expressão (6):

$$S_{(b_1-b_2)}^2 = \bar{S}_O^2 \left(\frac{1}{\Sigma(x_1 - \bar{x}_1)^2} + \frac{1}{\Sigma(x_2 - \bar{x}_2)^2} \right) \quad (6)$$

e.- Aplica-se o teste "t" à diferença entre os coeficientes angulares e tem-se a expressão (7):

$$t = \frac{|b_1 - b_2|}{S_{(b_1-b_2)}} \quad (7)$$

com $f = n_1 + n_2 - 4$ graus de liberdade.

AP. I

Se o valor de $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$, num nível de significância convenientemente escolhido, "p", os coeficientes angulares, são iguais, isto é, as retas são paralelas.

1.2.- Teste Estatístico Para Verificar a Condição de Coincidência de Duas Retas.

Tendo sido mostrado que os coeficientes angulares " b_1 " e " b_2 " são estatisticamente iguais (condição de paralelismo), deve-se verificar se os parâmetros " a_1 " e " a_2 " também são estatisticamente iguais para comprovar a condição de coincidência.

Sejam duas retas representadas pelas equações:

$$y_1 = a_1 + b_1 x_1$$

$$y_2 = a_2 + b_2 x_2$$

válidas para todos os pontos (x_i, y_i) das retas e também para o ponto médio. Assim a condição $a_1 = a_2$ é preenchida quando verifica-se a igualdade:

$$\bar{y}_1 - b_1 \bar{x}_1 = \bar{y}_2 - b_2 \bar{x}_2$$

Os valores de "x" referentes a ambas as retas devem ser diferentes para poder aplicar este tipo de teste. A aplicação deste teste consiste dos seguintes passos; nos quais foram omitidos os índices:

AP. I

a.- Desde que a igualdade, $b_1 = b_2$, tenha sido mostrada, pode-se calcular, como estimativa do coeficiente angular de todos os pontos, um valor médio dos coeficientes angulares que é dado pela relação (8):

$$\hat{b} = \frac{\bar{y}_1 - \bar{y}_2}{\bar{x}_1 - \bar{x}_2} \quad (8)$$

O valor \hat{b} pode ser interpretado como o coeficiente angular de uma reta "R" que passa pelos pontos médios (\bar{x}_1, \bar{y}_1) de R_1 (reta 1) e (\bar{x}_2, \bar{y}_2) de R_2 (reta 2).

b.- Calcula-se também o valor médio "B" obtendo a média ponderada dos coeficientes angulares " b_1 " e " b_2 " das duas retas, usando como pesos os valores recíprocos das respectivas variâncias, usando-se para tal a expressão (9):

$$\bar{B} = \frac{b_1 (\Sigma(x_1 - \bar{x}_1)^2) / s_{o1}^2 + b_2 (\Sigma(x_2 - \bar{x}_2)^2) / s_{o2}^2}{\Sigma(x_1 - \bar{x}_1)^2 / s_{o1}^2 + \Sigma(x_2 - \bar{x}_2)^2 / s_{o2}^2} \quad (9)$$

A estimativa de "B" baseia-se somente no paralelismo das duas retas, enquanto que " \hat{b} " admite a coincidência das duas retas. A comparação dessas duas estimativas permite testar a hipótese de coincidência.

c.- Calcula-se a variância da média ponderada, "B", dos coeficientes angulares " b_1 " e " b_2 ", quando s_{o1}^2 e s_{o2}^2 são estatisticamente iguais, pela expressão (10):

$$s_{\bar{B}}^2 = \frac{\bar{s}_o^2}{\Sigma(x_1 - \bar{x}_1)^2 + \Sigma(x_2 - \bar{x}_2)^2} \quad (10)$$

AP. I

d.- Sendo $S_{O1}^2 = S_{O2}^2$, calcula-se S_b^2 pela expressão (11):

$$s_b^2 = \frac{\bar{S}_o^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2} \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2} \quad (11)$$

e.- Calcula-se a variância do termo $(\hat{b} - \bar{b})$ que corresponde a soma das variâncias de \hat{b} e de \bar{b} , pela expressão (12):

$$s_{\hat{b} - \bar{b}}^2 = s_{\hat{b}}^2 + s_{\bar{b}}^2 \quad (12)$$

f.- Quando S_{O1}^2 e S_{O2}^2 forem estatisticamente iguais, a coincidência das duas retas é testada pelo valor de "t" achado pela expressão (13):

$$t = \frac{|\hat{b} - \bar{b}|}{s_{\hat{b} - \bar{b}}} \quad (13)$$

com $f = n_1 + n_2 - 4$ graus de liberdade. Se $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$, aceita-se a condição de coincidência das duas retas.

Os valores de F_{tab} e t_{tab} foram obtidos nas tabelas apresentadas por Nalimov⁽²⁷⁾.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) ALBERT, A. Avidity of terramycin and aureomycin for metallic cations. Nature, 172:201, 1953.
- 2) ALBERT, A. & REES, C.W. Avidity of tetracycline for the cations of metals. Nature, 177:433-4, 1956.
- 3) BAKER, Jr., W.A. & BROWN, P.M. Metal binding in tetracyclines. Cobalt(II) and nickel(II) complexes. J. Am. Chem. Soc., 88:1314-7, 1966.
- 4) BENET, L.J. & GOYAN, J.E. Determination of the stability constants of tetracycline complexes. J. Pharm. Sci., 54: 983-7, 1965.
- 5) CAIRA, M.R.; FAZAKERLEY, G.V.; LINDER, P.W.; MASSIMBENI, L.R. Complexation of gold(III) by tetracycline. Inorg. Nucl. Chem. Lett., 9:25-9, 1973.
- 6) CASWELL, A.H. & HUTCHISON, J.D. Selectivity of cation chelation to tetracyclines: evidence for special conformation of calcium chelate. Biochem. Biophys. Res. Comm., 43:625-30, 1971.
- 7) CONOVER, L.H. Antibiotics and mould metabolitics, symposium on... London, Chemical Society, 1956. p.48-81 (special publication, 5).
- 8) DOLUISIO, J.T. & MARTIN, A.N. Metal complexation of the tetracycline hydrochlorides. J. Med. Chem., 6:16-20, 1963.

- 9) DZIEGIELEWSKI, J.; JEZOWSKA-TRZEBIATOWSKA, B.; KALECINSKA, E.; KALECINSKI, J.; NAWOJSKA, J. Gamma-radiolysis of 6-aminopenicillanic acid and its derivatives. Nukleonika, 18:513-23, 1973.
- 10) DZIEGIELEWSKI, J.; KALECINSKA, E.; JEZOWSKA-TRZEBIATOWSKA, B.; KALECINSKI, J.; NAWOJSKA, J. Gamma radiolysis of tetracyclines in the solid state. Nukleonika, 23:209-19, 1978.
- 11) DZIEGIELEWSKI, J.; KALECINSKA, E.; KADUK-JAWORSKA, J.; KALECINSKI, J.; NAWOJSKA, J. Radiation and chemical processes resulting from gamma radiation in erythromycin and some of its derivatives. Nukleonika, 21:1059-74, 1976.
- 12) DZIEGIELEWSKI, J.O. Gamma radiolysis of tetracycline in solutions, I. Basic chemical processes resulting from gamma irradiation in aqueous and methanolic tetracycline hydrochloride solutions. Bull. Acad. Pol. Sci. Sér. Sci. Chim., 25:131-42, 1977.
- 13) DZIEGIELEWSKI, J.O. γ -Radiation decomposition yields in dehydrated and hydrated aminobenzylpenicillin, and basic radiation chemical processes. Int. J. Radiat. Phys. Chem., 7:507-18, 1975.
- 14) DZIEGIELEWSKI, J.O. & GLOWACKI, P. Reactivities of tetracycline and oxytetracycline with OH radicals. Radiochem. Radioanal. Lett., 51:347-54, 1982.
- 15) GUEDES, S.M.L. Comunicação pessoal.

- 16) HOLLAND, J.; ANTONI, F.; GALATZEANU, J.; SCHULMAN, M.; KOZINETZ, C.J. Effect of gamma irradiation (^{60}Co) on the tetracyclines. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiosterilization of medical products proceed. of the symposium, held in Budapest 5-9 June 1967. Vienna, 1967. p.69-81. (Together IAEA recommended code of practice for radiosterilization of medical products).
- 17) IBSEN, K.H. & URIST, M.R. Complexes of calcium and magnesium with oxytetracycline. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 109: 797-801, 1962.
- 18) ISHIDATE, M. & SAKAGUCHI, T. Metal chelate compounds of tetracycline derivatives. I. Aureomycin. Pharm. Bull., 3:147-55, 1955.
- 19) JACOBS, G.P. The sterilization of tetracycline hydrochloride by γ -rays. Pharm. Acta. Helv., 52:302-4, 1977.
- 20) JEZOWSKA-TRZEBIATOWSKA, B.; DZIEGIELEWSKI, J.; KUDUK-JAWORSKA, J.; KALECINSKA, E.; KALECINSKI, J.; NAWOJSKA, J. Radiation and chemical processes occurring in vionycin sulphate under the influence of gamma radiation. Nukleonika, 20:247-61, 1975.
- 21) JOGUN, K.H. & STEZOWSKI, J.J. Chemical structural properties of tetracycline derivatives.2 Coordination and conformational aspects of oxytetracycline metal ion complexation. J. Am. Chem. Soc., 98:6018-26, 1976.
- 22) LEESON, L.J.; KRUEGER, J.E.; NASH, R.A. Concerning the

structural assignment of the second and third acidity constants of the tetracycline antibiotics. Tetrahedron, 18:1155-60, 1963.

- 23) LANGE, N.A. Handbook of chemistry. New York, McGraw Hill, 1961. p.951-2.
- 24) MASTERS, L.W. The application of the antibiotic tetracycline to chemical separations. Activation analysis section 1968-69. s.l.; s.d. p.115-31. (NBS-Technical note-508).
- 25) MASTERS, L.W. The separation and determination of strontium-90 in environmental samples using tetracycline. Washington D.C., 1968. (Dissertation American University) apud MASTERS, L. W. The application of the antibiotic tetracycline to chemical separations. Activation analysis section 1968-69. s.l.; s.d. p.115-31. (NBS-Technical note-508).
- 26) MAXWELL, D.C.; SMITH, P.J.A.; WILFORD, S.P. Stabilities of some alkaline earth chelates of tetracycline. Nature, 198:577-8, 1963.
- 27) NALIMOV, V.V. The application of mathematical statistics to chemical analysis. New York, Addison-Wesley, 1963.
- 28) NASTASI, M.J.C. & LIMA, F.W. Complex formation between rare earth elements and tetracycline. Radiochem. Radioanal. Lett., 11:69-76, 1972.
- 29) NASTASI, M.J.C. & LIMA, F.W. Solvent extraction of the lanthanide elements, scandium, uranium and thorium using tetracycline as complexing agent. J. Radioanal. Chem.,

- 35:289-301, 1977.
- 30) NASTASI, M.J.C. & LIMA, F.W. Solvent extraction studies using tetracycline as a complexing agent. Part 5. Extraction of neptunium and separation from uranium. Radiochem. Radioanal. Lett., 29:61-6, 1977.
- 31) NEWMAN, E.C. & FRANK, C.W. Circular dichroism spectra of tetracycline complexes with Mg^{+2} and Ca^{+2} . J. Pharmac. Sci., 65:1728-32, 1976.
- 32) O'DONNELL, J.H. & SANGSTER, D.F. Principles of radiation chemistry. London, Edward Arnold, 1970.
- 33) PHILLIPS, G.O.; POWER, D.M.; ROBINSON, C. Chemical changes following γ -irradiation of benzylpenicillin in aqueous solution. J. Chem. Soc. Perkin. Trans. II, 575-82, 1973.
- 34) PROSKURNIN, M.A. & BARELKO, E.V. Reported by BACH, N., proceeding International conference peaceful uses of atomic energy, United Nations, New York 7:538, 1956 apud SPINKS, J.W.T. & WOODS, R.J. An introduction to radiation chemistry. New York, John Wiley, 1964. p.370.
- 35) SAKAGUCHI, T.; TAGUCHI, K.; FUKUSHIMA, S.; OBI, N. Metal chelate compounds of tetracycline derivatives. Behavior of separated metal chelate compounds chlorotetracycline and oxytetracycline. Yakugaku Zasshi, 78:177-82, 1958 apud Chem. Abstr. 52:10990c, 1958.
- 36) SAIKI, M. & LIMA, F.W. Determination of the stability constants for the complexes of rare earth elements and tetracycline. J. Radioanal. Chem., 36:435-50, 1977.

- 37) SAIKI, M. & LIMA, F.W. Solvent extraction studies using tetracycline as a complexing agent. Part 6. Separation of uranium and thorium with DTPA as a masking agent. Radiochem. Radioanal. Lett., 29:67-72, 1977.
- 38) SAIKI, M. & LIMA, F.W. Solvent extraction studies using tetracycline as complexing agent. Part 7. Separation of uranium from scandium and rare earths with ethylenediaminetetraacetic acid as masking agent. Radiochem. Radioanal. Lett., 30:1-6, 1977.
- 39) SAIKI, M. & LIMA, F.W. Solvent extraction studies using tetracycline as complexing agent. Part 8. Separation of Se, Br, Mo, Sb, Ba, Ta, W, Au and Hg from uranium. Radiochem. Radioanal. Lett., 35:53-62, 1978.
- 40) SAIKI, M. & LIMA, F.W. Solvent extraction studies using tetracycline as complexing agent. Part 9. Separation of scandium from zinc. Radiochem. Radioanal. Lett., 35:63-6, 1978.
- 41) SAIKI, M. & LIMA, F.W. Solvent extraction studies using tetracycline as a complexing agent. Part 10. Determination of the stability constants for the complexes of thorium and tetracycline. J. Radioanal. Chem., 50:77-90, 1979.
- 42) SAIKI, M. & LIMA, F.W. Solvent extraction studies using tetracycline as a complexing agent. Part 11. Extraction of protactinium. Separation of ^{233}U from ^{233}Pa and thorium. Separation of ^{233}Pa from thorium. Radiochem. Radioanal. Lett., 48:61-70, 1981.

- 43) SARGENT, F.P. & GARDY, E.M. Direct observation of the radicals formed in the radiolysis of liquid benzyl alcohol. An electron spin resonance and spin trapping method. Can. J. Chem., 53:3128-32, 1975.
- 44) SILVA, J.J.R.F. & DIAS, M.H.M. Metal complexes of tetracyclines I. Complexes with alkaline-earth and transition metal ions. Rev. Port. Quim., 14:159-69, 1972.
- 45) SPINKS, J.W.T. & WOODS, R.J. An introduction to radiation chemistry. New York, John Wiley, 1964.
- 46) STEPHENS, C.R.; MURAI, K.; BRUNINGS, K.J.; WOODWARD, R.B. Acidity constants of the tetracycline antibiotics. J. Am. Chem. Soc., 78:4155-8, 1956.
- 47) WILLIAMSON, D.E. & EVERETT, Jr., G.W. A proton nuclear magnetic resonance study of the site of metal binding in tetracycline. J. Am. Chem. Soc., 97:2397-405, 1975.