

3 Parte experimental

3.1. Equipamentos

As medições instrumentais foram realizadas em dois distintos espectrômetros de absorção atômica: um modelo Zeenit 60 (Analytik Jena, Jena, Alemanha), com sistema de atomização em forno de grafite, com aquecimento transversal, equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman, ao qual estava acoplado um amostrador automático AS-52; o outro, um modelo de fonte contínua ContrAA 300 (Analytik Jena), com sistema de atomização em chama, equipado com uma lâmpada de xenônio de arco curto como fonte contínua, um monocromador duplo de alta resolução e transdutor CCD.

No caso do equipamento com fonte de linhas, foi utilizada como fonte de radiação uma lâmpada de cátodo oco de Pt (Analytik Jena), operando com uma corrente de 10mA. O comprimento de onda escolhido foi de 265,9 nm, por ser a linha mais sensível para Pt, e a largura da fenda foi de 0,2 nm. Foram utilizados tubos de grafite revestidos piroliticamente com plataformas de L'vov de grafite totalmente pirolíticas (Analytik Jena). Como gás de purga e proteção, Ar 99,9% (Linde, Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado. No pipetador automático, para lavagem, foi utilizada uma solução 0,1% v/v de Triton X-100 (Merck, Darmstadt, Alemanha). A leitura deu-se sempre em absorvância integrada (área de pico) e os resultados apresentados foram a média de pelo menos três medições. Os cálculos estatísticos foram realizados com o auxílio do software STATISTICA 7.0.

No equipamento de fonte contínua, também foram escolhidos comprimento de onda de 265,9 nm e fenda de 0,2 nm. A chama utilizada foi a de ar/acetileno, como recomendado pelo fabricante. O tempo de leitura foi de 10s.

A digestão das amostras foi realizada em tubos de Teflon[®], utilizando-se um sistema fechado de alta pressão, com aquecimento por microondas (Provecto Analítica, São Paulo, Brasil).

Para determinação de creatinina em urina, foi utilizado um kit (Kovalent, São Gonçalo, Brasil) para o preparo da curva de calibração e das amostras; as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Visível (Camspec, UK).

3.2. Soluções, Reagente e Materiais

As soluções foram preparadas a partir de reagentes de alta pureza e água ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$). Esta foi previamente destilada e deionizada, com a ultrapurificação sendo realizada em um sistema Milli Q (Millipore, Bedford, MA, USA) ou em sistema modelo Máster System (Gehaka, São Paulo, Brasil).

As soluções de calibração foram obtidas por diluições adequadas de uma solução padrão de 1000 mg L^{-1} de Pt (Merck, Darmstadt, Alemanha) em meio aquoso, obtida a partir de uma ampola Titrisol diluída com HNO_3 0,2% v/v.

Soluções estoque farmacêuticas de cisplatina 500 mg L^{-1} e carboplatina 10000 mg L^{-1} doadas pela Quiral Química do Brasil também foram utilizadas.

Para os diferentes estudos realizados, ácidos nítrico e clorídrico (ambos PA, Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram subdestilados em subdestilador de quartzo (Hans Kuerner, Rosenheim, Alemanha). Triton X-100 (Merck, Darmstadt, Alemanha) foi também utilizado.

Foram utilizadas amostras de urina de indivíduos que não foram sujeitos ao tratamento à base de drogas de platina assim como amostras de urina de um paciente sob tratamento quimioterápico com cisplatina.

Para o pré-tratamento das amostras, assim como para a preparação e estocagem das soluções de calibração foram utilizados tubos de polietileno (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha), de 15 e 50 mL, de fundo cônico e tampa de rosca.