



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia
Programa de Pós Graduação em Química - Mestrado



AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO AGENTE ANTINEOPLÁSICO MITOXANTRONA POR PROCESSOS H_2O_2 /UV, FOTO-FENTON E FOTO-FENTON SOLAR

Rodrigo Pereira Cavalcante

Orientador: Prof. Dr. Valdir Souza Ferreira
Coorientadora: Profa. Dra. Marly Eiko Osugi

Campo Grande-2012



AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO AGENTE ANTINEOPLÁSICO MITOXANTRONA POR PROCESSOS H_2O_2 /UV, FOTO-FENTON E FOTO-FENTON SOLAR

Rodrigo Pereira Cavalcante

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Mestrado – da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Mestre em Química (área de concentração: Físico-Química).

Orientador: Prof. Dr. Valdir Souza Ferreira
Coorientadora: Profa. Dra. Marly Eiko Osugi



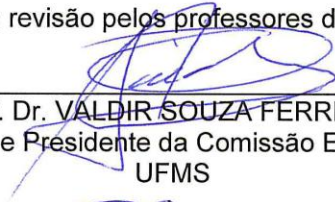
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL DE MESTRADO EM QUÍMICA

**TERMO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO
DE
RODRIGO PEREIRA CAVALCANTE**

**AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO AGENTE ANTINEOPLÁSICO MITOXANTRONA
POR PROCESSOS FOTO-FENTON O**

Dissertação de Mestrado em Química submetida à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação – Nível de Mestrado em Química (**Resolução nº 10/2012**) da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Química.

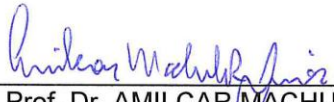
Aprovada com revisão pelos professores doutores:



Prof. Dr. VALDIR SOUZA FERREIRA
Orientador e Presidente da Comissão Examinadora
UFMS



Prof. Dr. RENATO SANCHES FREIRE
USP



Prof. Dr. AMILCAR MACHULEK JUNIOR
UFMS

Campo Grande, 29 de fevereiro de 2012.

Dedico este trabalho a minha mãe Lúcia e ao meu pai Benoni por ter me proporcionado tudo que precisei, e pelo grandioso amor, afeto, carinho que me dão e que tenho comigo sempre, a cada momento da minha vida e pela confiança que depositaram em mim em acreditar que eu seria capaz de vencer. Por apesar de todas as dificuldades, não pensaram em outra hipótese a não ser me proporcionar à opção de estudo! Tudo o que sou e tenho devo a vocês. Meu eterno agradecimento. E a minha irmã Patrícia que amo muito.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e a Nossa Senhora da Saúde por te me protegido, me guiado e pelo dom da inteligência.

A minha mãe, pai e irmã por estar sempre ao meu lado e por ter acreditado no meu potencial. E também aos meus familiares pelo apoio e incentivo que depositam e depositaram em mim e por sempre acreditarem que meus sonhos eram possíveis mesmo quando as dificuldades teimavam em aparecer. Agradeço aos meus avós Ana, Dina e Zé Valdo, e em especial ao meu avô Barnabé (*in memoriam*) pela admiração que sempre tive e pelo exemplo de pessoa que jamais será esquecido.

Ao professor Dr. Valdir Souza Ferreira, por ter acreditado em mim e me acolhido como seu orientando, pelos ensinamentos, confiança e amizade, a minha admiração e apreço.

A Dra. Marly Eiko Osugi, minha coorientadora e grande amiga, por dedicar seu tempo e paciência para me orientar, pela compreensão das minhas dificuldades, pela confiança que depositou em mim. Por ter lutado ao meu lado e me apoiado nos momentos difíceis durante o período deste trabalho. Por tudo que fez e faz por mim, eu sempre serei grato.

Aos professores Dr. Amílcar Machulek Junior, Dra. Matildes Blanco, e Dr. Silvio César de Oliveira pela amizade, dicas, ensinamentos e por terem me ajudado na realização deste trabalho. E a todos os demais professores por colaborarem na minha formação profissional.

Aos meus grandes amigos, Ricardo, Juliana Jorge e Luna, que juntamente comigo formamos “o quarteto”, onde construímos uma amizade que jamais será esquecida, que tornou estes dois anos algo inesquecível, e que nossa amizade se prossiga por muitos e muitos anos.

Aos meus amigos do laboratório e aos amigos de uma forma em geral que convivi durante esses dois anos pela companhia, ajuda e descontrações, cito: Vanessa, Dayana, Ana Paula Pereira, Joseane, Ana Paula Floriano, Silvana, Fábio Gozzi, Diego, Robson, Jéssica, Lucas Melo, Thiago, Everton, Roberto “Tico”, e aos demais que integram este grupo de pesquisa, do LP5 e do LP4.

Aos meus amigos do condomínio pelos churrascos, conversas, jogos de uno e amizade.

Ao Lucas Rocha Sandim pela amizade e ajuda nos experimentos para realização deste trabalho.

Aos meus amigos que conquistei durante esses anos especialmente, Rodrigo Tadeu, Daiane Santana, Gustavo, Suely, Diogo, Máira, Bia, Vanessa Mayumi, e a todos meus amigos de Dourados que não poderia deixar de agradecer especialmente, Vanessa, Keila, Glaucia, Fernando, Paula, Tiago, Saule, Jéssica, Roseli, Rosalia, Ronaldo e Luiz pelas conversas via msn, face e encontros sempre que possível.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Cepa Matos e a Danielle Bogo pela realização dos testes de toxicidade das amostras de degradação.

Ao Antônio Marcos/LACEN-MS pelas realizações das análises cromatográficas.

Ao Hospital Regional de Campo Grande pelo fornecimento do medicamento antineoplásico para realização desta pesquisa.

À Universidade Federal de Mato grosso do Sul e ao programa de Pós-Graduação em Química e à todos os funcionários que colaboraram direta e indiretamente na realização deste trabalho, especialmente aos secretários da pós Celestino e Edemar e aos técnicos Hebert e Márcia.

À CAPES pela oportunidade de realização desta pesquisa.

À todos que confiaram em mim, meus sinceros agradecimentos.

Rodrigo Pereira Cavalcante

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento faz com que elas se sintam humildes.”

Leonardo da Vinci

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

Ayrton Senna

SUMÁRIO

RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Medicamentos antineoplásicos: risco à saúde e ao meio ambiente	1
1.2. Processos Oxidativos Avançados (POAs)	5
1.2.1. Processos Homogêneos	5
1.2.1.1. O Processo foto-Fenton	6
1.2.1.2. Processos UV e H ₂ O ₂ /UV	11
1.2.2. Aplicação de POAs na remoção de agentes antineoplásicos	12
1.3. Testes de toxicidade	15
1.4. Mitoxantrona (MTO)	16
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivos específicos	19
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
3.1. Degradação	20
3.1.1. Preparo das soluções do medicamento MTO	20
3.1.2. Síntese do complexo de ferrioxalato de potássio (K ₃ Fe(C ₂ O ₄) ₃ .3H ₂ O)	20
3.1.3. Ensaio de degradação utilizando sistema com lâmpada UV	20
3.1.3.1. Montagem Experimental	20
3.1.3.2. Experimentos de Degradação	21
3.1.4. Ensaio de degradação utilizando sistema com radiação solar	22
3.1.5. Análise dos produtos de degradação	23
3.1.5.1. Carbono orgânico total (COT)	23
3.1.5.2. Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível	23
3.1.5.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	23
3.1.5.4. Avaliação da citotoxicidade	24
3.2. Interação da MTO com ferro	25
3.2.1. Análises Voltamétricas	25
3.2.2. Análises Espectrofotométricas	25
3.3. Experimento de Actinometria	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. Actinometria	27
4.2. Monitoramento dos experimentos de degradação	28
4.3. Processo foto-Fenton: Influência da fonte de ferro	32
4.3.1. Estudos iniciais	32
4.3.2. Análises voltamétricas: interação MTO-Fe	33
4.3.3. Análises espectrofotométricas: interação MTO-Fe	37
4.3.4. Degradação do medicamento antineoplásico MTO: influência da fonte de ferro	40
4.3.5. Degradação do medicamento antineoplásico MTO: influência da radiação solar	50
4.4. Processo UV e H ₂ O ₂ /UV	55
4.5. Comparação dos processos	61
4.6. Avaliação da citotoxicidade da MTO e dos produtos de degradação	62
5. CONCLUSÃO	64
6. REFERÊNCIAS	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Especificação de algumas espécies de Fe(III) hidrolisado em função do pH. As águas de hidratação foram omitidas da figura, por exemplo, $\text{Fe}^{3+} = [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ (Pignatello et al., 2006)	8
Figura 1.2: Estrutura Molecular da MTO	17
Figura 3.1: Fotografias: A) Reator e tubo de quartzo, B) Sistema encamisado com tubo de PVC e C) Lâmpada posicionada no reator	21
Figura 3.2: Fotografia do sistema de coleta de amostra	21
Figura 4.1: Taxa de formação de Fe(II) produzido pela fotólise (lâmpada de vapor de mercúrio 125 W) de uma solução de ferrioxalato de potássio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$	28
Figura 4.2: Espectro de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L^{-1}	29
Figura 4.3: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L^{-1} preparadas em soluções com diferentes valores de pH	30
Figura 4.4: Cromatogramas da MTO nas seguintes concentrações: 10; 5; 2,5; 1,25; 0,63; 0,31; 0,16 mg L^{-1} . Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio ($0,2 \text{ mol.L}^{-1}$, $\text{pH}=4,00$):acetonitrila (75:25), vazão de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e detecção em 658 nm	31
Figura 4.5: Curva analítica para determinação da MTO. Condições cromatográficas: fase móvel: acetato de amônio ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=4,00$):acetonitrila (75:25), vazão de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e detecção em 658 nm	31
Figura 4.6: Voltamograma de pulso diferencial para MTO $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR de $\text{pH } 3,00$ sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV ; velocidade de varredura 2 mV s^{-1}	33
Figura 4.7: Voltamogramas de pulso diferencial para MTO $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR ($\text{pH } 3,00$), com adição de $0,7 \text{ mmol L}^{-1}$ de Fe(III) e Fe(II) sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV ; velocidade de varredura 2 mV s^{-1}	35
Figura 4.8: Voltamogramas de pulso diferencial para MTO $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR ($\text{pH } 3,00$), com diferentes concentrações de Fe(III), sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV ; velocidade de varredura 2 mV s^{-1}	36
Figura 4.9: Dependência da corrente de pico em função da concentração de Fe(III) para voltamogramas de pulso diferencial da oxidação da MTO $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR ($\text{pH } 3,00$), sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV ; velocidade de varredura 2 mV s^{-1}	37
Figura 4.10: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L^{-1} e após adição de $0,27 \text{ mmol L}^{-1}$ de fonte de ferro	38
Figura 4.11: Espectros de absorção na região UV-Vis da titulação da MTO $38,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($\text{pH } 3,00$), com adições sucessivas de Fe(III): a) MTO; b) $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; c) $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ d) $7,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; e) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; f) $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; g) $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; h) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; i) $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; j) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; k) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; l) $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; m) $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; n) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	39
Figura 4.12: Dependência da absorbância (450 nm) do complexo vs proporção de Fe^{3+} :MTO	39
Figura 4.13: Dependência de $A_0/(A - A_0)$ em função de $1/([\text{Fe}^{3+}])$ plotados utilizando os dados da titulação espectrofotométrica de MTO com Fe(III) em $\text{pH } 3,00$	40
Figura 4.14: Voltamogramas de pulso diferencial para MTO $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e após adição de $0,7 \text{ mmol L}^{-1}$ FeOx sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV ; velocidade de varredura 2 mV s^{-1}	42

Figura 4.15: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L ⁻¹ e após adição de 0,27 mmol L ⁻¹ de FeOx	42
Figura 4.16: Comparação entre as diferentes fontes de ferro para a degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L ⁻¹ de ferro e 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂)	44
Figura 4.17: Cinética de mineralização da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton utilizando diferentes fontes de ferro (0,54 mmol L ⁻¹ de Ferro e 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂)	45
Figura 4.18: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton, utilizando FeOx como fonte de ferro: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	46
Figura 4.19: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton, utilizando Fe(II) como fonte de ferro: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	47
Figura 4.20: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton, utilizando Fe(III) como fonte de ferro: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	47
Figura 4.21: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton, utilizando FeOx como fonte de ferro. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L ⁻¹ , pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min ⁻¹ e detecção em 658 nm, — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 10min, — 15 min, — 20 min, — 25min de degradação	48
Figura 4.22: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 40 mg L ⁻¹ e após ser submetida a degradação pelo processo Fenton (0,54 mmol L ⁻¹ de Fe(II) e 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂)	49
Figura 4.23: Comparação da degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ padrão e formulação comercial pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L ⁻¹ de FeOx e 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂) e comparação da degradação utilizando 0,27 mmol L ⁻¹	50
Figura 4.24: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton, utilizando 0,27 mmol L ⁻¹ de FeOx: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	50
Figura 4.25: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO padrão 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L ⁻¹ de FeOx): — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min ...	51

Figura 4.26: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO padrão 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L ⁻¹ de FeOx e 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂). Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L ⁻¹ , pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min ⁻¹ e detecção em 658 nm, — amostra inicial da MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min de degradação	51
Figura 4.27: Comparação da degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L ⁻¹ de FeOx, 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂) com luz UV e solar e pelo processo H ₂ O ₂ /luz solar (18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂)	53
Figura 4.28: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L ⁻¹ de FeOx e 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂) utilizando radiação solar: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	54
Figura 4.29: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo H ₂ O ₂ /luz solar utilizando 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂ : — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	54
Figura 4.30: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo H ₂ O ₂ /luz solar utilizando 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂ . Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L ⁻¹ , pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min ⁻¹ e detecção em 658 nm: A) — amostra inicial de MTO, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5min, — 10 min, — 20 min, — 30min, B) — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70min, — 90 min, — 110 min, — 140min de degradação	55
Figura 4.31: Comparação da degradação entre os processos H ₂ O ₂ /UV e UV para degradação de MTO 20 mg L ⁻¹	56
Figura 4.32: Comparação da degradação de MTO 40 mg L ⁻¹ padrão e formulação comercial pelo processo H ₂ O ₂ /UV e degradação de MTO por fotólise direta (UV)	57
Figura 4.33: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo H ₂ O ₂ /UV utilizando 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂ : — amostra inicial da MTO, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	58
Figura 4.34: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ padrão pelo processo H ₂ O ₂ /UV utilizando 18,8 mmol L ⁻¹ de H ₂ O ₂ : — amostra inicial da MTO, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	58
Figura 4.35: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ pelo processo UV: — amostra inicial da MTO, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min	59
Figura 4.36: Concentrações relativas (C/C ₀) vs tempo de reação para degradação da MTO 40 mg L ⁻¹ padrão e formulação comercial pelo processo H ₂ O ₂ /UV e por fotólise direta (UV) analisada em 658 nm	59

- Figura 4.37:** Cromatogramas das amostras de degradação da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo H₂O₂/UV utilizando 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L⁻¹, pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 658 nm: — amostra inicial de MTO, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5 min, — 10min, — 15 min, — 20 min, —25min de degradação 60
- Figura 4.38:** Cromatogramas das amostras de degradação da MTO padrão 40 mg L⁻¹ pelo processo H₂O₂/UV utilizando 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L⁻¹, pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 658 nm: — 5 min de degradação, — 10 min, — 15min, — 20 min — 25min, — 30 min, — 35 min 60
- Figura 4.39:** Comparação da degradação de MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L⁻¹ de fonte de ferro, 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂) com luz UV e solar, por fotólise direta, UV, e pelo processo H₂O₂/UV (18,8 mmol L⁻¹ H₂O₂) 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Antineoplásicos citostáticos classificados de acordo com Turci, et al. 2006	3
Tabela 4.1: Mineralização obtida para a degradação de soluções de MTO 20 mg L ⁻¹ pelo processo foto-Fenton em diferentes concentrações de ferro e H ₂ O ₂	32
Tabela 4.2: Dose resposta obtida durante o teste de citotoxicidade da MTO e da MTO após serem submetidas à degradação	63

GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IARC: Agência Internacional para a Investigação do Câncer

ETEs: Estações de Tratamento de Esgoto

POAs: Processos Oxidativos Avançados

HO[•]: Radicais Hidroxila

UV-Vis: Ultravioleta/Visível

UV: Radiação Ultravioleta,

HO₂[•]: Radical Hidroperoxila

FeL : Ferro-ligante

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

SRB: sulforrodamina B

IC₅₀: Dose que inibe 50% do crescimento celular

MTO: Mitoxantrona

FeOx: Ferrioxalato de Potássio

COT: Carbono Orgânico Total

CI: Carbono Inorgânico

CT: Carbono Total

NIH/3T3: Células de Fibroblastos Embrionários de Ratos

DMSO: Dimetilsulfóxido

DMEM: Meio Mínimo Essencial modificado por Dulbecco

PBS: Tampão fosfato-salino

TCA: Ácido tricloroacético

Tampão Tris Base: Tris hidroximetil aminometano

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação.

DHB: Derivados de dihidroxibenzeno.

RESUMO

Neste estudo os processos oxidativos avançados (POAs), foto-Fenton (Fe(II), Fe(III) e ferrioxalato de potássio - FeOx como fontes de ferro), foto-Fenton Solar (FeOx), UV/H₂O₂ e UV, foram investigados na degradação do medicamento antineoplásico, Dicloridrato de Mitoxantrona (MTO), frequentemente utilizado no tratamento de câncer de mama metastático, pele e leucemia aguda. Os resultados mostraram que o processo foto-Fenton, utilizando Fe(III) e FeOx, e o processo H₂O₂/UV foram os mais eficientes na mineralização do medicamento, com 77, 82 e 90% de remoção de COT, respectivamente. A MTO complexa com Fe(III), comprovado por análises voltamétricas e espectrofotométricas. Titulações espectrofotométricas sugerem que o complexo formado apresenta estequiometria de 2:1 Fe³⁺:MTO e a constante de complexação, $K = 1,47 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, indicando que a MTO tem alta afinidade por Fe³⁺. A complexação inibe parcialmente a participação de íons ferro e, consequentemente, a degradação do medicamento durante o processo foto-Fenton. O processo H₂O₂/UV costuma ser mais lento que o processo foto-Fenton, porém, neste estudo, o processo H₂O₂/UV mostrou-se mais eficiente, devido a complexação da MTO com Fe(III). Todos os processos exibiram uma cinética de mineralização de pseudo primeira ordem. Tanto o medicamento oxidado pelo processo H₂O₂/UV quanto pelo processo FeOx/H₂O₂/UV não apresentaram toxicidade, nas doses testadas, de acordo com os ensaios utilizando células de fibroblastos embrionários de ratos (NIH/3T3).

Palavras-chave: POAs; tratamento de resíduos; complexo Fe(III)-MTO; H₂O₂/UV; métodos espectroscópicos; voltametria; linhagem celular NIH/3T3.

ABSTRACT

In the present study advanced oxidation processes (AOPs), photo-Fenton (Fe(II), Fe(III), and potassium ferrioxalate—FeOx—as iron sources), solar photo-Fenton (FeOx), UV/H₂O₂, and UV, were investigated involving degradation of the antineoplastic drug mitoxantrone (MTX), frequently used to treat metastatic breast cancer, skin cancer and acute leukemia. The results showed that photo-Fenton process, employing Fe(III) and FeOx, and UV/H₂O₂ process were the most efficient for mineralizing MTX, with 77%, 82% and 90% of total organic carbon removal, respectively. A MTX complex with Fe(III), as demonstrated by voltammetric and spectrophotometric measurements. Spectrophotometric titrations suggested that the complex has a 2:1 Fe³⁺:MTX stoichiometry and a complexation constant (*K*) of $1.47 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, indicating high MTX affinity for Fe³⁺. Complexation partially inhibits the involvement of iron ions and hence the degradation of MTX during photo-Fenton process. The UV/H₂O₂ process is usually slower than the photo-Fenton process, but, in this study, the UV/H₂O₂ process were more efficient, due to complexing of MTX with Fe(III). In all the processes investigated, mineralization exhibited pseudo-first order kinetics. The drug exhibited no cytotoxicity against NIH/3T3 mouse embryonic fibroblast cells when oxidized by UV/H₂O₂ or by UV/H₂O₂/FeOx process, at the concentrations tested.

Keywords: AOPs; waste treatment; Fe(III)-MTX complex; UV/H₂O₂; spectroscopic methods; voltammetry; NIH/3T3 cell line.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Medicamentos antineoplásicos: risco à saúde e ao meio ambiente

O crescimento populacional mundial e o aumento das atividades de extração e produção acarretam a geração de resíduos. Frequentes ocorrências de vestígios de contaminantes orgânicos tais como, fármacos, pesticidas e produtos para cuidados pessoais têm sido encontrados em águas residuais e ambiente aquático. Deste modo, existe atualmente uma preocupação crescente com o gerenciamento desses resíduos devido ao impacto provocado ao meio ambiente (HALLING-SORENSEN et al., 1998; BENITEZ et al., 2009; GONZÁLES et al., 2009; SIRTORI et al., 2009; SANTOS et al., 2010; DURÁN et al., 2011; FATTA-KASSINOS et al., 2011; HOMEM e SANTOS, 2011; OLLER et al., 2011; RAZAVI et al., 2011).

Entre os diversos tipos de resíduos gerados pela atividade humana destacam-se os resíduos de serviços de saúde, ou seja, os detritos provenientes de todo tipo de operações e atividades oriundas da assistência médica, sanitária, farmacêuticas, odontológicas, análises clínicas e áreas de atuações congêneres (KAJITVICHYANUKUL e SUNTRONVIPART, 2006; VERLICCHI et al., 2010).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) do Brasil no ano de 2004 atualizou e complementou a resolução nº 306, quanto aos procedimentos relativos ao gerenciamento dos resíduos gerados nos serviços de saúde. Essa resolução regulamenta os procedimentos para os resíduos gerados no meio hospitalar quanto aos riscos, como potenciais poluidores do meio ambiente e, portanto, prejudiciais à saúde pública. Nesta resolução, os resíduos são classificados segundo suas características biológicas, físicas, químicas, estado da matéria e origem, em diferentes grupos (A, B, C, D e E). Dentre estes, o Grupo B é o que contém substâncias químicas que podem apresentar riscos à saúde pública ou ao meio ambiente, destacando-se os resíduos de medicamentos, tais como, produtos hormonais, antibacterianos, antibióticos, antipiréticos, antiinflamatórios, antineoplásicos, imunodepressores, imunomoduladores, antiretrovirais, antilipêmicos, anestésicos, meios de contraste de raios- X, entre outros (ANVISA, 2004).

Entre as várias classes de medicamentos, os agentes antineoplásicos (medicamentos utilizados para quimioterapia do câncer) são compostos ambientalmente relevantes devido ao seu potencial efeito mutagênico, carcinogênico e genotóxico, mesmo quando presentes em nível de traços (KÜMMERER, 2001; TURCI et al., 2006; GARCIA-AC et al., 2010; OCAMPO-PEREZ et al., 2010; NUSSBAUMER et al., 2011; BESSE et al., 2012).

Os medicamentos antineoplásicos são cada vez mais utilizados para o tratamento de câncer. Câncer é um conjunto de mais 100 doenças caracterizado pelo progressivo acúmulo de mutações (alterações no DNA) no genoma de uma célula. Existem mais de 100 tipos de câncer, como o de pele, pulmão, mama, fígado, estômago, rim, ovário, cérebro, próstata, pâncreas e ossos (NEWS MED, 2012).

As causas do câncer são diversas, podendo ser externas ou internas ao organismo. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural do indivíduo. As causas internas são, na maioria das vezes, hereditárias e estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas ou ao acúmulo de mutações no material genético das células (INCA, 2012).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) para o ano de 2012 a estimativa é de 518.510 novos casos de câncer no país. As regiões Sul e Sudeste apresentaram as maiores taxas de câncer, enquanto as regiões Norte e Nordeste, as menores. As taxas da região Centro-Oeste apresentaram um padrão intermediário. No estado de Mato Grosso do Sul estima-se a incidência de 9.370 novos casos de câncer, sendo esperados 4.850 novos casos em homens (os principais: próstata, traquéia, brônquio, pulmão, cólon e reto) e 4.520 em mulheres (os principais: mama, colo de útero, traquéia, brônquio e pulmão). Na cidade de Campo Grande a estimativa é de 2.900 novos casos, sendo esperados 1.180 casos em homens (os principais: próstata, traquéia, brônquio, pulmão, cólon e reto) e 1.720 em mulheres (os principais mama feminina, colo de útero, colón e reto) (INCA, 2012).

A exposição ocupacional aos agentes antineoplásicos tem sido reconhecida como um perigo potencial para a saúde desde a década de 1970 (TURCI et al., 2006). Os funcionários dos hospitais que manipulam essas drogas podem ter um risco ocupacional. Inalação e absorção pela pele são as principais vias de contaminação em indivíduos não protegidos. Inalação pode ocorrer pela formação de aerossóis durante a preparação da droga. Absorção cutânea ocorre pelo contato direto com os compostos, após o derrame e durante o manuseio de fluidos biológicos de pacientes submetidos à quimioterapia (Castegnaro et al., 1997).

Estudo realizado por TURCI et al. (2006), salienta que nove medicamentos citostáticos e duas combinações quimioterápias foram incluídos pela Agência Internacional para a Investigação do Câncer (IARC) no Grupo 1 (cancerígeno para os humanos), 12 agentes são classificados como provavelmente cancerígenos (Grupo 2A), e 9 possivelmente cancerígenos (Grupo 2B) para os seres humanos (Tabela 1.1). Além disso, muitas destas drogas são conhecidas por serem teratogênicos e mutagênicos para humanos. No entanto,

nenhum nível seguro de exposição pode ser definido com base nos conhecimentos científicos atuais.

Tabela 1.1: Antineoplásicos citostáticos classificados de acordo com TURCI et al. 2006.

Grupo	Fármacos
Grupo 1: Cancerígeno para os humanos	Azatioprina; Clorambucila; Melfalano Etoposídeo; Ciclofosfamida; N,N-bis(2-cloroetil)-2-naftilamina (Clornafazina); 1,4-butanodiol dimetansulfonato (Bussulfano,); 1-(2-cloroetil)-3-(4-metlcicloexil)-1-nitrosouréia em combinação com Cisplatina e Bleomicina; e quimioterapia combinada, incluindo agentes alquilantes.
Grupo 2A: Prováveis cancerígenos para os humanos	Tiotepa; Treosulfano; Adriamicina; Azacitidina; Biscloretoilnitrosouréia; 1-(2-cloroetil)-cicloexil-1-nitrosouréia; Clorozotocina; Cisplatina; N-etil-N-nitrosouréia; Etoposídeo; N-metil-N-nitrosouréia; Cloridrato de procarbazina; Teniposídeo.
Grupo 2B: Possíveis cancerígenos para os humanos	Amsacrina; Aziridina; Bleomicina; Dacarbazina; Daunomicina; Melfalano; Mitomicina C; Mitoxantrona; Estreptozotocina; 5-Fluorouracila; Ifosfamida.
Grupo3: Não classificados com relação à carcinogenicidade humana	6-Mercaptopurina; Metotrexato; Prednisona; Sulfato de Vimblastina; Sulfato de Vincristina.

Os medicamentos, uma vez administrados são transformados (metabolizados) e eliminados do corpo. No entanto, apenas pouco se sabe sobre o destino e os efeitos dos fármacos e seus metabólitos no ambiente. Foram detectados em esgoto doméstico, em águas superficiais e de subsolo em concentração de ng L^{-1} para $\mu\text{g L}^{-1}$ (KLAVARIOTI et al., 2009; MÉNDEZ-ARRIAGA et al., 2010; SANTOS et al., 2010). Embora presentes em níveis de traço, a contínua introdução no ambiente é caracterizada como uma "pseudo-persistência" que pode resultar em efeitos tóxicos (VERLICCHI et al., 2010). Estes compostos alcançam vias fluviais por várias fontes como indústrias farmacêuticas, efluentes hospitalares e excreção dos humanos e gado, principalmente, pela descarga em água de esgoto (SHEMER et al., 2006; ELMOLLA e CHAUDHURI, 2009; YANGA et al., 2008).

A principal fonte de tais compostos é a excreção em urina ou fezes, ambos em forma inalterada ou/e como metabólito, devido à absorção incompleta pelo metabolismo humano e

dos animais. Consequentemente, esses fármacos entram nas estações de tratamento de esgoto (ETEs) onde são tratados juntamente com outros constituintes orgânicos e inorgânicos do efluente. Entretanto, alguns desses fármacos não são completamente removidos nas ETEs (BAUTITZ e NOGUEIRA, 2007; GEBHARDT e SCHRÖDER, 2007). A fração não-metabolizada é excretada como um composto ainda-ativo. Como estes compostos são parcialmente eliminados nas ETEs, seu destino é o ambiente, especialmente os compartimentos de água (KÜMMERER et al., 2009). Portanto, eles são assumidos como compostos ambientalmente relevantes (TURCI et al., 2006; OCAMPO-PEREZ et al., 2010; NUSSBAUMER et al., 2011).

Em geral, o principal destino dado para os resíduos de medicamentos são os aterros sanitários e/ou a incineração. No entanto, nenhuma dessas alternativas pode ser considerada satisfatória, devido ao surgimento de altos índices de metais pesados no solo com elevadas concentrações de mercúrio, potássio, zinco, cobre, ferro, cromo, níquel e manganês e alterações significativas em termos de íons dissolvidos em lençóis freáticos, inclusive com elevados teores de nitrato (LEE e HUFFMAN, 1996). A prática da incineração também é considerada um procedimento incorreto devido aos subprodutos lançados na atmosfera como dioxinas (KEENE, 1991; LEE E HUFFMAN, 1996; DYKE et al., 2003; GONÇALVES e OSHIMA-FRANCO, 2004).

Adicionalmente, há uma preocupação com o descarte inadequado dos medicamentos com prazo de validade expirado, em que são geralmente dispostos juntamente com os resíduos domiciliares comuns (BILA E DEZOTTI, 2003; CARVALHO et al., 2009).

Visto o grande consumo de medicamentos no Brasil, a contaminação das águas por esses resíduos é inevitável. Assim é imprescindível que medidas sejam adotadas com o intuito de minimizar ou eliminar esses potenciais contaminantes. Uma vez que os processos convencionais de tratamento de água e efluentes são incapazes de eliminar completamente esses compostos persistentes, é necessário introduzir tecnologias avançadas de tratamento (KLAVARIOTI et al., 2009; SIRTORI et al., 2009). Entre as tecnologias avançadas, os processos oxidativos avançados têm merecido destaque, apresentando resultados satisfatórios na remoção de diversos compostos orgânicos, incluindo os fármacos (KLAVARIOTI et al., 2009; MÉNDEZ-ARRIAGA, 2010).

1.2. Processos Oxidativos Avançados (POAs)

Os processos de tratamento de efluentes, que utilizam o alto potencial de redução do radical hidroxila, E^0 em cerca de 2,8 V, para efetuar a degradação dos poluentes orgânicos, são conhecidos como Processos Oxidativos Avançados (POAs) (LEGRINI, 1993; ANDREOZZI, 1999; LINDSEY 2000). São métodos eficientes para a destruição de uma variedade extensiva de substâncias orgânicas resistentes a tecnologias convencionais. POAs são baseados em processos físico-químicos que produzem poderosas espécies transitórias, principalmente os radicais hidroxila ($HO^\bullet$), com alto poder oxidante (ANDREOZZI, 1999; BUXTON, 1988). Estas espécies químicas podem oxidar praticamente todas as substâncias orgânicas, podendo mineralizá-las completamente, ou seja, transformando-as em dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos ((LEGRINI, 1993; ANDREOZZI, 1999; LINDSEY 2000).

Os POAs dividem-se em sistemas homogêneos e heterogêneos, nos quais os radicais $HO^\bullet$ são gerados com ou sem radiação ultravioleta. Os processos que contam com a presença de catalisadores sólidos são chamados heterogêneos, enquanto que os demais são chamados homogêneos. Entre estes, pode-se citar os processos que envolvem a utilização de ozônio, peróxido de hidrogênio, decomposição catalítica de peróxido de hidrogênio em meio ácido com ou sem irradiação, denominadas reações de Fenton e foto-Fenton, e semicondutores como o dióxido de titânio na fotocatalise heterogênea (ANDREOZZI, 1999; LINDSEY 2000).

Nos últimos anos vários processos oxidativos avançados, tais como, fotocatalise heterogênea, utilizando semicondutores de TiO_2 (GAYA e ABDULLAH, 2008; RAJESHWAR et al., 2008; MICHAEL et al., 2010; SHAPOVALOV, 2010), processos baseados na reação de Fenton e foto-Fenton (MACHULEK et al., 2006; 2007; 2009b; PONTES et al., 2010; ZANTA et al., 2010), sistemas do tipo H_2O_2/UV (KIM et al., 2009; YUAN et al., 2009), processos fotoeletroquímicos (OSUGI et al., 2008; 2009) e processos baseados nas reações com ozônio (GARCIA-AC et al., 2010; MACHULEK et al., 2009a) têm merecido destaque como tecnologias destrutivas de poluentes orgânicos.

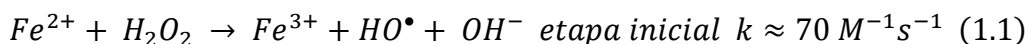
1.2.1. Processos Homogêneos

Nos sistemas homogêneos não existe a presença de catalisadores na forma sólida, os radicais hidroxila são produzidos por formas diferentes, podendo ser classificados em duas classes: com ou sem o uso da radiação ultravioleta. Nesse último caso, destaca-se o processo Fe^{2+}/H_2O_2 , denominado processo Fenton. Porém, o processo se torna mais eficiente para a

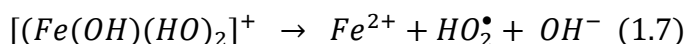
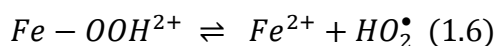
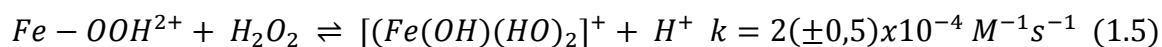
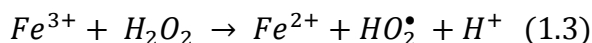
mineralização de efluentes se a reação de Fenton for fotocatalisada (Fe^{2+}/Fe^{3+} , H_2O_2 , UV-vis), comumente chamada de reação foto-Fenton (AUGUGLIARO et al., 2006; PIGNATELLO et al., 2006).

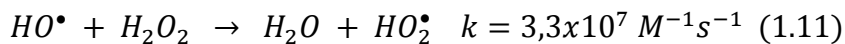
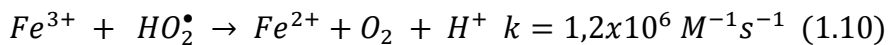
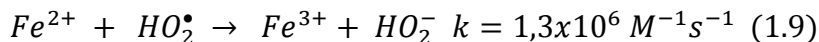
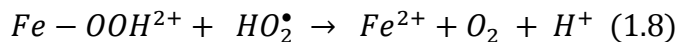
1.2.1.1. O Processo foto-Fenton

O reagente de Fenton foi descoberto há mais de um século, quando a oxidação catalítica de ácido tartárico na presença de sais ferrosos e peróxido de hidrogênio foi relatada por Fenton (FENTON, 1894), mas a sua utilização como um processo de oxidação de compostos orgânicos tóxicos não foi aplicado até o final dos anos 1960 (NEYENS e BAEYENS, 2003). Processos de tratamento de água utilizando reações de Fenton são conhecidos por serem eficientes na remoção de poluentes orgânicos da água. A principal vantagem é a completa destruição de compostos transformando-os em produtos inofensivos, em muitos casos até dióxido de carbono e água (BOSSMANN et al., 2004; POZDNYAKOV et al., 2004). Oxidação homogênea com reagente de Fenton ocorre na presença de íons ferrosos ou férricos com peróxido de hidrogênio. O mecanismo clássico é uma simples reação redox, na qual os íons de Fe^{2+} são oxidados até Fe^{3+} e o H_2O_2 é reduzido a um íon hidroxilo e um radical hidroxila (Equação 1.1). Radicais hidroxilas são gerados eficientemente pela reação 1.1, mas cada íon Fe^{2+} gera somente um radical $HO^\bullet$. A geração de radicais envolve uma sequência de reações em uma solução aquosa (NEYENS e BAEYENS, 2003).



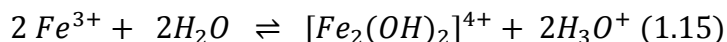
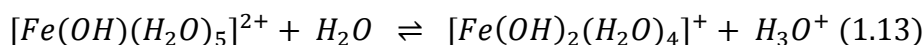
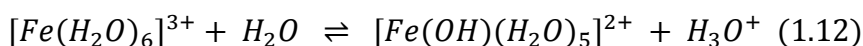
Os íons férricos produzidos (Equação 1.2) também são importantes para a reação de Fenton, pois reagem com peróxido de hidrogênio, mas com uma constante de velocidade menor que Fe^{2+} , dando continuidade para a reação em cadeia gerando um ciclo de geração de $Fe(II)/Fe(III)$ (Equação 1.3-1.11), formando também íons ferrosos e radicais (Neyens e Baeyens, 2003; Pignatello et al., 2006).





O Fe(III) forma complexos com o H_2O_2 (Equação 1.4 e 1.5). A reação limitante da regeneração de Fe(II) é geralmente a dissociação redutiva do complexo Fe(III)- H_2O_2 (Equação 1.6 e 1.7). Como as Equações 1.6 e 1.7 têm uma constante de velocidade muito baixa, $k = 0,0027 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, em geral a reação de Fenton ocorre em dois estágios, um muito rápido que depende da reação de Fe^{2+} (Equação 1.1) e o outro muito lento o qual depende da Equação 1.3 que ocorre em três etapas (Equação 1.4, 1.6 e 1.10). Isso pode ser um problema, pois pode ocorrer no sistema um excesso de H_2O_2 , o qual pode atuar então como sequestrador de radical (Equação 1.11) (PIGNATELLO et al., 2006).

Em solução ácidas sem ligantes orgânicos ou inorgânicos complexantes, os íons férricos existem predominantemente como um complexo hexaáquo $[Fe(H_2O)_6]^{3+}$, que se dissocia formando espécies hidroxiladas, cuja proporção depende do pH terminando em precipitação de oxi-hidróxidos de ferro (Equação 1.12-1.15) (Pignatello et al., 2006). Em $pH \leq 5$, existem no mínimo quatro diferentes espécies de íons Fe^{3+} , as quais são bem conhecidas e coexistem em solução aquosa, sendo essas espécies representadas sem as águas de hidratação: Fe^{3+} , $Fe(OH)^{2+}$, $Fe(OH)_2^+$ e o dímero $Fe_2(OH)_2^{4+}$.



A distribuição de algumas dessas espécies de Fe(III) em função do pH é mostrada na Figura 1.1 (PIGNATELLO et al., 2006).

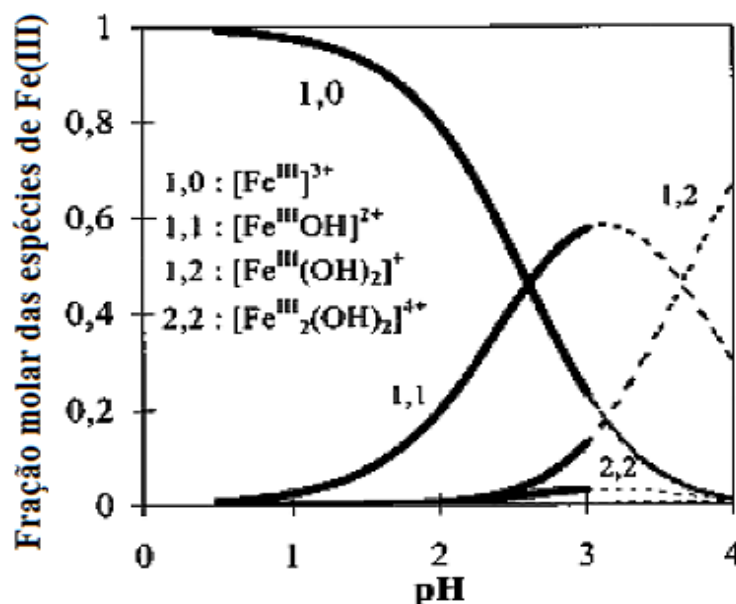
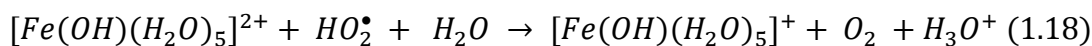
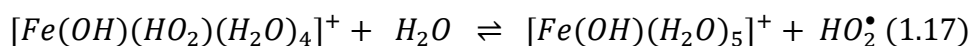
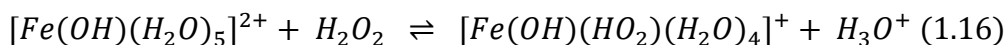


Figura 1.1: Especiação de algumas espécies de Fe(III) hidrolisado em função do pH. As águas de hidratação foram omitidas da figura, por exemplo, $\text{Fe}^{3+} = [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ (PIGNATELLO et al., 2006).

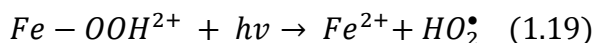
Como descrito anteriormente, a reação Fenton ocorre em dois estágios. A redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} é muito mais lenta e acaba sendo o passo determinante da cinética global, segundo BOSSMANN et al. (1998), ela ocorre em três etapas (Equações 1.4, 1.6 e 1.10). Essas reações podem ser reescritas incluindo as águas de hidratação. Primeiramente ocorre a formação do complexo Fe(III)-peróxido ($[\text{Fe}(\text{HO})(\text{HO}_2)(\text{H}_2\text{O})_4]^+$) em pH 3,00 (Equação 1.16), em seguida, redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} nesse complexo ($[\text{Fe}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^+$) (Equação 1.17) e por ultimo reação de transferência de elétron, entre um segundo complexo de Fe^{3+} ($[\text{Fe}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$) (Equação 1.18) e o radical hidroperoxila ($\text{HO}_2^\bullet$), que também regenera a espécie Fe^{2+} ($[\text{Fe}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^+$).



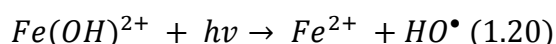
Outra limitação para a reação de Fenton reside na presença de alguns íons inorgânicos como o fosfato, sulfato, organosulfonato, fluoreto, brometo, e íons cloreto que dependendo de sua concentração podem complexar fortemente os íons ferro ou agir como sequestradores de radicais (NOGUEIRA et al., 2007).

O passo limitante no processo Fenton está na formação do complexo intermediário entre Fe(III)- H_2O_2 ou seja, na troca de ligantes pela água. A oxidação de compostos orgânicos sob irradiação UV na presença de íon férrico em meio ácido foi verificada na década de 50,

quando foi postulado que a transferência eletrônica iniciada pela irradiação resultava na geração de $HO^\bullet$, responsável pelas reações de oxidação (NOGUEIRA et al., 2007). A irradiação UV-Vis acelera fortemente as reações de Fenton, aumentando a velocidade de degradação de poluentes orgânicos. A fotoexcitação do complexo Fe(III)-OOH aumenta a velocidade da decomposição do H_2O_2 e a evolução de oxigênio em comparação à reação térmica (Equação 1.19).



A formação e a fotólise deste complexo é um dos mecanismos propostos para a reação foto-Fenton. Mas, o mecanismo mais aceito para o aumento da degradação quando as soluções contendo os reagentes de Fenton são irradiadas, reside na fotólise dos aquo-complexos de Fe(III). Através da Figura 1, observa-se que em pH 2,50 a espécie monomérica dos hidroxí-complexos de Fe(III) dominante é o complexo $[Fe(H_2O)_5OH]^{2+}$ que absorve luz na região de 300-400 nm (LOPES et al., 2002; MARTIRE et al., 2002; NEYENS e BAEYENS, 2003), por conveniência, este complexo é representado como $Fe(OH)^{2+}$ sem explicitar as águas de hidratação. A irradiação destas espécies promove a transferência de um elétron de um orbital centrado no ligante para um orbital centrado no metal, chamada de transferência de carga ligante-metal, que implica na redução de Fe(III) a Fe(II) e oxidação do ligante (Equação 1.20), formando radical $HO^\bullet$ (NOGUEIRA et al., 2007). Como uma consequência desses efeitos, o processo foto-Fenton é muito mais eficiente que o Fenton convencional.



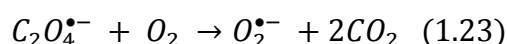
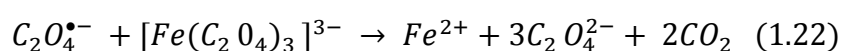
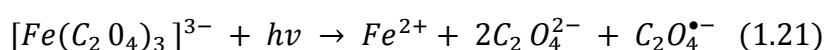
O íon Fe^{+2} regenerado reage com H_2O_2 formando radical $HO^\bullet$, e íon Fe^{3+} , reiniciando o ciclo. Nestas condições, ferro se comporta como um real catalisador (AUGUGLIARO et al., 2006; ROZAS et al., 2010). Como o Fe^{2+} é gerado pela fotodecomposição da água graças à luz (Equação 1.20) e não pela redução por H_2O_2 (Equação 1.3), o processo foto-Fenton consome menos H_2O_2 e requer somente quantidades catalíticas de Fe^{2+} . Também é minimizada a redução do $OH^\bullet$ pelo Fe^{2+} , já que este último é gerado *in situ* em concentrações baixas (MACHULEK, 2007).

Pela Figura 1.1, observa-se que em pH aproximadamente igual a 3,00, a espécie monomérica dos hidroxí-complexos de Fe(III) é $Fe(OH)^{2+}$. O rendimento quântico de fotólise do complexo $Fe(OH)^{2+}$ para a geração de radicais $HO^\bullet$ varia de 0,14 ($\lambda = 313$ nm), a 0,31 ($\lambda =$

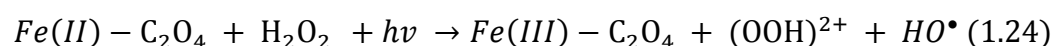
280 nm), sendo muito maior do que o das outras espécies, como exemplo, o $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ e o $\text{Fe}_2(\text{OH})_2^{4+}$ que possuem rendimento quântico para a geração de $\text{HO}^\bullet$ igual a 0,065 ($\lambda=240$ nm) e 0,007 ($\lambda=335$ nm), respectivamente. Desta forma, em pH 3,00 o complexo $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ é a espécie fotoativa dominante, deste modo, a reação de Fenton tem uma estreita faixa de pH ótimo, entre 2,50 e 3,50 (BENKELBERG e WARNECH1995; PIGNATELLO et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2007).

O radical $\text{HO}^\bullet$ pode atuar como um eletrófilo ou como um nucleófilo, atacando moléculas orgânicas pela abstração de hidrogênio ou acoplando-se em duplas ligações e anéis aromáticos (hidroxilação), inclusive em posições substituídas causando reações como desmetoxilação, desalogenação, desalquilação, desnitração, desaminação e descarboxilação (NOGUEIRA et al., 2007).

Apesar da maior velocidade de reação entre Fe^{2+} e H_2O_2 a utilização de Fe^{3+} é mais conveniente, pois neste estado de oxidação o ferro é mais abundante e tem menor custo (AGUIAR et al., 2007). O íon férrico forma complexos estáveis. A utilização de complexos de ferro no processo foto-Fenton tem sido considerada vantajosa, pois contribui para o aumento da eficiência da absorção da luz estendendo a banda de absorção para a região do visível, além de que permite que as reações de Fenton aconteçam numa faixa mais ampla de pH. A fotossensibilidade de ferrioxalato é conhecida por um longo tempo e tem sido amplamente utilizado como actinômetro químico. Sua fotólise tem sido relatada como segue (Equação 1.21-1.23) (NOGUEIRA et al., 2005; SILVA et al., 2010).



A fotólise do ferrioxalato também gera $\text{Fe}(\text{II})$ -oxalatos que reagem rapidamente com H_2O_2 gerando radicais $\text{HO}^\bullet$ (Equação 1.24) (KWAN e CHU, 2003).



Na presença de ferrioxalato há geração continua de Fe^{2+} que reage rapidamente com o peróxido de hidrogênio (reação de Fenton), e impede a formação de outros radicais menos oxidantes (KWAN e CHU, 2003). Outro aspecto interessante do uso de ferrioxalato nos processos de fotodegradação é que pode ser utilizada radiação solar devido a sua alta absorção

entre 450 e 550 nm (NOGUEIRA et al., 2005). Esta característica favorece sua aplicação para o tratamento de águas residuais utilizando a energia solar como fonte de irradiação, diminuindo o custo e tornando o processo mais atraente para aplicações industriais.

1.2.1.2. Processos UV e H₂O₂/UV

A radiação UV pertence ao espectro eletromagnético e está situada na faixa de 40 a 400 nm de comprimento de onda, entre os raios-X e a luz visível (SOBOTKA, 1993).

UV vácuo – 40 a 200 nm;

UV C – 200 a 280 nm;

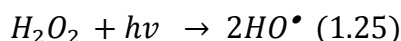
UV B – 280 a 315 nm;

UV A – 315 a 400 nm.

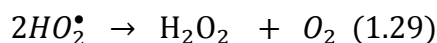
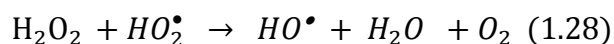
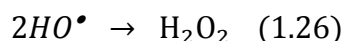
A radiação UV é utilizada em tratamento de águas e de crescente aplicação como alternativa aos oxidantes químicos tradicionais no processo de desinfecção de águas. Em geral, somente radiação UV não é suficiente para alcançar a degradação de compostos orgânicos. O processo é chamado de fotólise direta para o tratamento de águas (PEREIRA et al., 2007).

A utilização da radiação UV em parceria a reagentes químicos tem proporcionado bons resultados. A combinação de peróxido de hidrogênio com irradiação ultravioleta é um dos POAs mais antigos e tem sido usado com êxito na remoção de contaminantes presentes em águas e efluentes. O processo combinado entre H₂O₂/UV é muito mais eficiente do que o uso de cada um deles separadamente, devido à produção de radicais HO[•] (VOGNA et al., 2004; PEREIRA et al., 2007; YUAN et al., 2009).

No processo H₂O₂/UV o mecanismo para a fotólise de H₂O₂ com UV é a quebra da molécula em radical hidroxila com um rendimento de dois HO[•] para cada molécula de H₂O₂ (Equação 1.25) (GHALY et al., 2001).



Em excesso de peróxido de hidrogênio e com altas concentrações de HO[•], acontecem reações competitivas que produzem um efeito inibitório para a degradação. Os radicais HO[•] são suscetíveis de recombinar-se ou de reagir de acordo com as equações 1.26-1.29 (ANDREOZZI, 1999).



As reações (1.26) e (1.30) consomem $HO^{\bullet}$ e diminuem a probabilidade de oxidação, e, portanto, deve-se determinar em cada caso a quantidade ótima de H_2O_2 para evitar um excesso que poderia retardar a degradação.

O uso deste processo oferece muitas vantagens: o H_2O_2 é um oxidante comercialmente muito acessível, termicamente estável e pode ser armazenado no próprio local, desde que os devidos cuidados sejam respeitados. Como possui altíssima solubilidade em água, não existem problemas de transferência de massa associado aos gases, como por exemplo, no caso da utilização de ozônio (TAMBOSI, 2008).

1.2.2. Aplicação de POAs na remoção de agentes antineoplásicos

Os antineoplásicos são compostos tóxicos, a sua eliminação é necessária para minimizar a magnitude dos problemas de poluição. Em 1979, um programa para o desenvolvimento de métodos químicos para o tratamento de resíduos contaminados com produtos químicos cancerígenos foi iniciado pela IARC, com o apoio do Gabinete de Segurança do Instituto Nacional de Saúde. Em 1985, foram consideradas as drogas antineoplásicas, neste programa. Desde então, estudos descrevendo a destruição de drogas antineoplásicas utilizando ácidos ou agentes oxidantes fortes, tais como, permanganato de potássio, foram investigados, entretanto, esses agentes não foram considerados aceitáveis pela equipe do hospital. Um novo programa foi assim iniciado pela IARC, para investigar sistematicamente a eficiência do hipoclorito de sódio 5%, de peróxido de hidrogênio 30% e do processo Fenton ($FeCl_2 \cdot 2H_2O$; 0,3 g em 10 ml de H_2O_2 , 30%) na degradação de agentes antineoplásicos (BAREK, et al., 1998).

CASTEGNARO et al. (1997), investigaram a degradação de 6 antraciclina: idarrubicina, doxorubicina, epirubicina, pirarubicina, aclarubicina e daunorubicina empregando os três oxidantes propostos pelo programa IARC. A eficiência da degradação foi monitorada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a mutagenicidade foi escolhida como um indicador de efeitos tóxicos. A completa degradação em resíduos não

mutagênicos de todos os compostos testados foi observada após 1 h com tratamento com hipoclorito de sódio e reagente Fenton. A utilização de peróxido de hidrogênio foi ineficiente para a degradação dos compostos, mesmo após 24 h de reação não foi observada uma degradação completa.

BAREK et al. (1998), estudaram a degradação de soluções farmacêuticas residuais contaminadas por ansacrina, azatioprina, asparaginase e tiotepa utilizando esses três métodos químicos para a degradação desses antineoplásicos. Usando hipoclorito de sódio, 98,5% da Amsacrina, 99,0% da azatioprina, 99,5% da asparaginase e 98,7% da tiotepa foram degradados após 1 hora. O tratamento do peróxido de hidrogênio degradou 99% da asparaginase e 98,7% dos tiotepa em 1 hora. No entanto, este procedimento não foi eficiente para o tratamento de amsacrina (28% após 16 h) e azatioprina (degradação de 53% em 4 h). A ação do reagente de Fenton resultou na degradação de 98% do amsacrina, e 99,5% da azatioprina, 98,5% dos Asparaginase e 98,7% do tiotepa em 1 h. Em todos os casos em que um elevado grau de degradação foi alcançado, os resíduos obtidos não foram mutagênicos.

Entre os tratamentos biológicos, físicos e químicos, a oxidação química com tratamento de ozônio tem demonstrado sua eficácia para uma ampla gama de micropoluentes orgânicos em águas residuais e potáveis. O ozônio reage com contaminantes orgânicos por reação direta do ozônio molecular ou pela reação de radicais livres (principalmente os radicais $\text{HO}^\bullet$) produzidos pela decomposição do ozônio. GARCIA-AC et al. (2010), investigaram a degradação e avaliaram a cinética de oxidação de dois alvos citostáticos, ciclofosfamida e metotrexato, por reação com ozônio aquoso. Para a ciclofosfamida, a taxa de degradação com o ozônio molecular em água ultrapura foi baixa (constante de oxidação direta, $k = 3,3 \pm 0,2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Metotrexato reagiu rapidamente com o ozônio molecular em doses normalmente aplicadas em tratamento de água potável ($k > 3,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Globalmente, os resultados confirmaram que a reatividade de compostos orgânicos com ozônio foi dependente da sua estrutura química. O ozônio foi muito eficaz contra o metotrexato, mas alta concentração de ozônio e um grande tempo de contato foram necessários para remover completamente a ciclofosfamida da água potável. REY et al. (1999), estudaram a degradação dos antineoplásicos 5-fluorouracil, citarabina, azatioprina e metotrexato utilizando ozônio em pH 3,00. Descobriram que após 60 min de tratamento a degradação total foi obtida. Além disso, os subprodutos de degradação não apresentaram atividade mutagênica através do teste de Ames.

Recentemente, os POAs têm sido aplicados com sucesso em tratamentos de águas residuais. YURDAKAL et al. (2007), estudaram o mecanismo e a cinética de degradação

fotocatalítica e a mineralização do antineoplásico tamoxifeno. A degradação desta molécula foi realizada por irradiação com luz ultravioleta na ausência e presença de dióxido de titânio, TiO_2 . Para a degradação na ausência de TiO_2 nenhuma mineralização foi encontrada no término da degradação (18h). A adição do fotocatalisador não modificou o caminho e as etapas de degradação, mas obteve-se uma mineralização completa dos produtos intermediários. O tempo para a completa mineralização foi de 22 h e 28 h para TiO_2 Degussa P25 e Merck, respectivamente.

OCAMPO-PÉRES et al. (2010), investigaram a eficiência dos POAs utilizando radiação UV (UV, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{UV}$) na degradação do agente antineoplásico citarabina. Os resultados demonstraram que a radiação UV sozinha não foi eficiente para remover a citarabina do meio aquoso. A adição de H_2O_2 ou $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ aumentou consideravelmente a eficiência de remoção do antineoplásico, devido a geração de radicais $\text{HO}^\bullet$ e $\text{SO}_4^{\bullet-}$, obtendo 100% de remoção após 3 horas. Entretanto verificaram que para o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ os subprodutos formados foram mais tóxicos que o composto original.

FERNANDES et al. (2010), analisaram a degradação oxidativa do antineoplásico ciclofosfamida em meio aquoso utilizando ozônio $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$. A influência do pH, da concentração de ozônio e o fluxo de gás foram estudados. Os resultados demonstraram que nas condições experimentais estudadas, não houve uma rápida degradação da ciclofosfamida, foi possível isolar e identificar alguns produtos de degradação. Utilizando ozonização em pH 9,00, 4-ketociclofosfamida foi identificado como produto principal da reação.

OCAMPO-PÉRES et al. (2011b), estudaram a eficácia da radiação gama para a degradação do agente antineoplásico citarabina em solução aquosa. Os autores estudaram o efeito da dose de radiação, pH do meio, a presença de H_2O_2 , Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , NO_2^- e a matéria orgânica. Além disso, a influência da composição química da água sobre a degradação citarabina foi avaliada utilizando diferentes matrizes de água (água ultrapura, águas superficiais, águas subterrâneas e águas residuais). Os resultados demonstram que na presença de Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , NO_2^- ou ácidos húmicos obteve uma diminuição na taxa de degradação, em grande parte devido à concorrência de citarabina com os ânions e ácidos húmicos pelas espécies reativas geradas, principalmente $\text{HO}^\bullet$. A eficiência da degradação foi ligeiramente melhorada na presença de pequenas quantidades de H_2O_2 que atuou como promotor de radicais $\text{HO}^\bullet$. A eficácia da radiação gama foi significativamente reduzida utilizando água residuais devido a inibição das espécies reativas pela matéria orgânica e pela grande

quantidade de ânions na água. Este estudo demonstrou que não foi possível mineralizar completamente a matéria orgânica com a dose de radiação utilizada.

OCAMPO-PÉRES et al. (2011a), analisaram a degradação fotocatalítica de citarabina na presença de TiO_2 e carbono ativo. Os autores utilizaram três fontes de carbonos ativos denominados como S, M e W. Oxidaram o carbono ativado W com H_2O_2 , HNO_3 e O_3 (com O_3 , duas amostras de carbono foram obtidas, denominadas WO_3 -30 e WO_3 -120, onde 30 e 120 significam o tempo, em minutos, que o carbono ficou exposto ao ozônio). Os resultados mostraram que a presença de carbono não oxidado (S, M, W) e oxidado (WH_2O_2 , WHNO_3 , WO_3 -30, WO_3 -120) aumentaram a degradação da citarabina comparado a utilização apenas de TiO_2 . A melhora dos resultados de degradação com carbonos ativados foi atribuído à interação entre os sítios ácidos dos carbonos e as espécies radicalares geradas a partir da fotoativação de TiO_2 . Os melhores resultados de degradação foram obtidos utilizando WO_3 -30 e WO_3 -120, em que obtiveram um aumento de 20 e 30% respectivamente na degradação da citarabina.

1.3. Testes de toxicidade

A avaliação da toxicidade da solução durante o tratamento por POAs é muito importante, pois subprodutos mais tóxicos que o composto alvo pode ser formado (Pérez-Moya et al., 2010). Um exemplo recentemente reportado na literatura é o aumento da toxicidade, baseado na inibição luminescente da bactéria da espécie *Vibrio fischeri*, dos subprodutos de degradação do agente antineoplásico Citarabina após tratamento utilizando o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ (OCAMPO-PÉREZ et al., 2010).

No processo de identificação de potenciais agentes cancerígenos, a capacidade de um agente para destruir as células cancerosas é medida através da incubação do agente com um conjunto padrão de linhagens celulares (BAHARITH et al., 2006; SANTOS et al., 2010). À medida que o crescimento de cada linhagem celular é inibido pelo agente fornece um perfil de citotoxicidade do agente. A taxa de crescimento e multiplicação é medida indiretamente por algum indicador de crescimento através da formação do aparecimento de coloração e a intensidade de cor é diretamente proporcional ao número de células presentes (BOGO et al., 2010).

Análise *in vitro* de toxicologia utilizando culturas de células é uma importante alternativa para pesquisa de agentes antineoplásicos. Os ensaios de citotoxicidade podem ser desenvolvidos em várias metodologias: contagem celular, ensaios clonogênicos, medida de

incorporação de nucleotídeos radiativos ou métodos colorimétricos (BOGO et al, 2010; SIMIONATTO et al, 2010).

Existem diferentes tipos de ensaios colorimétricos, dentre esses destaca-se o método utilizando o corante sulforrodamina B, SRB. Baseia-se no princípio de que o SRB cora proteínas dentro das células. Constitui-se em um método simples, sensível, reprodutível e rápido. O princípio do ensaio baseia-se na habilidade que tem este composto de se ligar a componentes protéicos das células, fixadas pelo ácido tricloroacético, ou seja, o método independe da atividade metabólica das células (SKEHAN et al., 1990).

No método SRB, o corante utilizado é uma aminoxantina de cor rosa brilhante e com dois grupos sulfônicos que são capazes de se ligar às porções terminais dos aminoácidos das células que foram fixadas com o ácido tricloroacético (SKEHAN et al., 1990). Constitui-se em um método que permite que um número maior de substâncias seja testado em poucos dias, além de não requerer reagentes de alto custo e nem equipamentos mais sofisticados (BOGO et al, 2010).

1.4. Mitoxantrona (MTO)

Mitoxantrona ou Dicloridrato de 1,4-diidroxi-5,8-bis {[2-[(2-hidroxietil)amino]etil] amino-9,10-antraquinona é um membro do antibiótico antraciclina, pertencente à família das antracenodionas (LI e YANG, 2005; BELTRAN et al., 2011; KESWANI e KISHORE, 2011). É um agente antineoplásico sintético descoberto pela primeira vez em 1978, estruturalmente semelhante à doxorubicina e daunorrubicina. Foi sintetizada para melhorar a eficácia clínica da amplamente utilizada doxorubicina e outras antraciclina (ENACHE et al., 2008). Tem uma estrutura em anel planar heterocíclico com doadores de prótons e grupos aceptores, e os de carga positiva, sendo estes as cadeias contendo nitrogênio de cada lado do anel (Figura 1.2).

A droga tem atividade clínica importante no tratamento de leucemias diversas, câncer de ovário, câncer de mama, câncer de próstata e apresenta atividade biológica que é atribuído à interação com o DNA e a inibição da topoisomerase II (ENACHE et al., 2008).

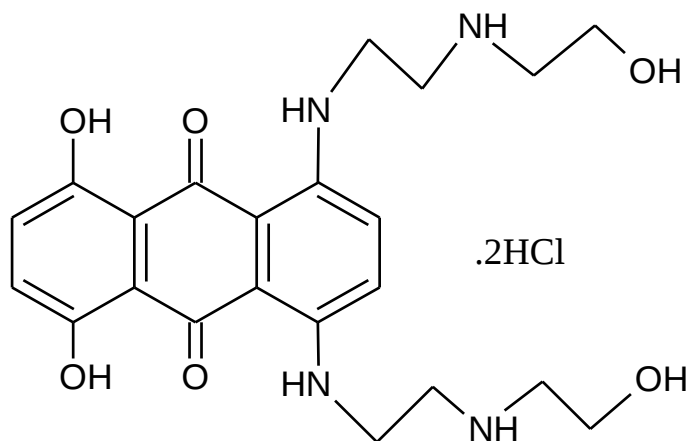


Figura 1.2: Estrutura Molecular da MTO

É um sólido higroscópico azul escuro, apresentado na forma sólida ou em solução aquosa, sob a forma de dicloridrato de mitoxantrona, em quantidade equivalente a 2 mg/mL de sua base livre. Na formulação comercial cada mL de solução injetável contém: dicloridrato de mitoxantrona (equivalente a 2 mg de mitoxantrona) e veículo q.s.p. 1 mL (MITOSTATE®, 2004). MTO tem sido muito bem tolerado pelos pacientes com câncer, demonstrando uma baixa incidência global de eventos adversos, especialmente os de natureza grave, irreversível ou causadora de risco de vida (LI e YANG, 2005).

Embora seu mecanismo de ação não tenha sido determinado, MTO é um agente DNA-reactivo. Tem efeito citocida sobre células humanas cultivadas, proliferantes ou não, o que sugere ter uma falta de especificidade pela fase do ciclo celular (ZHANG et al., 2010). Há fortes evidências de que a ligação específica de DNA a MTO é um fator importante para o seu mecanismo de ação. No entanto, a natureza exata de sua atividade farmacológica ainda não está completamente compreendida, mas inclui intercalação com DNA para causar inter/intra ligações cruzadas, a inibição da síntese de RNA e DNA topoisomerase II (ZHANG et al., 2010; SCHRÖDER et al., 2011).

Como a relação entre a ligação ao DNA e atividade biológica deste medicamento não é clara, outros mecanismos ou efeitos da membrana celular também são considerados. Estudos mostraram que certos intercaladores podem desnaturar e condensar ácidos nucleicos em solução e em células viáveis *in situ*. KAPUSCINSKI e DARZYNKIEWICZ (1986), apresentaram um trabalho que mostram que os efeitos farmacológicos destas drogas antitumorais poderiam envolver a condensação dos ácidos nucleicos, principalmente de RNA em nucléolos.

Há poucos estudos sobre o efeito das proteínas na transferência de elétrons da droga sobre a sua ligação ao DNA. LI e YANG (2005), mostraram um estudo eletroquímico da ligação intercalatada de MTO-DNA na presença de citocromos c pela técnica de voltametria cíclica em soluções aquosas ácidas. Eles também realizaram experimentos de espectroscopia de absorção UV-Vis para mostrar o processo de interação. Eles propuseram um possível mecanismo de reação (Equação 1.31 e 1.32).



Estes resultados são úteis para estudar o efeito das proteínas sobre a ação de drogas específicas sobre o DNA e potencialmente entender os processos de transferência de elétrons. Nos últimos anos, métodos eletroquímicos ganharam interesses crescentes na investigação da interação do DNA aos medicamentos, devido à sua simplicidade rapidez e economia. LI et al. (2005), estudaram esta interação utilizando a técnica de voltametria cíclica acoplada com diferentes técnicas espectroscópicas (UV/Vis, Fluorescência e Raman). Eles observaram que MTO se liga ao DNA de um modo de intercalação. Estes estudos são importantes para uma melhor compreensão do modo detalhado de interação MTO-DNA, que deve ser de suma importante na visão mais profunda da terapia da MTO.

Embora o medicamento antineoplásico MTO seja amplamente utilizado e apresente-se como potencialmente tóxico, não foram encontrados na literatura através de buscas em bases de dados (web of science, sciencedirect, scopus) trabalhos aplicando os processos oxidativos avançados para degradação deste medicamento, sendo assim é de suma importância estudos que visam à degradação deste antineoplásico possibilitando o desenvolvimento de procedimentos que minimizem os impactos ambientais.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo da degradação do medicamento antineoplásico MTO através de processos oxidativos avançados, utilizando os processos: radiação ultravioleta combinada com peróxido de hidrogênio (UV/H₂O₂), foto-Fenton (UV/H₂O₂/Fonte de ferro), foto-Fenton Solar (radiação solar/H₂O₂/FeOx) e fotólise direta (UV).

2.1. Objetivos específicos:

- Investigar a influência da fonte de ferro (sulfato ferroso, nitrato férrico ou ferrioxalato de potássio), na degradação do medicamento antineoplásico MTO, através do processo foto-Fenton.
- Estudar a influência de Fe(III) sobre a MTO, através de análises voltamétricas e espectrofotométricas.
- Determinar a estequiometria e a constante de complexação do complexo Fe(III)-MTO;
- Avaliar a toxicidade das amostras de degradação para os processos otimizados.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

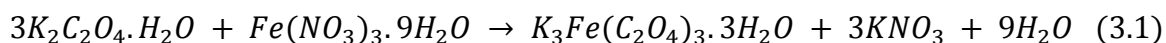
3.1. Degradação

3.1.1. Preparo das soluções do medicamento MTO

Prepararam-se soluções da MTO a partir da formulação comercial (20 mg, Evomixan) e padrão (98,01% Quiral Química do Brasil S/A). As soluções a partir da formulação comercial foram preparadas diluindo o conteúdo do frasco do medicamento em 1 L de água deionizada (nas concentrações finais de 20 ou 40 mg L⁻¹). As soluções a partir do padrão foram preparadas pesando-se 40,8 mg do padrão e diluindo em 1 L de água deionizada. Essas soluções foram utilizadas para os ensaios de degradações dependendo do experimento almejado.

3.1.2. Síntese do complexo de ferrioxalato de potássio (K₃Fe(C₂O₄)₃·3H₂O)

O complexo foi sintetizado baseado na reação entre oxalato de potássio (K₂C₂O₄·H₂O) (Dinâmica) e nitrato de ferro (III) (Fe(NO₃)₃·9H₂O) (Vetec) (Equação 3.1) (NOGUEIRA et al., 2002).



Em um béquer revestido externamente com papel alumínio, pesou-se 20,45 g de nitrato férrico monohidratado e 27,63 g de oxalato de potássio. Adicionou-se água deionizada e esta mistura foi aquecida até aproximadamente 100°C. Após completa solubilização deixou-se em repouso por 24 h a temperatura controlada de 20°C em um banho termostático. Recristalizou-se o complexo três vezes e os cristais foram secos em estufa a 45°C. O complexo foi, então, aplicado nos ensaios de degradação.

3.1.3. Ensaios de degradação utilizando sistema com lâmpada UV

3.1.3.1. Montagem Experimental

Os experimentos foram conduzidos em um reator fotoquímico com 1 L de capacidade fabricado de vidro e um bulbo de quartzo para inserção da fonte de radiação (Figura 3.1.A). O reator foi encamisado por um tubo de PVC (Figura 3.1.B) acoplado a um banho termostático com recirculação com a finalidade de manter a temperatura da solução controlada em 30°C. A radiação ultravioleta foi proporcionada por uma lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão 125 W sem o bulbo protetor (PHILIPS, HPL-N), posicionada no interior de um tubo de quartzo (Figura 3.1.C). A homogeneização da solução durante o experimento foi

promovida por um agitador magnético. Para coleta das alíquotas da solução foi utilizado um sistema montado com um tubo de vidro acoplado a uma mangueira fina (Figura 3.2).

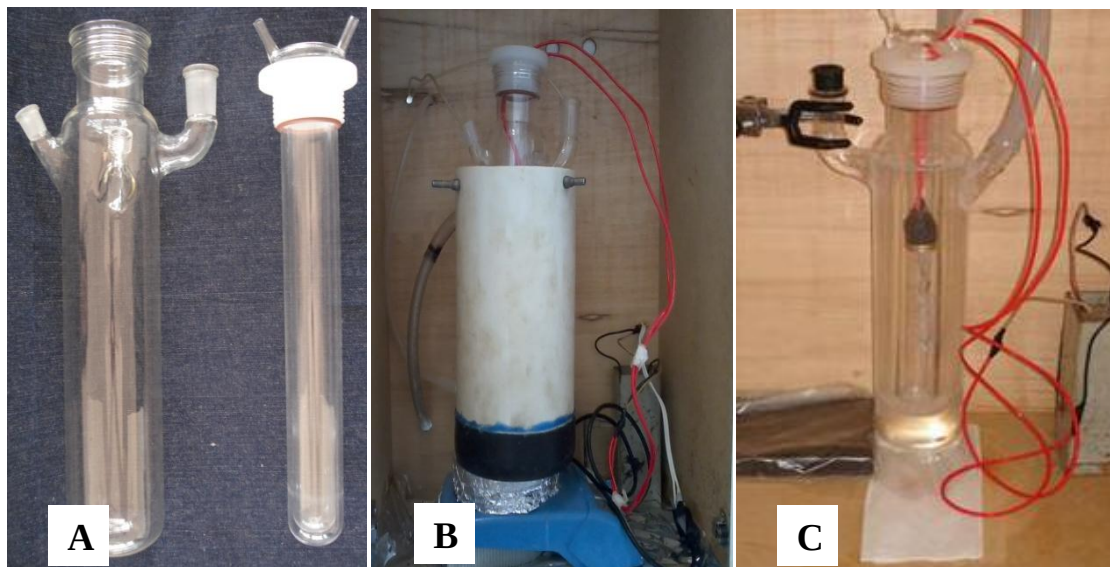


Figura 3.1: Fotografias: **A)** Reator e tubo de quartzo, **B)** Sistema encamisado com tubo de PVC e **C)** Lâmpada posicionada no reator.



Figura 3.2: Fotografia do sistema de coleta de amostra.

3.1.3.2. Experimentos de Degradação

Os estudos foram realizados com solução aquosa de MTO de formulação comercial nas concentrações de 20 e 40 mg L⁻¹ com pH ajustado para 3,00±0,30 com adição de H₂SO₄ concentrado (Dinâmica). Nos experimentos que utilizaram fonte de ferro, foi adicionado proporção adequada de nitrato férrico, sulfato ferroso (Dinâmica) ou ferrioxalato de potássio, diluída na própria solução do medicamento e adicionada ao reator.

A degradação foi realizada de acordo com as seguintes etapas: preparo da solução; transferência para o reator; coleta de amostra; adição da fonte de ferro (quando necessário); nova coleta de amostra; lâmpada acionada; 5 minutos de espera (para atingir a emissão máxima de fótons) e adição de solução de peróxido de hidrogênio ao sistema periodicamente em um fluxo de 1 mL min^{-1} , com o auxílio de uma bomba peristáltica (Marconi, modelo MA 2400/4M). Alíquotas de amostras foram coletadas em tempos adequados durante o período de reação. Em todas as amostras que continham ferro foram adicionadas 5-6 gotas de KOH 10 mol L^{-1} para precipitar o ferro residual. Em seguida a amostra foi filtrada com micro-filtro (Millipore, Millex-GV, tamanho de poro de $0,22 \mu\text{m}$) com auxílio de uma seringa. Corrigiu-se o pH das amostras para $3,0 \pm 0,3$ com solução de H_2SO_4 e KOH 50%.

A degradação da MTO pelo processo foto-Fenton foi realizada em diferentes condições experimentais. Experimentos iniciais de degradação de 20 mg L^{-1} de MTO foram realizados variando a concentração de sulfato ferroso ($0,13$ e $0,27 \text{ mmol L}^{-1}$) e H_2O_2 (2 e 4 mmol L^{-1}) adicionado a um fluxo constante de $0,1$ e $0,2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$, respectivamente, durante 20 min. Na degradação de 40 mg L^{-1} do medicamento, foram adicionados $0,54 \text{ mmol L}^{-1}$ de nitrato férrico, sulfato ferroso ou ferrioxalato de potássio. A concentração de H_2O_2 foi de $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ adicionado a um fluxo de $0,47 \text{ mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ durante 40 min. Outro experimento foi realizado utilizando $0,27 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeOx e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

Nos processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e fotólise direta (UV) foram realizados experimentos na concentração de 20 e 40 mg L^{-1} de MTO e a concentração de H_2O_2 variou em $9,4$ e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.1.4. Ensaios de degradação utilizando sistema com radiação solar

O experimento sob radiação solar foi feito em um frasco aberto de vidro transparente de 5 cm de altura e 26 cm de diâmetro, sob agitação constante. O volume de 1 L de solução foi diretamente irradiado após adição dos reagentes. A solução de H_2O_2 foi adicionada periodicamente ao sistema com o auxílio de uma bomba peristáltica. O experimento foi realizado em dia claro, com alta incidência de luz e com a mínima presença de nuvens entre $12:00$ e $14:50$ horas.

O experimento foi realizado pelo processo foto-Fenton solar utilizando 40 mg L^{-1} do medicamento. Foram adicionados $0,54 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeOx e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 (adicionado a um fluxo de $0,47 \text{ mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ durante 40 min).

3.1.5. Análise dos produtos de degradação

3.1.5.1. Carbono orgânico total (COT)

A quantidade de COT foi determinada utilizando um analisador de carbono orgânico total – Analytik Jena (modelo: Multi N/C 2100) fundamentado na oxidação catalítica a elevadas temperaturas e na determinação de CO_2 por espectroscopia no infravermelho. As análises foram realizadas com ensaios em triplicata, injetando 250,0 μL de amostra no equipamento na determinação do carbono inorgânico (CI) e carbono total (CT) separadamente.

Para a realização destas análises foram realizadas curvas de calibração segundo o procedimento descrito no manual do equipamento: prepararam-se soluções estoques de COT, utilizando hidrogenoftalato de potássio, na concentração de 1000 mg L^{-1} de carbono, e de CI, utilizando carbonato de sódio e hidrogênio carbonato de sódio, na concentração de 1000 mg L^{-1} . A partir destas soluções preparou-se uma mistura de solução estoque contendo 1000 mg L^{-1} de CT + 500 mg L^{-1} de CI. Diluições foram realizadas nas concentrações de 5, 10, 15, 25, 50, 100, 250 e 500 mg L^{-1} e a curva de calibração construída.

3.1.5.2. Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível

Análises de espectrofotometria de absorção foram efetuadas na região do ultravioleta-visível (de 200 a 850 nm) para amostras de medicamentos e produtos de degradação, em um espectrofotômetro UV-Vis, HITACHI modelo U-3000, usando-se cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho ótico. Todas as amostras dos experimentos de degradação foram submetidas à análise foram diluídas com água deionizada na razão 1:1.

3.1.5.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Outra técnica utilizada para o monitoramento da MTO durante os experimentos foi à cromatografia líquida de alta eficiência. O equipamento utilizado foi um cromatógrafo Varian ProStar Workstation, detector espectrofotométrico UV/Vis, coluna de fase reversa HICHROM[®] C18 (250 x 4,60 mm, 5,00 μm), em uma eluição isocrática utilizando como fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L^{-1} , pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min^{-1} e detecção em 658 nm (ALBERTS et al., 1985). Nestas condições experimentais, determinou-se uma curva analítica da MTO no intervalo de concentração de 0,16 a 40,0 mg L^{-1} .

3.1.5.4. Avaliação da citotoxicidade

A atividade citotóxica da MTO e dos produtos de degradação foi avaliada utilizando-se metodologia padronizada no laboratório de Biologia Molecular e Culturas Celulares da UFMS (BOGO et al., 2010; GARCEZ et al., 2011; MICHELETTI et al., 2011), usando a linhagem de células normais, NIH/3T3 (ATCC–CRL 1658, fibroblasto murino), adquirida do Banco de células do Rio de Janeiro.

As soluções de MTO (1 L na concentração de 40 mg L⁻¹) submetidas à degradação pelos processos de foto-Fenton (utilizando FeOx) e H₂O₂/UV foram congeladas e liofilizadas no liofilizador (L4KR-Edwards), operando a temperatura de -40°C e sob vácuo, durante aproximadamente 10 dias. 100 mg do pó resultante foi solubilizado em 1 mL de Dimetilsulfóxido, DMSO, e em seguida alíquotas das amostras foram diluídas em meio de cultura, de tal forma que a concentração final do solvente (DMSO) não excedesse 0,5%. O mesmo procedimento foi efetuado para o branco (todos os reagentes utilizados nos processos de degradação exceto MTO, após serem submetidos à radiação UV por 2h e 20 min).

As células NIH/3T3 foram cultivadas em frascos estéreis na presença de Meio Mínimo Essencial modificado por Dulbecco (DMEM) suplementados com 10% de soro fetal bovino, 100 U/mL de penicilina, 0,1 mg mL⁻¹ de estreptomicina e 0,25 µg mL⁻¹ de anfotericina (meio completo) em uma incubadora mantidas a 37°C em atmosfera úmida contendo CO₂ (5%) (FRESHNEY, 2005). Uma vez que estas células são aderentes, a sua remoção foi feita com a solução de tripsina (0,25 % + EDTA 1 mmol L⁻¹) em tampão fosfato-salino, PBS, em pH 7,4. Em seguida, as células foram transferidas para tubos cônicos de 96 poços contendo meio de cultura completo. Centrifugou-se a baixa rotação, desprezou o meio e a tripsina. Ressuspendeu as células em pequeno volume de meio completo. A contagem foi feita com uma alíquota dessas células em uma câmara de Neubauer para que em cada cavidade da placa de 96 poços fosse depositado um volume de 100 µL de meio contendo 7.000 - 10.000 células. Após 20 horas, para permitir a fixação das células semeadas, o meio foi aspirado para a adição das amostras. As células foram expostas a várias doses (0,01; 0,025; 0,25; 2,5; 25 e 250 µg mL⁻¹) de MTO ou das amostras submetidas à degradação (pelos processos foto-Fenton e FeOx e UV/H₂O₂), sendo que em cada dose de MTO ou amostras foram adicionadas a 3 cavidades da placa, para a realização dos experimentos em triplicata. As células foram incubadas por mais 48h. Também foram adicionadas a cavidades em triplicata, somente o meio de cultura, como um controle negativo e, adicionalmente, o branco.

Ao final de 48 horas o meio foi removido e substituído por 100 µL de ácido tricloroacético (TCA) 40%. As placas foram incubadas por 30 minutos, a 4°C em geladeira, e,

posteriormente a solução TCA foi removida e as placas lavadas 5 vezes com água corrente. Adicionou-se às placas 50 μL de 0,1% do corante sulforodamina B (SRB) diluído em ácido acético, e novamente foram incubadas por mais 30 minutos em temperatura ambiente. Para remover o excesso de corante, lavou-se as placas 4 vezes com ácido acético 1%, retirou-se o meio e adicionou-se 100 μL de tampão Tris Base 10 mmol L^{-1} (tris hidroximetil aminometano). Após agitação durante 15 minutos, foi determinada a absorbância a 540 nm. A inibição de crescimento (%) de cada amostra foi calculada utilizando-se as fórmulas segundo Monks e colaboradores (MONKS et al., 1991). Como parâmetro para a citotoxicidade, foi utilizado o valor da IC_{50} (concentração que inibe 50% do crescimento celular). Os cálculos da IC_{50} foram determinados em programa de análises de dados (Origin Versão 6.0) a partir das diferenças de leituras de absorbância entre o controle negativo e amostras de MTO e/ou após serem submetidas à degradação.

3.2. Interação da MTO com ferro

3.2.1. Análises Voltamétricas

Experimentos eletroquímicos foram realizados em um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB usando uma célula eletroquímica com três eletrodos, uma rede de Pt, como eletrodo auxiliar, eletrodo de Ag/AgCl, KCl 3 mol L^{-1} , como eletrodo de referência e eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho. A técnica de voltametria de pulso diferencial foi empregada nas seguintes condições: intervalo de potencial de +0,0 a +1,2 V, tempo de equilíbrio de 15 s, amplitude de pulso de 25 mV e a velocidade de varredura 2 mVs^{-1} . Como eletrólito de suporte utilizou-se solução tampão Britton-Robinson (BR) 0,16 mol L^{-1} de pH 3,00 preparada pela mistura dos reagentes supra puros ácido bórico (Acros Organics), acético (Vetec) e orto-fosfórico (Acros Organics) com ajuste de pH com solução de hidróxido de sódio (Acros Organics) 0,8 mol L^{-1} .

Nestes estudos, utilizou-se o medicamento de formulação padrão na concentração de 0,1 mmol L^{-1} na cela eletroquímica. Foram registrados voltamogramas de MTO com adições de Fe(III) no intervalo de concentração de 0,05 a 3,4 mmol L^{-1} . Verificou-se, também, a influência de FeOx, Fe(II), Fe(III) na concentração de 0,7 mmol L^{-1} e após adição de adição de 24,32 mmol L^{-1} de H_2O_2 .

3.2.2. Análises Espectrofotométricas

Foram realizadas titulações espectrofotométrica da MTO $3,86 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com Fe(III), no intervalo de $2,5 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em pH 3,00. Para realização das titulações

padronizou-se a solução de Fe(III), com EDTA $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando ácido salicílico 3%, como indicador. A diminuição da absorbância do complexo formado entre Fe(III) e ácido salicílico, $[\text{Fe(III)(AS)}_3]$, foi monitorada espectrofotometricamente em 525 nm. (PEREIRA et al., 2011).

Utilizando a solução padronizada preparou-se soluções estoques de Fe(III), na concentração de $5,83 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,83 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Realizou-se a titulação adicionando volumes adequados de soluções estoques de Fe(III), na solução de MTO de tal modo que o volume final adicionado de Fe(III) fosse insignificante em relação ao volume total de MTO. Foram realizadas titulações em triplicata.

3.3. Experimento de Actinometria

O fluxo de fótons da lâmpada utilizada nos experimentos de degradação foi determinado por actinometria com ferrioxalato de potássio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ (BRAUN et al., 1991).

Uma solução complexante de 1,10-fenantrolina (Sigma-Aldrich) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão acetato de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada. Colocou-se 20 mL desta solução em tubos revestidos com papel alumínio.

A solução de ferrioxalato de potássio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ (1 L) foi preparada a partir de ácido oxálico (Vetec) e nitrato férrico (Vetec) e transferida para o reator fotoquímico. Uma amostra inicial foi coletada antes de iniciar o processo e a lâmpada foi acionada para iniciar o experimento, realizado sob agitação constante. Amostras foram coletadas a cada 15 s durante 10 minutos.

Aos tubos contendo a solução complexante adicionou-se 0,20 mL das amostras, e estas permaneceram em repouso em ambiente escuro durante 1 hora. Após este período, mediu-se a absorbância do complexo formado, $\text{tris(1,10-fenantrolina)-Fe}^{2+}$ ($[\text{Fe(fen)}_3]^{2+}$) em 510 nm. Algumas amostras foram submetidas à diluição quando se fez necessária.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Actinometria

A actinometria química é uma medida simples da taxa de incidência de fótons em um reator fotoquímico de geometria específica e para um domínio espectral luminoso bem definido (BRAUN et al., 1991).

A incidência de fótons emitida pela lâmpada utilizada em todos os experimentos foi medida através da actinometria de ferrioxalato de potássio descrito previamente na literatura (Braun et al., 1991). Neste método utiliza-se a actinometria de ferrioxalato de potássio, apropriado para UV-Vis de 250 a 436-500 nm, com rendimento quântico conhecido ($\Phi_{Ac\lambda}$), aproximadamente igual a 1,24 (BRAUN et al., 1991). A irradiação da solução aquosa de ferrioxalato provoca a redução fotoquímica de Fe(III) a Fe(II) (Equação 1.21). A quantidade de Fe(II) formada no intervalo de tempo de irradiação é determinada espectroscopicamente medindo-se a absorbância do complexo formado pelo íon Fe(II) e 1,10-fenantrolina (complexo tris(1,10-fenantrolina)-Fe²⁺, ([Fe(fen)₃]²⁺) em 510 nm. Este método analítico é muito sensível, já que o coeficiente de absorção molar do complexo Fe(II)-fenantrolina é igual a 11.000 L mol⁻¹ cm⁻¹ (BRAUN et al., 1991).

A emissão de radiação policromática pela lâmpada ocorre em comprimentos de onda (λ) discretos. Assim, a partir da Equação 4.1, obtém-se a expressão para cálculo da potência radiante incidente no reator fotoquímico:

$$L_{incidente} = \frac{(\Delta n_{\Delta c} / \Delta t)_{exp} N}{\sum \left[\frac{S_{e\lambda} (1 - 10^{-Ac,\lambda}) \Phi_{Ac,\lambda} T_{\lambda}}{E_{f,\lambda}} \right]} = \frac{(\Delta n_{\Delta c} / \Delta t)_{exp} N}{\sum \left[\frac{S_{e\lambda} (1 - 10^{-Ac,\lambda}) \Phi_{Ac,\lambda} T_{\lambda}}{hc / \lambda} \right]} \quad (4.1)$$

em que $S_{e\lambda}$, corresponde à potência radiante relativa da lâmpada para cada λ ; T_{λ} é a transmitância do material da parede do poço em que se insere a lâmpada; $E_{f,\lambda}$ é a energia de um fóton de λ (J fóton⁻¹), calculada pela Lei de Planck ($E_{f,\lambda} = hc / \lambda$), sendo h a constante de Planck (6,626x10⁻³⁴ J s⁻¹); c é a velocidade da luz (3,0x10⁸ ms⁻¹) e N é o número de Avogadro (6,02x10²³).

A taxa de incidência de fótons, P_0 , é calculada pela Equação 4.2:

$$P_0 = \sum_{\lambda} \left[\frac{S_{e,\lambda} T_{\lambda}}{E_{f,\lambda}} \right] L_{incidente} \quad (4.2)$$

A Figura 4.1 apresenta taxa de formação de Fe(II) produzido pela fotólise, utilizando lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão (125 W), de uma solução de ferrioxalato de potássio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, determinada espectrofotometricamente em 510 nm. Calculou-se, a partir dos dados obtidos neste gráfico, a taxa de incidência de fótons (P_0) desta lâmpada, através da Equação 4.2, obtendo-se o valor de $4,59 \times 10^{21} \text{ fótons s}^{-1}$.

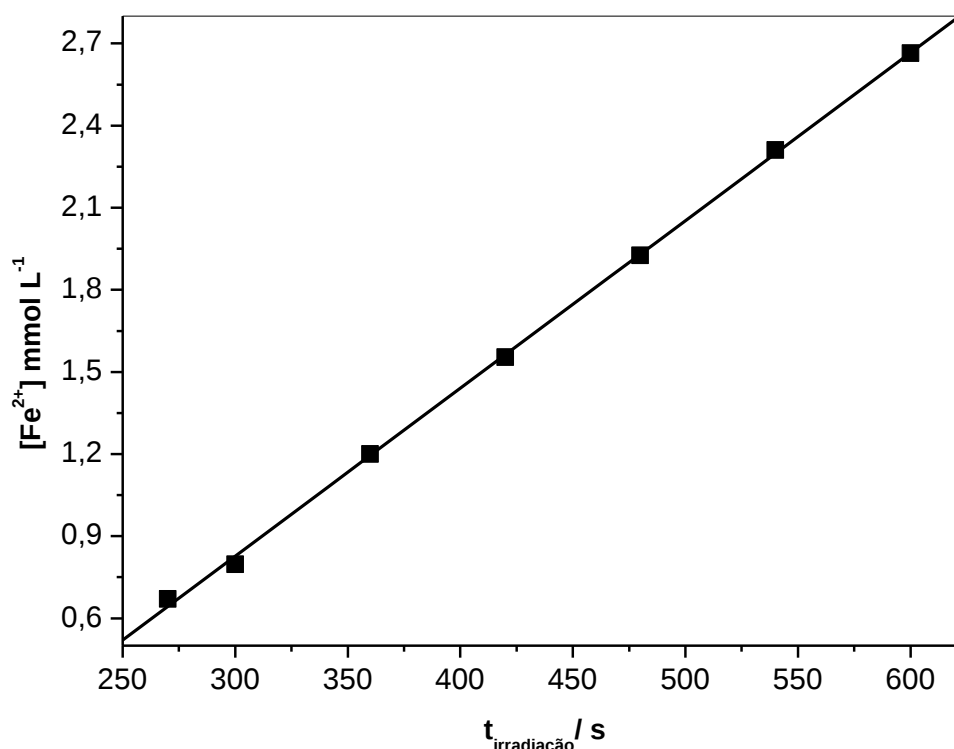


Figura 4.1: Taxa de formação de Fe(II) produzido pela fotólise (lâmpada de vapor de mercúrio 125 W) de uma solução de ferrioxalato de potássio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$.

4.2. Monitoramento dos experimentos de degradação

Os experimentos de degradação foram monitorados pelas seguintes determinações analíticas: COT, análises de espectrofotometria de absorção e CLAE.

COT é considerado a soma de todos os carbonos ligados a espécies orgânicas dissolvidas ou não. Assim, através da conversão dessas moléculas a CO_2 e suas medidas quantitativas, fornece informações relativas à mineralização dos compostos orgânicos presentes. As medidas de COT indicam a eficiência da degradação, já que pela diferença: $\text{COT} = \text{CT} - \text{CI}$, onde CT = carbono total e CI = carbono inorgânico (carbonato e bicarbonato), consegue-se estabelecer quanto de matéria orgânica foi transformada em sais de carbonato e bicarbonato, ou seja, foi mineralizada. Para determinação de CI ocorre a mistura da amostra com ácido fosfórico determinando-se o carbono inorgânico e para a determinação de CT é realizado através da combustão da amostra.

Determinou-se a curva de calibração de CI e CT no intervalo de 5 a 500 mg L⁻¹ e os dados obtidos foram os seguintes: Área = 257 + 957μg L⁻¹ [CI], R = 0,999 e SD = 2,29 e Área = 524,27 + 2,77 mg L⁻¹ [CT], R = 0,999 e SD = 5,38.

As amostras de degradação foram monitoradas por análises de espectrofotometria de absorção. Análises espectrofotométricas (Figura 4.2) demonstraram que a absorção máxima da MTO é localizada em torno de 608 e 658 nm atribuída à transição $n \rightarrow \pi^*$ do cromóforo antraquinona (CARNEIRO et al., 2007; LI et al., 2005). Estas bandas de absorção do cromóforo antraquinona, geralmente na região visível, são atribuídas a substituição do anel antraquinona por substituintes doadores de elétrons, tais como grupos hidroxila e amino (LI et al., 2005). Na molécula da MTO esses tipos de grupos, hidroxila e amino, estão ambos presentes, assim, as referidas bandas de absorção são atribuídas à transição de carga destes substituintes para o anel antraquinona (LI et al., 2005).

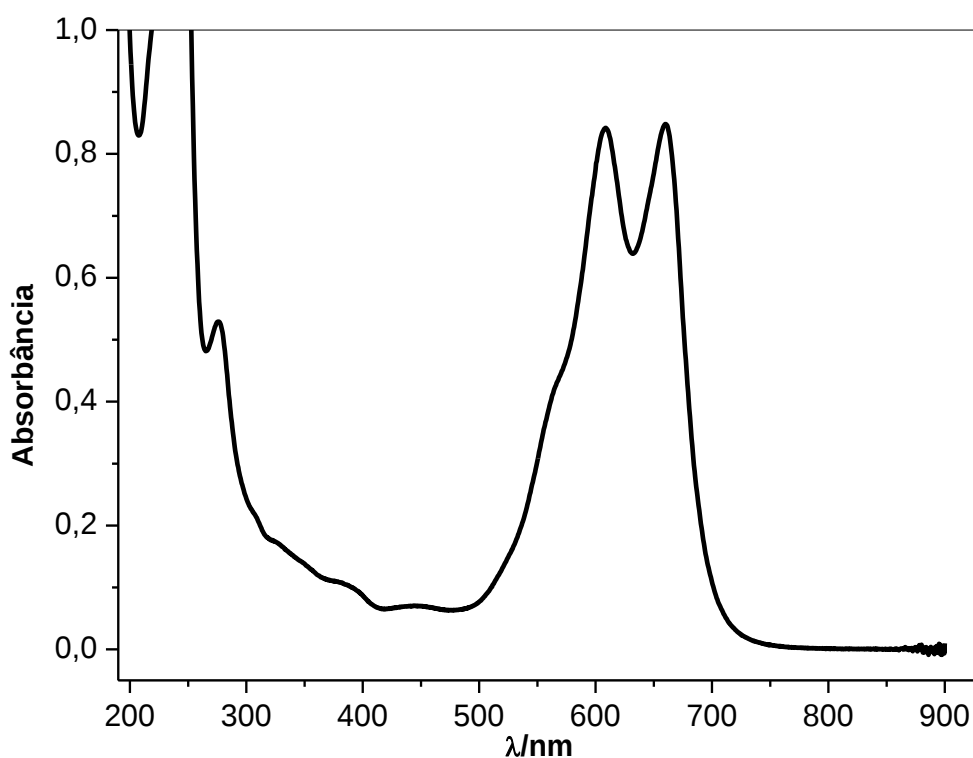


Figura 4.2: Espectro de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L⁻¹.

A Figura 4.3 mostra a influência da variação de pH nos espectros de absorção UV-Vis de soluções aquosas de MTO. Verifica-se que as bandas de absorção são fortemente dependentes do pH do meio. Um máximo de absorção da MTO é observado entre pH 5,00 e 6,00. No intervalo de pH entre 1,00 e 3,00, há um decréscimo na intensidade da banda de absorção da MTO, provavelmente devido à protonação dos grupos aminos da MTO (GOLABI e HASSAN-ZADEH, 1996). Mudanças espectrais significativas são observadas em valores de

pH superiores à 9,00, onde observa-se, além da diminuição na intensidade da absorbância de ambas as bandas, uma total supressão da banda de absorção em 658 nm e alargamento da banda de absorção em 608 nm em pH 13,00. Este comportamento, possivelmente, é devido à ionização dos grupos hidroxilas existente no anel aromático da MTO (GOLABI e HASSAN-ZADEH, 1996).

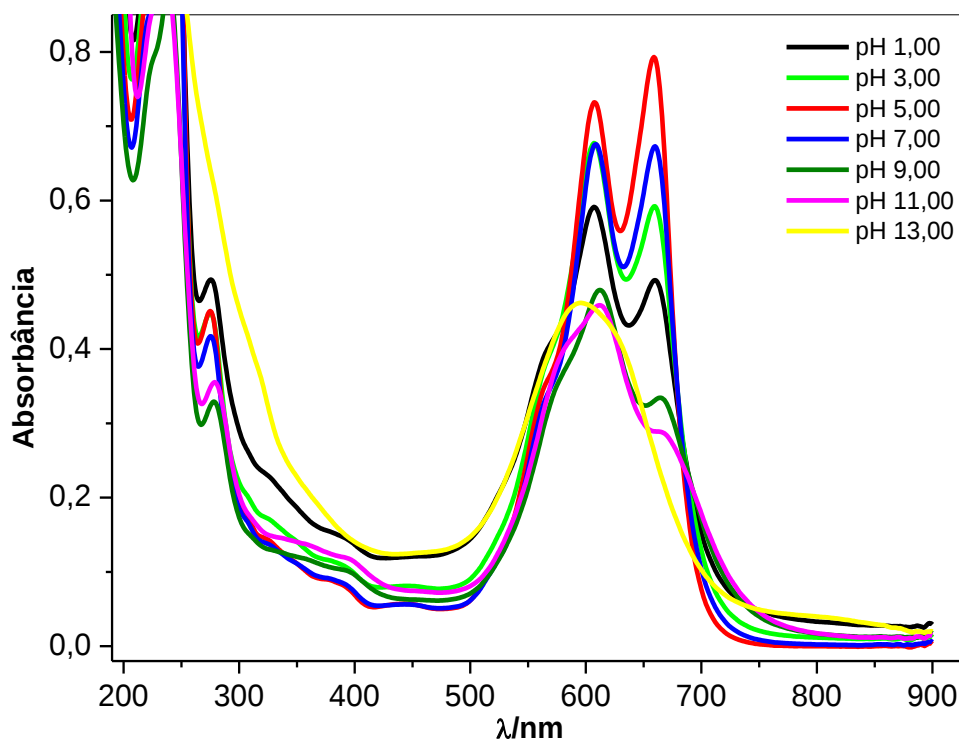


Figura 4.3: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L⁻¹ preparadas em soluções com diferentes valores de pH.

Os experimentos de degradação também foram acompanhados por CLAE. O comprimento de onda de detecção foi definido de acordo com o espectro de absorção da MTO, 658 nm. Sob estas condições, (coluna de fase reversa C18; acetato de amônio (0,2 mol L⁻¹, pH=4,00) : acetonitrila (75:25) como fase móvel; vazão de 1,5 mL min⁻¹), MTO apresenta um pico no tempo de retenção de 3,5 minutos, como mostram os cromatogramas, Figura 4.4, obtidos para determinação da curva analítica do medicamento, Figura 4.5. A partir dos dados da curva analítica foi possível calcular o limite de detecção (LD = 3 (s/S),) e o limite de quantificação (LQ = 10 (s/S); onde s é a estimativa do desvio padrão da curva analítica e S é o coeficiente angular da reta. Os limites de detecção e quantificação determinados para a MTO foram: 0,61 mg L⁻¹ e 2,03 mg L⁻¹, respectivamente. A curva analítica obtida foi: Área = -4650,77 + 22902,08 [MTO mg L⁻¹], R = 0,999 e SD = 4660,90.

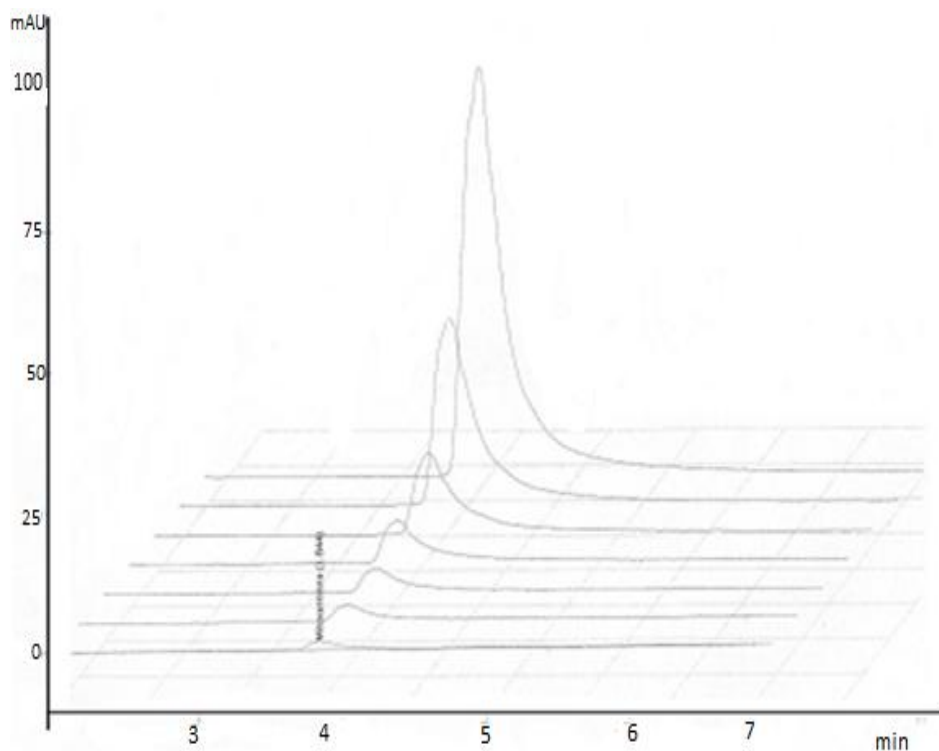


Figura 4.4: Cromatogramas da MTO nas seguintes concentrações: 10; 5; 2,5; 1,25; 0,63; 0,31; 0,16 mg L⁻¹. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol.L⁻¹, pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 658 nm.

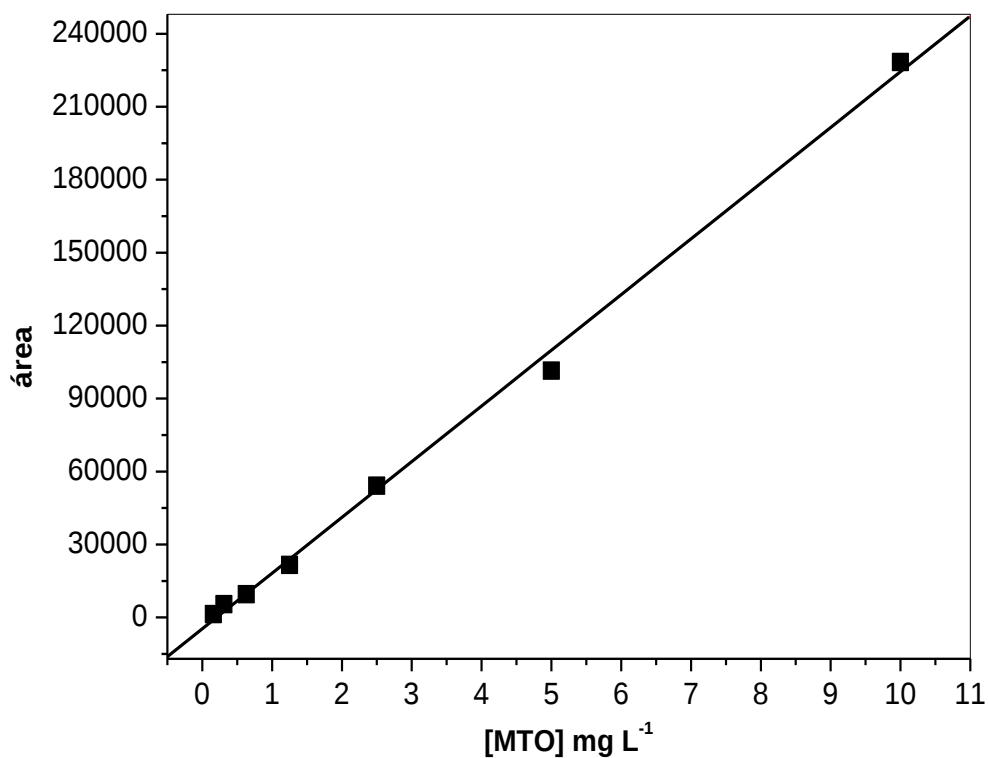


Figura 4.5: Curva analítica para determinação da MTO. Condições cromatográficas: fase móvel: acetato de amônio (0,2 mol L⁻¹, pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 658 nm.

4.3. Processo foto-Fenton: Influência da fonte de ferro

4.3.1. Estudos iniciais

As principais variáveis que influenciam a eficiência do processo foto-Fenton são as concentrações de ferro, peróxido de hidrogênio e a radiação UV. Outros fatores são as condições de reação, representadas por pH, temperatura e quantidade de matéria orgânica. O pH tem um papel importante na determinação da eficiência da oxidação de foto-Fenton. A degradação máxima realizada por foto-Fenton é esperada entre pH 2,50 e 3,50 (NEYENS e BAEYENS, 2003; PIGNATELLO et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2007).

Inicialmente foram realizados experimentos de degradação utilizando 20 mg L⁻¹ do medicamento MTO em diferentes concentrações de Fe(II) e H₂O₂, e um experimento utilizando Fe(III). O grau de mineralização foi avaliado por determinações de COT. A Tabela 4.1 apresenta % de mineralização obtida no final dos processos. Os resultados apresentam baixa remoção de carbono orgânico.

Pela análise dos resultados, observa-se que variando a fonte de ferro e mantendo as demais condições experimentais idênticas (0,27 mmol L⁻¹ de Ferro e 4 mmol L⁻¹ de H₂O₂) não houve influência significativa na remoção de COT, 14% e 16% de remoção de COT, com Fe²⁺ e Fe³⁺, respectivamente. Comparando os experimentos utilizando Fe²⁺ e Fe³⁺ na mesma concentração (0,27 mmol L⁻¹) e variando a concentração de H₂O₂, observou-se que aumentando a concentração de H₂O₂ obteve-se uma diminuição da porcentagem de mineralização por um fator de 2, isto porque em geral um excesso de peróxido de hidrogênio no meio pode favorecer a combinação radical-radical produzindo novamente H₂O₂ (Equação 1.26), os radicais hidroxila gerados podem também reagir com H₂O₂ produzindo radicais hidroperoxila (HO₂•) (Equação 1.27), que apresenta um menor potencial redox (E⁰ = 1,42V), provocando redução na eficiência do processo.

Tabela 4.1: Mineralização obtida para a degradação de soluções de MTO 20 mg L⁻¹ pelo processo foto-Fenton em diferentes concentrações de ferro e H₂O₂:

[Ferro]/mmol L ⁻¹	[H ₂ O ₂]/ mmol L ⁻¹	% de mineralização
0,27 (Fe ²⁺)	4,00	14
0,13 (Fe ²⁺)	4,00	35
0,27 (Fe ²⁺)	2,00	33
0,27 (Fe ³⁺)	4,00	16

A MTO possui sítios complexantes como nitrogênio e oxigênio, podendo indisponibilizar o ferro para a reação de Fenton. Segundo a literatura (HERMAN et al., 1997),

MTO complexa com Fe(III) formando um complexo estável de estequiometria 1:2 Fe(III)-MTO em pH 7,4. Deste modo, a seguir, avaliou-se a possibilidade da formação de complexo de íons ferro com o medicamento MTO, através de análise voltamétrica e espectrofotométrica, para melhor avaliar os resultados obtidos na degradação da MTO pelo processo foto-Fenton.

4.3.2. Análises voltamétricas: interação MTO-Fe

O mecanismo de oxidação eletroquímica da MTO é um processo de várias etapas que envolvem geração de radicais livres e rearranjos estruturais, e os substituintes, grupos amino e hidroxila, nos anéis aromáticos da MTO são suscetíveis à oxidação. A MTO é uma base fraca com $pK_{a1}=5,9$ e $pK_{a2}=8,13$ (BRETT et al., 1999).

Análises voltamétricas mostraram que a MTO apresenta dois picos de oxidação em potencial de cerca de +0,54 V e +0,67 V (Figura 4.6). O primeiro pico corresponde à oxidação dos substituintes hidroxilas existentes no anel aromático da molécula MTO, e o segundo pico corresponde à oxidação da cadeia lateral aminoalquil após rearranjo estrutural tautomérico (BRETT et al., 1999).

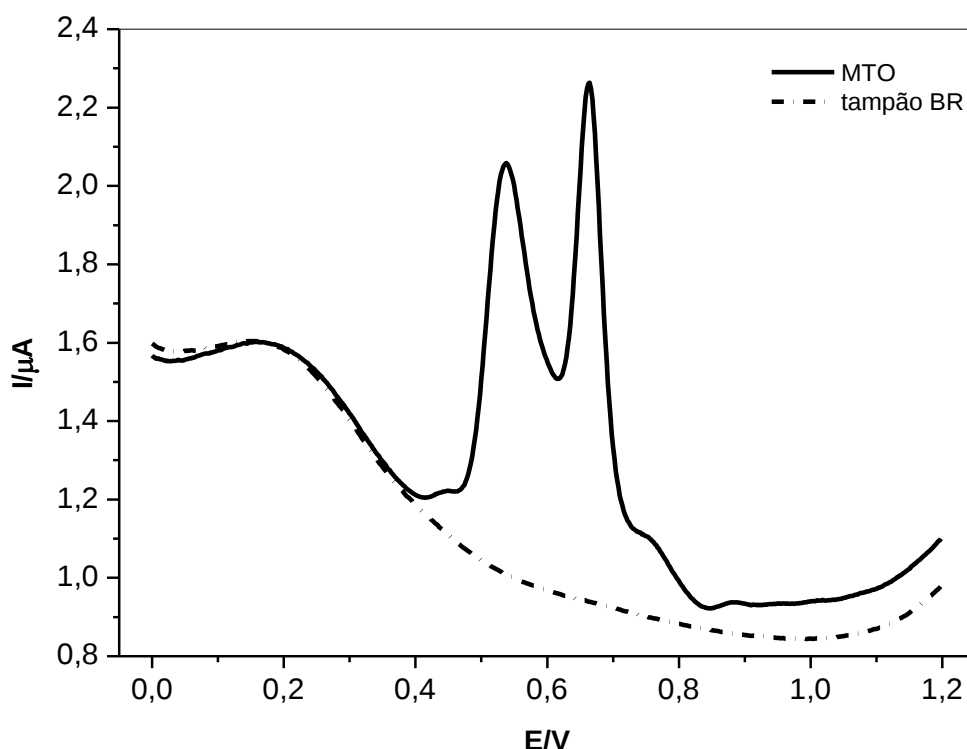
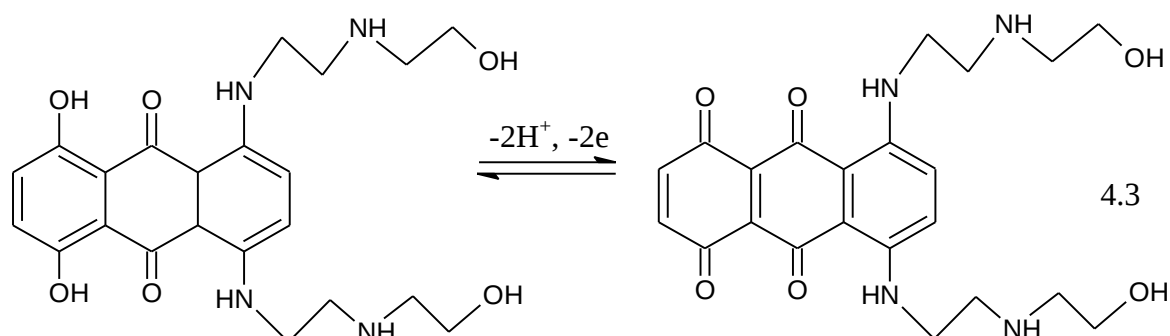


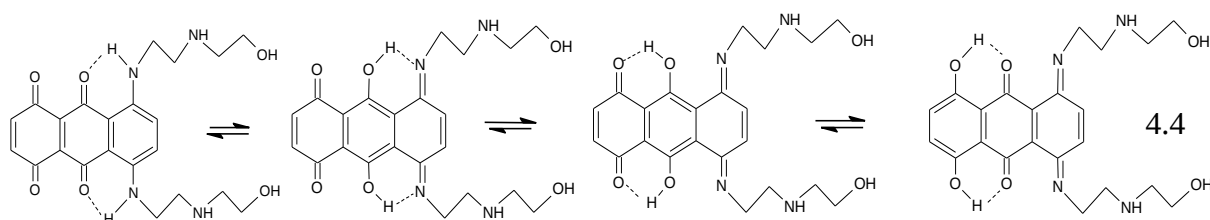
Figura 4.6: Voltamograma de pulso diferencial para MTO $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR de pH 3,00 sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV; velocidade de varredura 2 mV s^{-1} .

O mecanismo detalhado proposto por BRETT, et al. (1999), para a oxidação eletroquímica da MTO pode ser descrito segundo as reações apresentadas abaixo (Equação

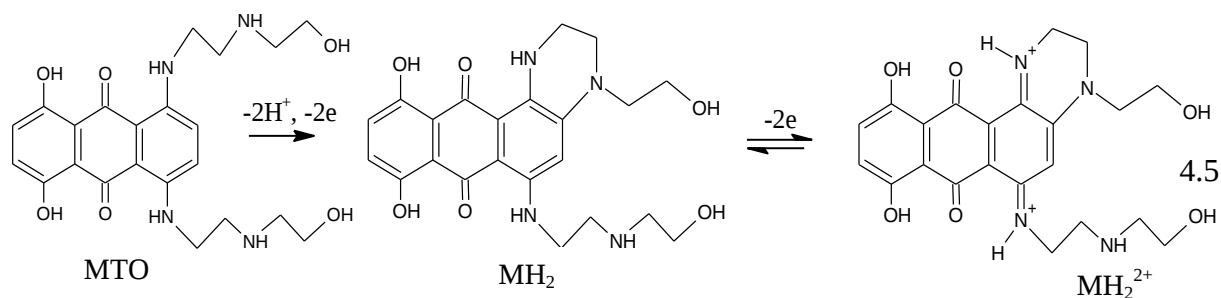
4.3-4.5). A oxidação dos substituintes hidroxilas no anel aromático na MTO correspondente ao primeiro pico de oxidação que ocorre em potenciais menos positivos (Equação 4.3).



Um equilíbrio tautomérico foi proposto para explicar a formação de um tautômero, onde a adição intramolecular do nitrogênio da cadeia lateral é favorecida, e corresponde ao segundo pico de oxidação, em potencial mais positivo (Equação 4.4).



Após os rearranjos estruturais tautoméricos, ocorre à oxidação do substituinte aminoalquil da molécula da MTO (Equação 4.4). A oxidação deste substituinte gera o metabólito cíclico estável exahidronaftol-[2,3]quinoxalina-7,12-diona, representado como MH_2 . Após a formação desse metabólico a reação prossegue gerando espécies radiculares. Essas espécies formadas oxidam o metabólito MH_2 , convertendo a um composto instável, diimino, representado como MH_2^{+2} (Equação 4.5). Segundo a literatura (BRETT, et al., 1999) dez metabólitos da oxidação da MTO foram identificados, mas as estruturas de muitos deles ainda são desconhecidos.



Como mencionado anteriormente, MTO pode complexar com ferro. Para avaliar a formação deste complexo análises voltamétricas foram realizadas e são apresentadas abaixo.

Voltametricamente, embora não se observou alteração no perfil voltamétrico, houve supressão parcial dos picos de oxidação da MTO, em +0,54 e +0,67 V, quando Fe(III) foi adicionado. Na presença de Fe(II) verificou-se modificação no perfil voltamétrico da MTO, possivelmente, devido a uma competição entre a oxidação de Fe(II) a Fe(III) e a oxidação da MTO (Figura 4.7).

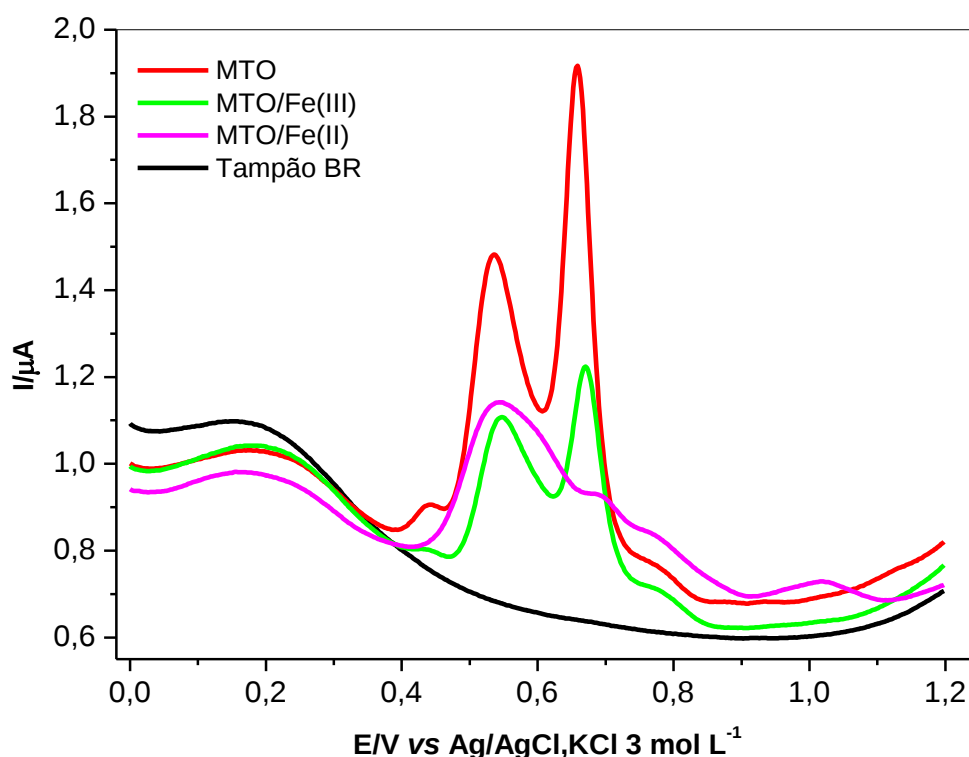


Figura 4.7: Voltamogramas de pulso diferencial para MTO 0,1 mmol L⁻¹ em tampão BR (pH 3,00), com adição de 0,7 mmol L⁻¹ de Fe(III) e Fe(II) sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV; velocidade de varredura 2 mV s⁻¹.

A seguir, verificou-se a influência da concentração de Fe(III), no intervalo de concentração de 0,05 a 3,4 mmol L⁻¹ em solução de MTO 0,1 mmol L⁻¹. Com adições sucessivas de Fe(III) à MTO, embora não se tenha observado alteração no perfil voltamétrico, houve supressão parcial dos picos de oxidação da MTO (Figura 4.8), obtendo-se diminuição de 66% da corrente do primeiro pico de oxidação e diminuição de 80% da corrente do segundo pico de oxidação da MTO.

A Figura 4.9 apresenta a dependência da corrente do segundo pico de oxidação da MTO em função da concentração de Fe(III) adicionado. Pela análise da Figura, verifica-se uma diminuição do valor de corrente do segundo pico de oxidação da MTO até a concentração de 0,22 mmol L⁻¹ e, posteriormente, uma região de valores praticamente

constantes de corrente de pico. Pequenas quantidades de um precipitado escuro foram observadas na célula eletroquímica, impedindo análises voltamétricas precisas em elevadas concentrações de Fe(III). No entanto, foi possível verificar as mudanças no perfil voltamétrico da MTO com adições de Fe(III). Estas mudanças constituem fortes evidências para a formação de complexo de Fe(III)-MTO.

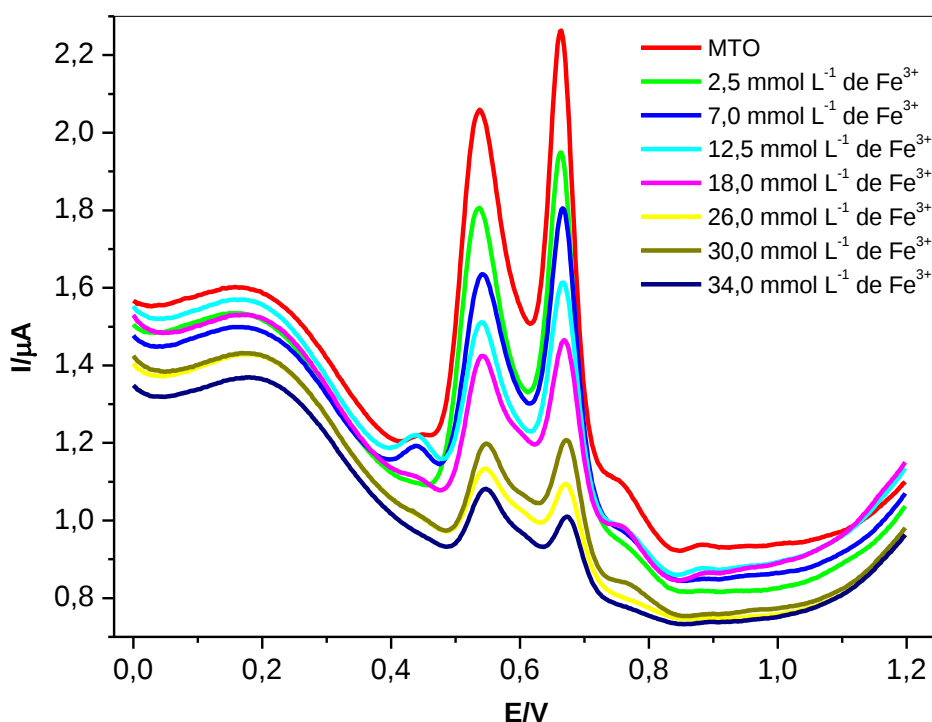


Figura 4.8: Voltamogramas de pulso diferencial para MTO $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR (pH 3,00), com diferentes concentrações de Fe(III), sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV; velocidade de varredura 2 mV s^{-1} .

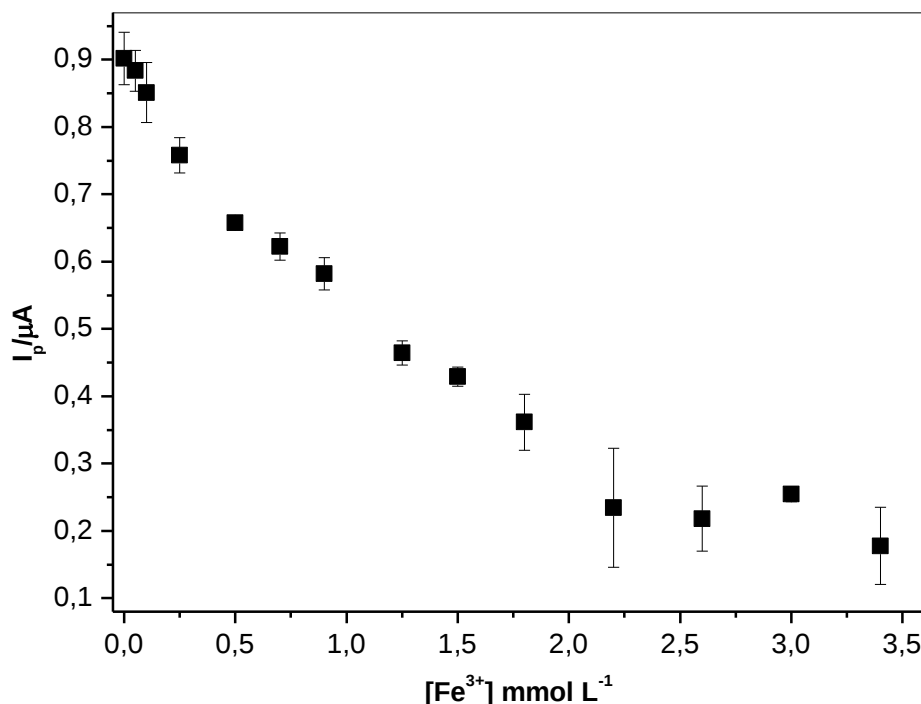


Figura 4.9: Dependência da corrente de pico em função da concentração de Fe(III) para voltamogramas de pulso diferencial da oxidação da MTO 0,1 mol L⁻¹ em tampão BR (pH 3,00), sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV; velocidade de varredura 2 mV s⁻¹.

4.3.3. Análises espectrofotométricas: interação MTO-Fe

A interação entre ferro e MTO também foi avaliada espectrofotometricamente. Estas análises demonstraram que a adição de Fe(III) causa significativas mudanças espectrais da MTO. Observa-se supressão da banda de absorção na presença de sais de ferro (III) (Figura 4.10), além de deslocamento e aumento das bandas observadas na região UV. Entretanto, a adição de ferro (II) não causa mudanças no espectro de absorção da MTO.

Deste modo, acredita-se que a baixa eficiência na degradação da MTO pelo processo foto-Fenton utilizando Fe(II) e Fe(III), como fonte de ferro (35-14% de remoção de COT, Tabela 4.1), possivelmente foi devido à complexação, uma vez que as análises voltamétricas (Figura 4.7) e de espectrofotometria de absorção UV-Vis (Figura 4.10) indicam que a MTO forma complexo com Fe(III), devido as alterações significativas observadas quando o medicamento esta na presença de sais de ferro (III).

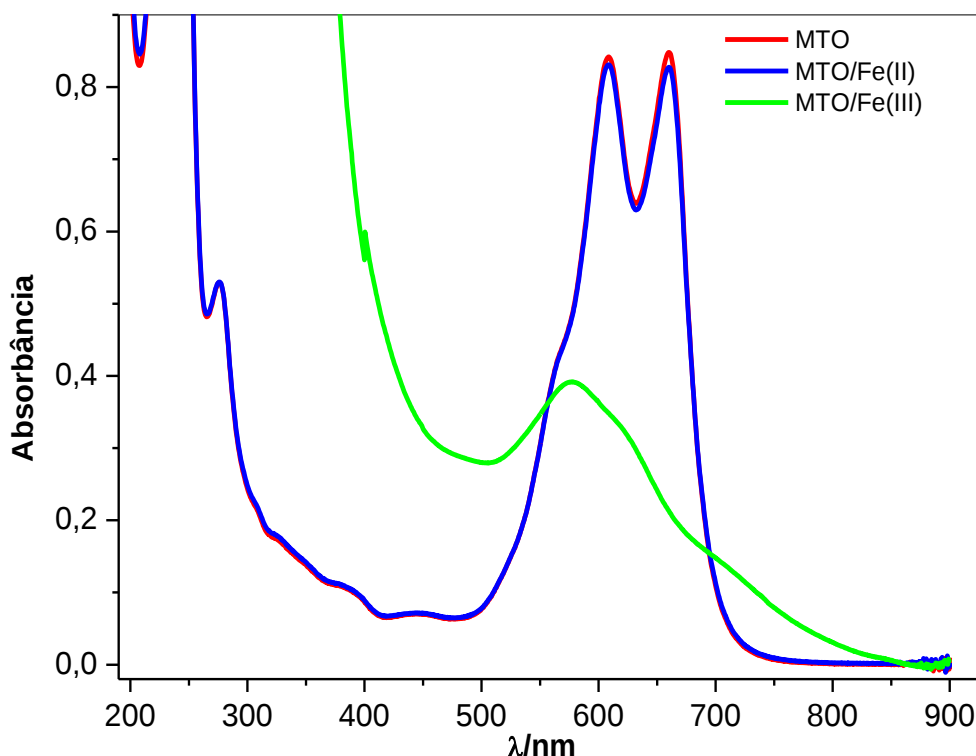


Figura 4.10: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L⁻¹ e após adição de 0,27 mmol L⁻¹ de fonte de ferro.

Analizou-se, então, o comportamento da MTO na presença de diferentes concentrações de Fe(III). Realizaram-se titulações de soluções de MTO 38,6 µmol L⁻¹ (pH 3,00), com adições sucessivas de Fe(III), no intervalo de concentração de 2,5x10⁻⁶ a 1,0x10⁻³ mol L⁻¹. A Figura 4.11 apresenta os espectros de absorção da titulação espectrofotométrica de MTO com Fe(III). Verificam-se significativas mudanças espectrais, observando-se que os máximos de absorção diminuíram e um ombro surgiu na região de 350-550 nm.

A fim de determinar a estequiometria do complexo, mediu-se a absorbância em 450 nm, a cada adição de Fe(III). Através da intersecção dos dois segmentos lineares obtém-se a proporção de ferro que complexa com a MTO. Nestas condições experimentais, o ponto de intersecção foi 2,33±0,06, indicando a estequiometria de 2:1 Fe³⁺:MTO (Figura 4.12). Esses efeitos espectrais foram semelhantes aos encontrados por Herman e colaboradores (Herman et al., 1997). Neste estudo, os pesquisadores realizaram titulação de MTO com Fe(III) em pH 7,4, obtendo uma estequiometria do complexo 1:2 Fe(III)-MTO.

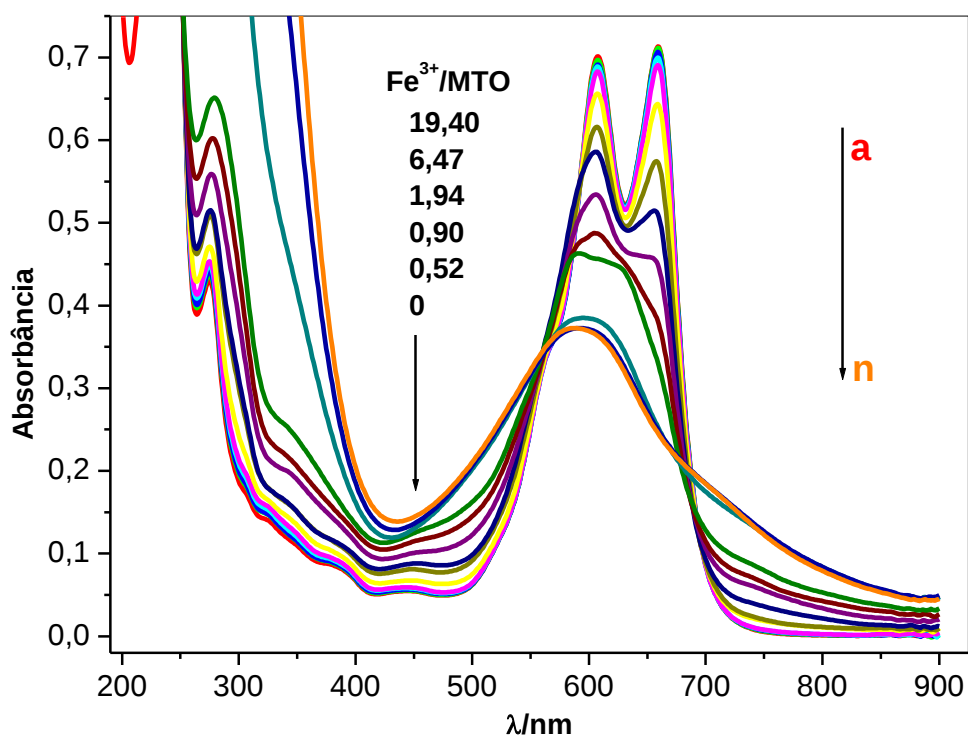


Figura 4.11: Espectros de absorção na região UV-Vis da titulação da MTO $38,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ (pH 3,00), com adições sucessivas de Fe(III): **a)** MTO; **b)** $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; **c)** $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; **d)** $7,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; **e)** $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **f)** $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **g)** $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **h)** $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **i)** $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **j)** $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; **k)** $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; **l)** $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; **m)** $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; **n)** $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

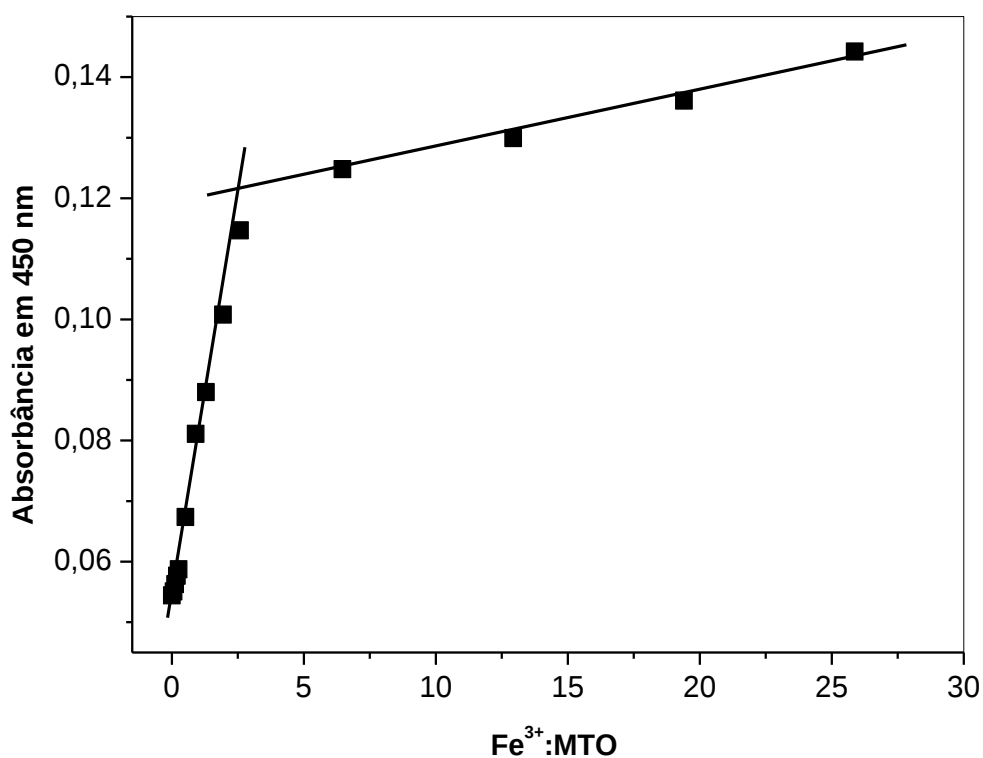


Figura 4.12: Dependência da absorbância (450 nm) do complexo vs proporção de Fe^{3+} :MTO.

Baseados nas mudanças espectrais das bandas de absorção da MTO após adição de Fe(III), a constante de complexação, K , foi calculada de acordo com a Equação 4.6 (LI et al., 2005):

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} \frac{1}{K[Fe^{3+}]} \quad (4.6)$$

onde A_0 e A são as absorbâncias do medicamento na ausência e presença de Fe^{3+} (medida em 450 nm), ε_G e ε_{H-G} são os coeficientes de absortividade molar do medicamento e do complexo com Fe^{3+} , respectivamente. O gráfico de $A_0/(A - A_0)$ versus $1/[Fe^{3+}]$ foi construído (Figura 4.13) utilizando os dados da titulação espectrofotométrica de MTO com Fe(III) em pH 3,00. Através da regressão linear obteve-se a constante de complexação, $K = 1,47 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, indicando que a MTO tem alta afinidade por Fe^{3+} .

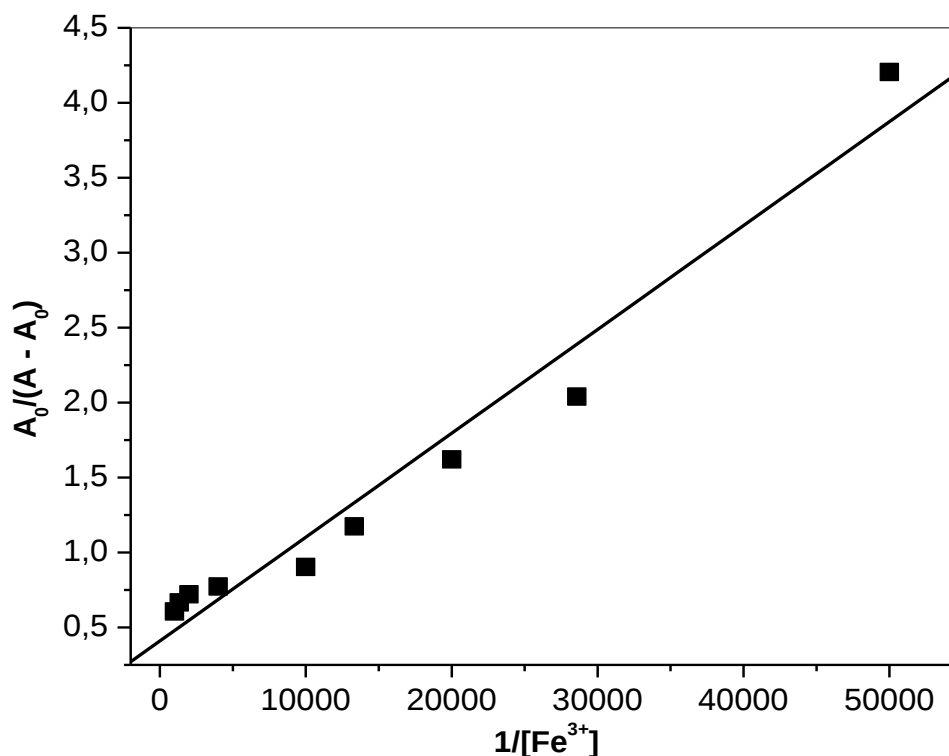


Figura 4.13: Dependência de $A_0/(A - A_0)$ em função de $1/[Fe^{3+}]$ plotados utilizando os dados da titulação espectrofotométrica de MTO com Fe(III) em pH 3,00.

4.3.4. Degradação do medicamento antineoplásico MTO: influência da fonte de ferro

Estudos recentes demonstram que a fonte de ferro pode ter grande influência na degradação dos compostos por processo foto-Fenton (NOGUEIRA; SILVA; TRÓVO, 2005). A utilização de complexos orgânicos de ferro na degradação de contaminantes em reações foto-Fenton tem sido destacada como vantajosa, considerando a estabilização do ferro em uma faixa mais ampla de pH em relação aquela na ausência de complexos. Por outro lado, o

aumento da carga orgânica resultante da adição de ligantes orgânicos é considerada desvantajosa por alguns autores. No entanto, tem sido demonstrado que o aumento da carga orgânica no sistema não é uma desvantagem, pois estudos mostram que, em geral, os ligantes são totalmente mineralizados durante o processo (LEE, et al., 2003, NOGUEIRA et al., 2005).

Analizou-se então, a possibilidade de utilizar como fonte de ferro, FeOx, para posterior aplicação no processo foto-Fenton, devido ao fato de que a MTO complexa com Fe(III), pois possui sítios complexantes como nitrogênio e oxigênio, podendo indisponibilizar o ferro para a reação de Fenton. Inicialmente verificou-se a interação da MTO com FeOx através de análises voltamétricas e espectrofotométricas. A Figura 4.14 apresenta o voltamograma da MTO e da MTO após adição de FeOx e para comparação o voltamograma da MTO após adição de Fe(III). Verifica-se menor supressão parcial dos picos de oxidação da MTO após adição de FeOx (diminuição de 26% da corrente do segundo pico de oxidação) em comparação a Fe(III) (diminuição de 59% da corrente do segundo pico de oxidação). A Figura 4.15 mostra o espectro de absorção UV-Vis do medicamento MTO e do medicamento MTO após adição de FeOx e de Fe(III). Verifica-se houve parcial supressão das bandas de absorção da MTO com adição das duas fontes de ferro, entretanto, não houve deslocamento de bandas na presença de FeOx. Essas características sugerem que complexo FeOx pode minimizar a complexação do íon ferro com a molécula da MTO. Aplicou-se então, FeOx como uma das fontes de ferro na degradação da MTO no processo foto-Fenton, a fim de tentar obter melhores porcentagens de mineralização da MTO.

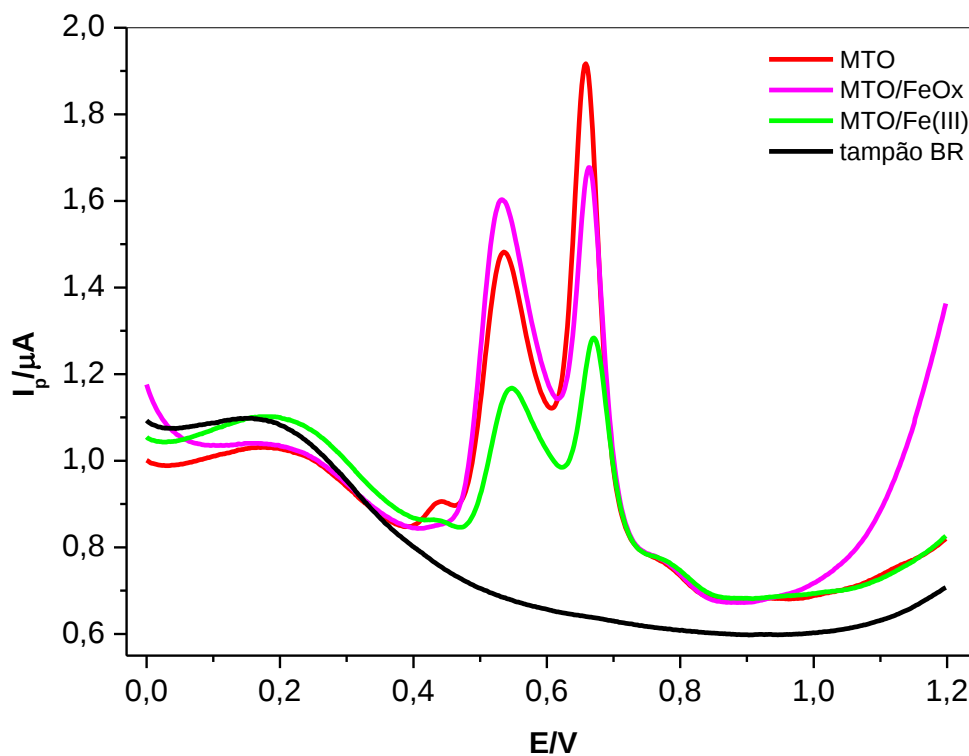


Figura 4.14: Voltamogramas de pulso diferencial para MTO $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e após adição de $0,7 \text{ mmol L}^{-1}$ FeOx sobre eletrodo de carbono vítreo; amplitude de pulso de 25 mV ; velocidade de varredura 2 mV s^{-1} .

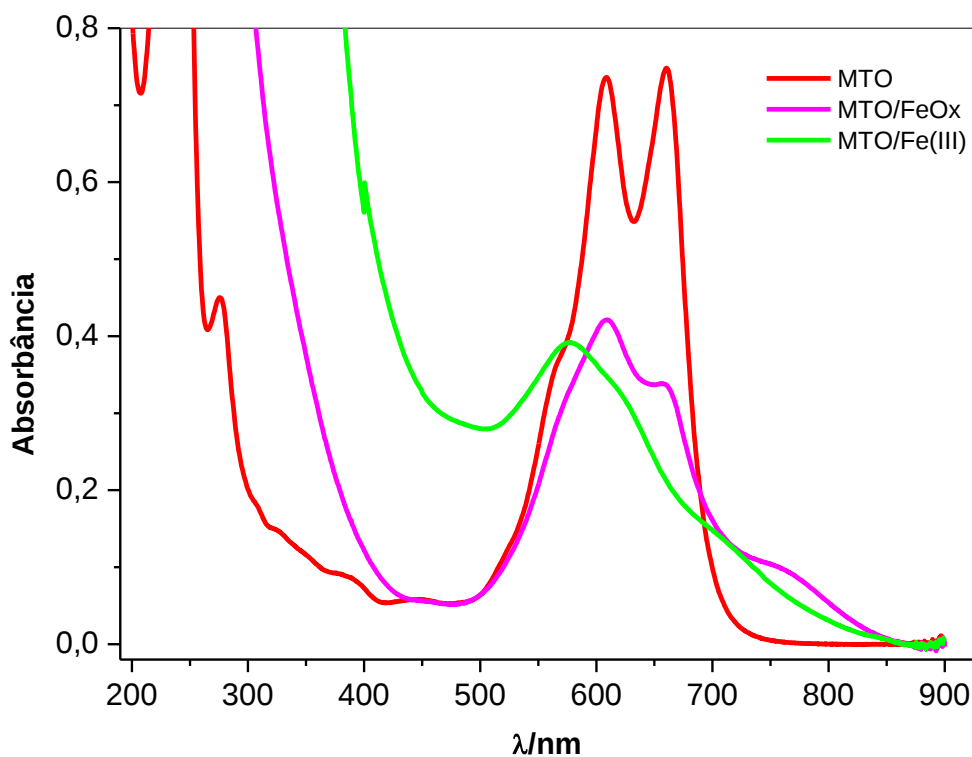


Figura 4.15: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 20 mg L^{-1} e após adição de $0,27 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeOx.

O FeOx é muito utilizado como fonte de ferro, devido além das vantagens anteriormente citadas, a irradiação de FeOx apresenta rendimento quântico de geração de Fe(II) = 1,24 em 300 nm enquanto a irradiação de aquo-complexos de ferro possui rendimento quântico de geração de Fe(II) que varia de 0,067 ($\lambda = 365$ nm) a 0,113 ($\lambda = 313$ nm), (NOGUEIRA e GUIMARÃES, 2000). Isso significa que a fotorredução de Fe(III) a Fe(II) é muito mais favorecida quando FeOx é irradiado, disponibilizando, assim, Fe(II) para a continuação do ciclo e a consequente, geração de HO[•], razão pela qual foi proposto para utilização em processo foto-Fenton, cujos resultados são bastante superiores aos obtidos com sais de ferro (NOGUEIRA e GUIMARÃES, 2000).

Realizaram-se experimentos utilizando concentração de 40 mg L⁻¹ do medicamento MTO pelo processo foto-Fenton, utilizando Fe(II), Fe(III) e FeOx como fonte de ferro. Também realizou-se um experimento utilizando MTO de formulação padrão ao invés de formulação comercial, e um experimento variando a concentração de FeOx. Os experimentos de degradação foram monitorados pelas seguintes determinações analíticas: COT, análises de espectrofotometria de absorção e CLAE.

A Figura 4.16 apresenta os resultados de mineralização dos experimentos de degradação utilizando o processo foto-Fenton utilizando diferentes fontes de ferro. Os resultados demonstraram pouca eficiência do processo com Fe(II) (60% de remoção de COT). Utilizando Fe(III), obteve-se 77% de mineralização e utilizando FeOx como fonte de ferro (82% de mineralização). Ao contrário da suposição inicial de que o FeOx seria mais eficiente na degradação da MTO pelo fato dos íons ferro estarem complexados, Fe(III) mostrou-se tão eficiente quanto a utilização de FeOx na mineralização da MTO.

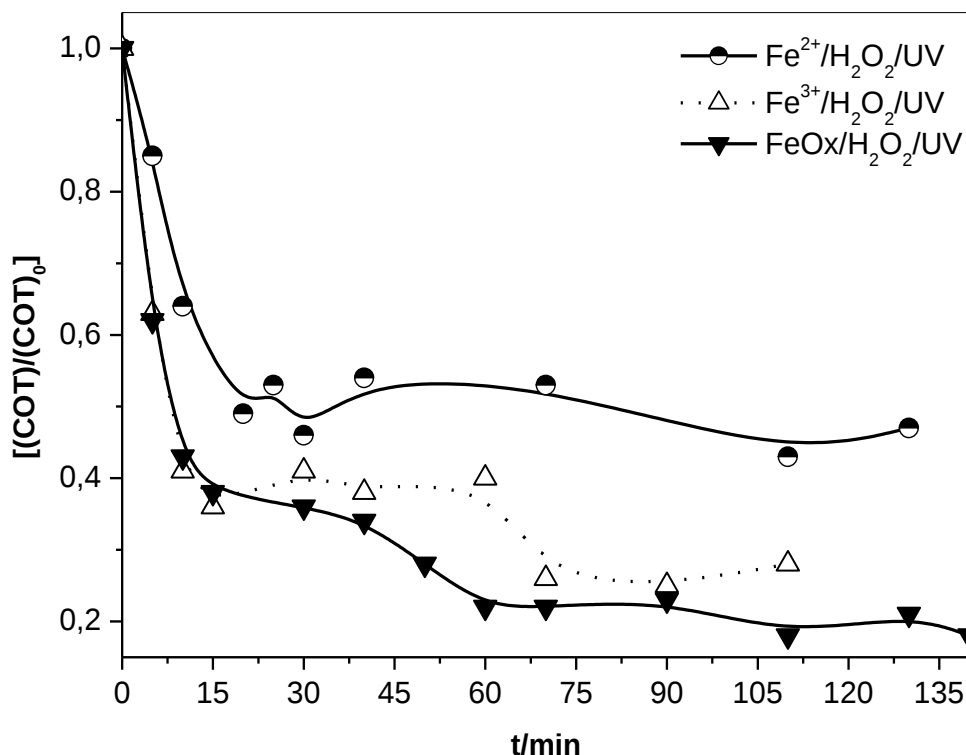


Figura 4.16: Comparação entre as diferentes fontes de ferro para a degradação da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L⁻¹ de ferro e 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂).

Para determinação da cinética e constante da taxa de mineralização (k_m) da MTO os dados foram analisados segundo o gráfico de $\ln[COT_t/COT_0]$ vs tempo de reação (t/min), onde COT é a quantidade de COT em um determinado tempo e COT_0 é quantidade de COT inicial.

A Figura 4.17 mostra o gráfico de cinética de mineralização da MTO durante o processo foto-Fenton aplicando diferentes fontes de ferro, nas condições experimentais acima citadas. Em todos os casos a relação $\ln[COT_t/COT_0]$ vs tempo é linear, indicando que a mineralização segue uma cinética de pseudo-primeira ordem, com valores de k_m , iguais a 0,045 min⁻¹ ($R=0,999$), 0,089 min⁻¹ ($R=0,988$) e 0,084 min⁻¹ ($R=0,998$), para o processo foto-Fenton utilizando Fe(II), Fe(III) e FeOx, respectivamente.

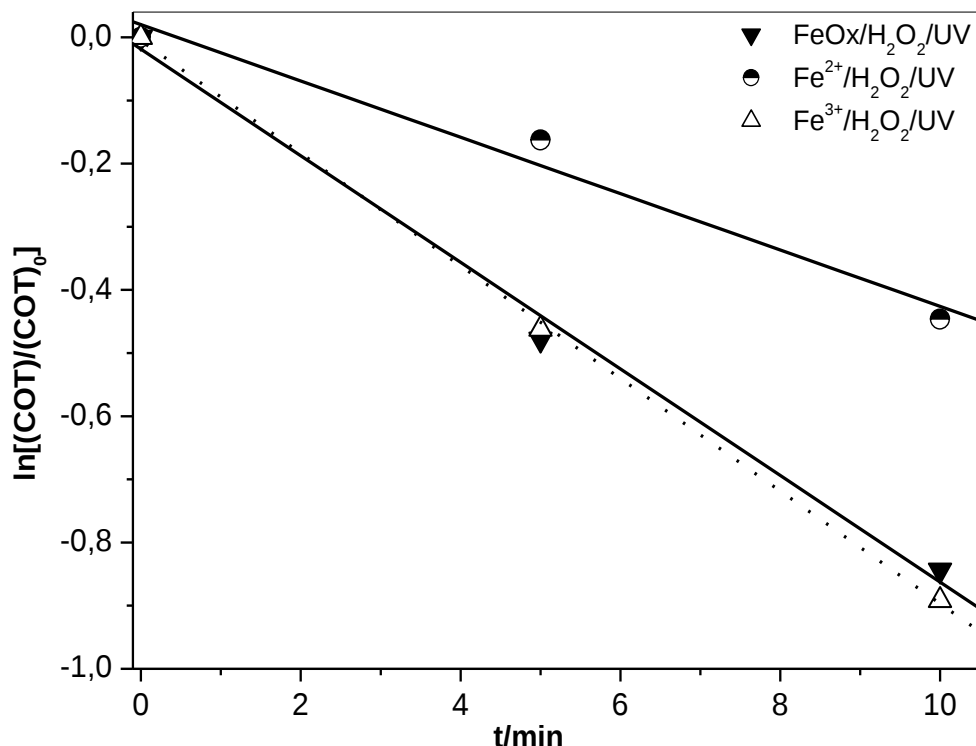


Figura 4.17: Cinética de mineralização da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo foto-Fenton utilizando diferentes fontes de ferro (0,54 mmol L⁻¹ de Ferro e 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂).

Embora estes resultados preliminares de degradação indiquem que a degradação da MTO, utilizando como fonte de ferro, Fe(III), seja mais eficiente do que utilizando Fe(II), esperava-se o contrário, uma vez que a redução de Fe(III) por H₂O₂ (Equação 1.3) ($k = 0,01 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) (NEYENS e BAEYENS), é muito mais lenta que a redução do H₂O₂ por Fe(II) (Equação 1.1) ($k = 70 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) (NEYENS e BAEYENS), e portanto, utilizando Fe(II), haveria uma maior mineralização, devido a uma maior produção de radicais HO[•]. Entretanto, a MTO complexa com Fe(III), e, por transferência de elétrons de esfera interna, converte Fe(III) em Fe(II) mais eficientemente. Qualquer reação ou processo que aumenta a taxa de conversão de Fe(III) em Fe(II) acelera a velocidade da reação Fenton (CHEN e PIGNATELLO, 1997). Quimicamente, a reação Fenton pode ser eficientemente catalisada por certos tipos de moléculas orgânicas, especialmente benzoquinonas ou derivados de dihidroxibenzeno (DHB). A influência catalítica de DHBs na reação Fenton foi originalmente relatada por Hamilton e colaboradores (HAMILTON et al., 1966a, 1966b). Em moléculas aromáticas, tais como a MTO, os DHBs, como, por exemplo, catecol ou hidroquinona e seus análogos, são intermediários iniciais comuns de degradação. A presença desses intermediários no meio reacional pode resultar em um eficiente ciclo redox catalisado por DHB na conversão de

Fe^{3+} a Fe^{2+} (CHEN e PIGNATELLO, 1997; NOGUEIRA et al., 2005). Provavelmente isso explica o fato de Fe^{3+} ser mais eficiente que Fe^{2+} na degradação da MTO.

As Figuras 4.18 a 4.20 mostram os espectros de absorção das amostras de degradação do processo foto-Fenton, com diferentes fontes de ferro. Observa-se pela análise dos espectros de absorção UV-Vis que no processo que utiliza FeOx (Figura 4.18), houve uma menor supressão das bandas de absorção do medicamento na região visível no início do processo em comparação a utilizando Fe(II) e Fe(III) livre (Figura 4.19 e 4.20, respectivamente), essa supressão é devido a formação de complexo de Fe(III)-MTO. Com FeOx, como fonte de ferro, os espectros de absorção UV-Vis mostraram um decaimento gradual das bandas de absorção (em 608 e 658 nm) com o aumento do tempo de degradação, e houve completa supressão das bandas de absorção do medicamento no término da degradação (140 min). Estes resultados são comprovados pelos baixos valores de COT encontrados nestas amostras, indicando que o medicamento foi praticamente mineralizado. Através da análise dos espectros de absorção UV-Vis, Figura 4.20, verifica-se uma maior absorção na região UV utilizando Fe(III), isto, provavelmente, se deve ao fato de formação de subprodutos que absorvem nesta região.

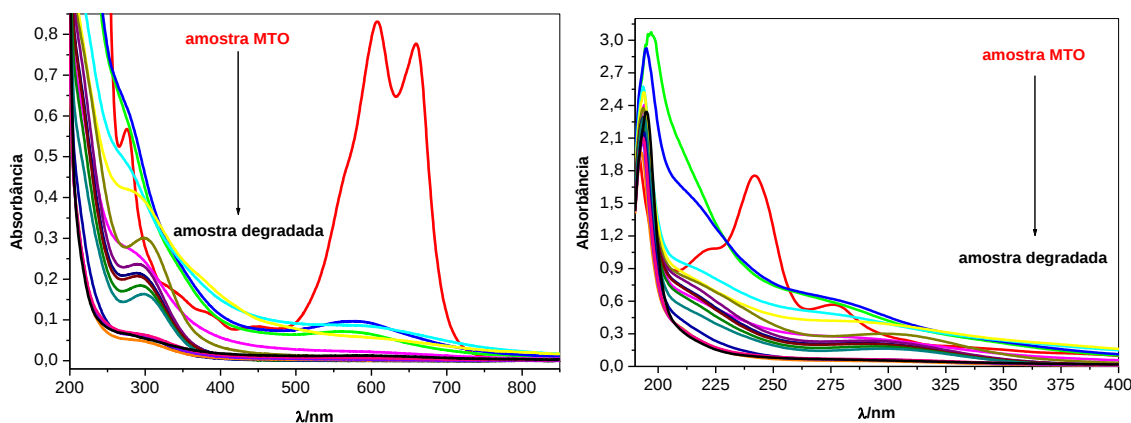


Figura 4.18: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L^{-1} pelo processo foto-Fenton, utilizando FeOx como fonte de ferro: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

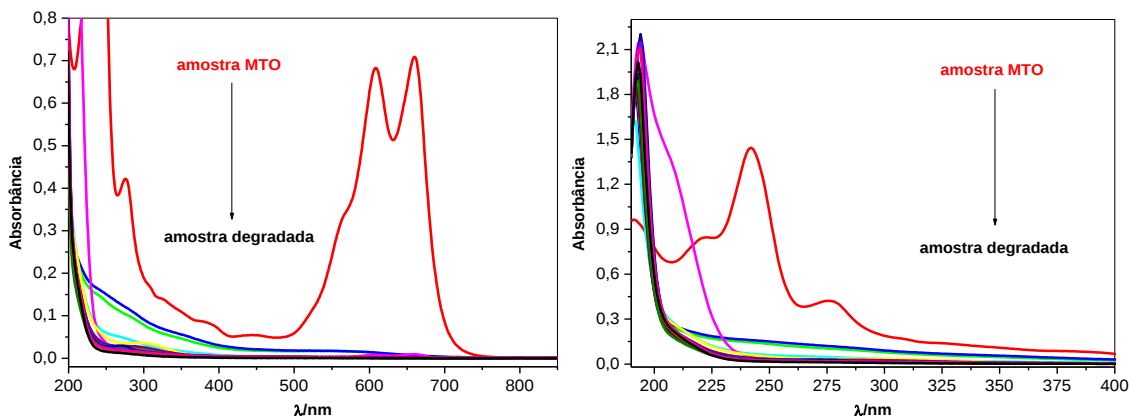


Figura 4.19: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L^{-1} pelo processo foto-Fenton, utilizando Fe(II) como fonte de ferro: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

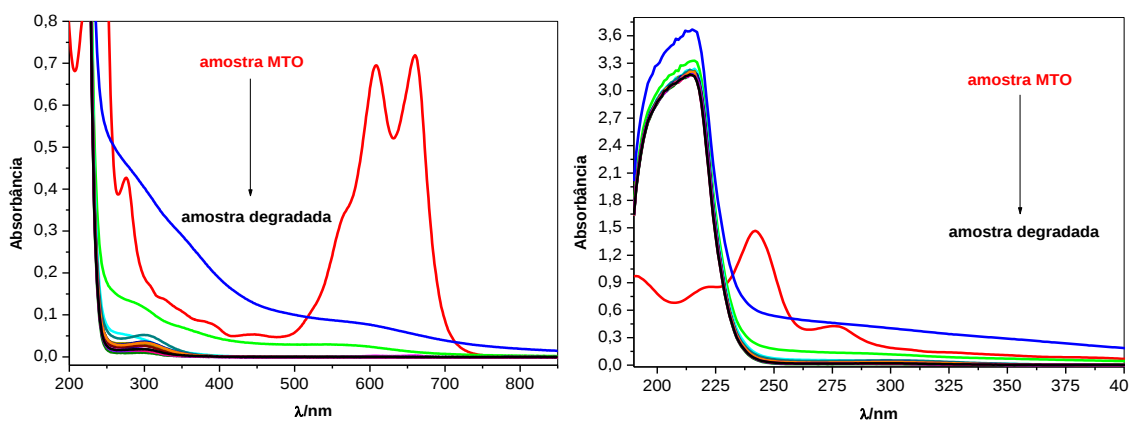


Figura 4.20: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L^{-1} pelo processo foto-Fenton, utilizando Fe(III) como fonte de ferro: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

A Figura 4.21 apresenta os cromatogramas das amostras de degradação da MTO pelo processo foto-Fenton aplicando FeOx. Verifica-se que os cromatogramas das amostras da MTO submetidas ao processo foto-Fenton não apresentaram picos cromatográficos no comprimento de onda de 658 nm analisado, indicando degradação total do medicamento ao final do processo. Exatamente o mesmo comportamento foi observado durante a degradação da MTO pelo processo foto-Fenton utilizando Fe(II) e Fe(III).

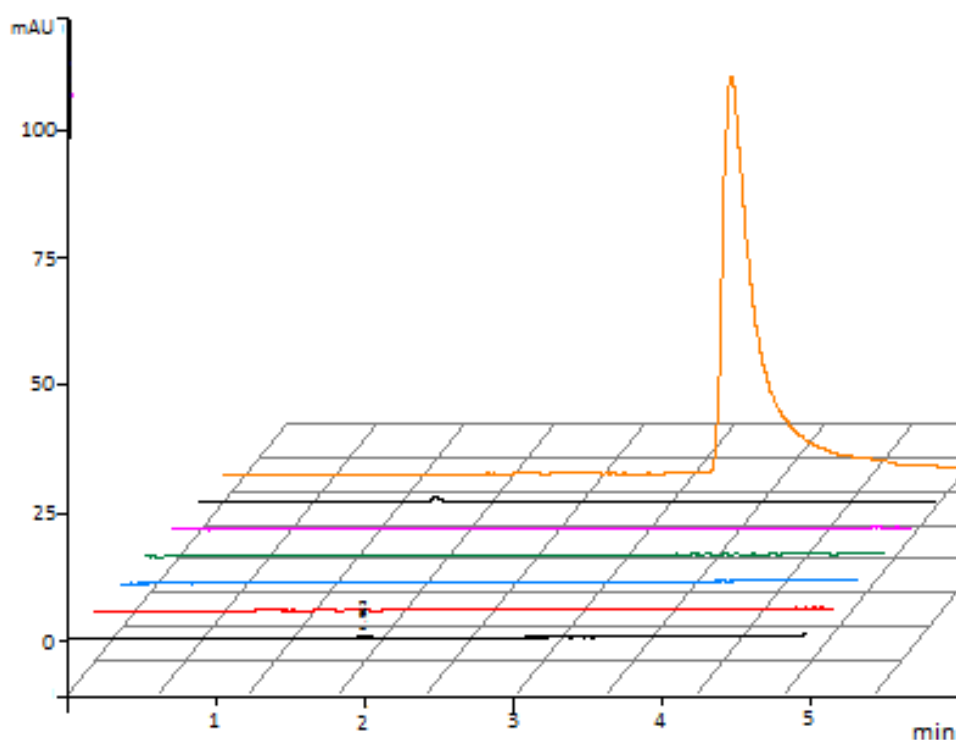


Figura 4.21: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO 40 mg L^{-1} pelo processo foto-Fenton, utilizando FeOx como fonte de ferro. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=4,00$):acetonitrila (75:25), vazão de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e detecção em 658 nm , — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 10min, — 15 min, — 20 min, — 25min de degradação.

A degradação de MTO pelo processo Fenton, $0,54 \text{ mmol L}^{-1}$ de Fe(II) e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 , promoveu a remoção das bandas de absorção da MTO (Figura 4.22), tornando a solução do medicamento totalmente incolor, entretanto, houve apenas 5% de remoção de COT. Estes resultados eram esperados, uma vez que no processo Fenton, a redução de Fe(III) a Fe(II) é muito lenta (Equação 1.3), o que torna o processo menos eficiente, devido a uma menor disponibilidade de radicais $\text{HO}^\bullet$ no meio reacional.

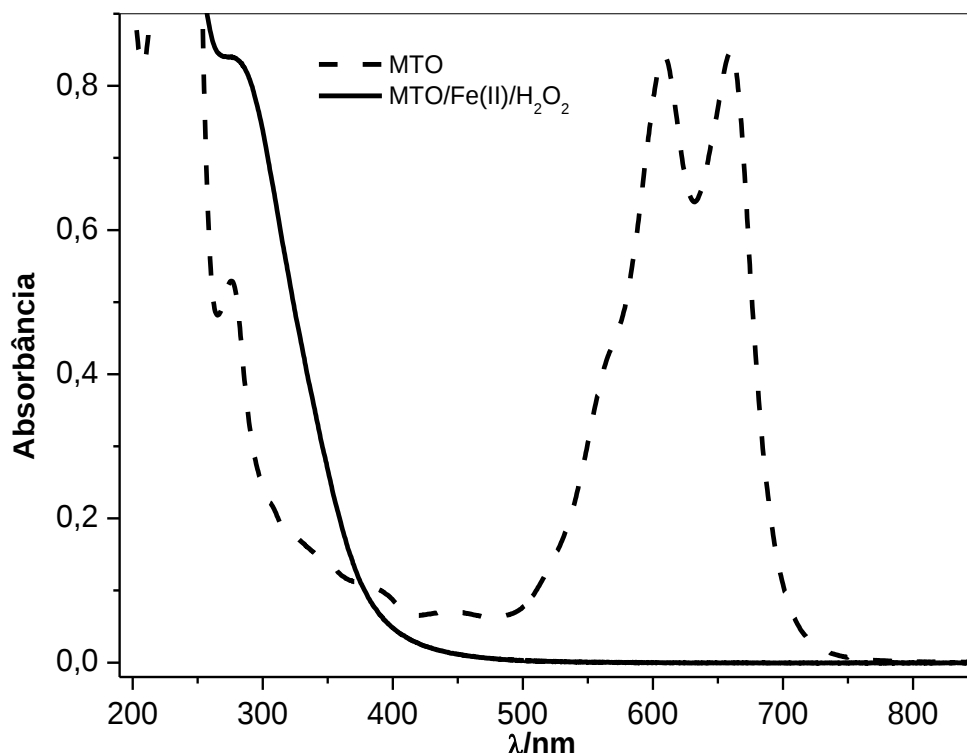


Figura 4.22: Espectros de absorção na região UV-Vis da MTO 40 mg L⁻¹ e após ser submetida a degradação pelo processo Fenton (0,54 mmol L⁻¹ de Fe(II) e 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂).

Utilizando FeOx como fonte de ferro, testou-se também a concentração de 0,27 mmol L⁻¹ de FeOx, mantendo as demais concentrações idênticas aos experimentos anteriores e, adicionalmente, realizou-se uma degradação da MTO padrão, nas condições otimizadas. A Figura 4.23 apresenta os resultados destes experimentos e, para comparação, o resultado utilizando 0,54 mmol L⁻¹ de FeOx. Os resultados demonstram 67% de mineralização utilizando 0,27 mmol L⁻¹ de FeOx, 80% de mineralização utilizando MTO de formulação padrão e 82% de mineralização utilizando 0,54 mmol L⁻¹ de FeOx. Verifica-se uma menor mineralização utilizando menor quantidade de ferro, o que é esperado uma vez que há menor formação de radicais HO[•], além disso, como há um excesso de peróxido de hidrogênio no meio reacional a degradação é inibida devido à formação do radical hidroperoxila (HO₂[•]). Utilizando 0,27 mmol L⁻¹ de FeOx a constante da taxa de mineralização obtida foi $k_m = 0,043 \text{ min}^{-1}$ (R= 0,996) praticamente metade daquela obtida utilizando 0,54 mmol L⁻¹ ($k_m = 0,084 \text{ min}^{-1}$), e utilizando formulação padrão, $k_m = 0,067 \text{ min}^{-1}$ (R= 0,981). Observa-se que praticamente não há diferença da mineralização utilizando MTO padrão e de formulação comercial, demonstrando que os excipientes existentes (cloreto de sódio, acetato de sódio, ácido acético glacial R) na formulação comercial não inibem a degradação da MTO.

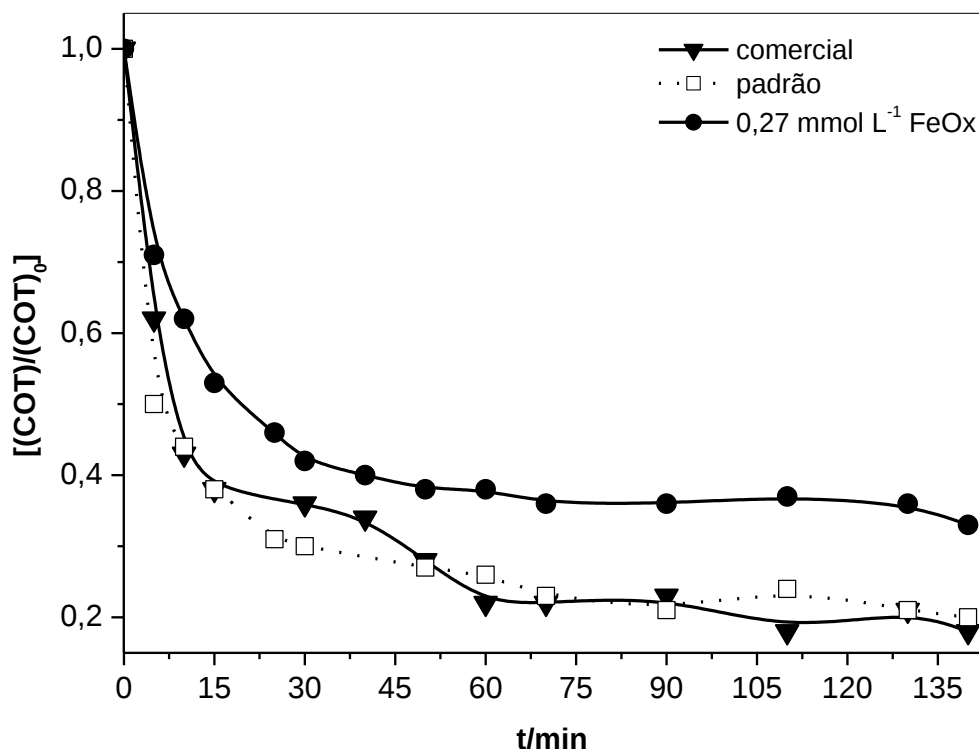


Figura 4.23: Comparação da degradação da MTO 40 mg L⁻¹ padrão e formulação comercial pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L⁻¹ de FeOx e 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂) e comparação da degradação utilizando 0,27 mmol L⁻¹.

Os espectros de absorção das amostras de degradação da MTO utilizando 0,27 mmol L⁻¹ de FeOx e do experimento utilizando solução de MTO padrão são apresentados na Figura 4.24 e 4.25, respectivamente. Verifica-se através da análise dos espectros de absorção um decaimento gradual das bandas de absorção da MTO com o tempo de degradação, como observado na degradação utilizando 0,54 mmol L⁻¹ de FeOx.

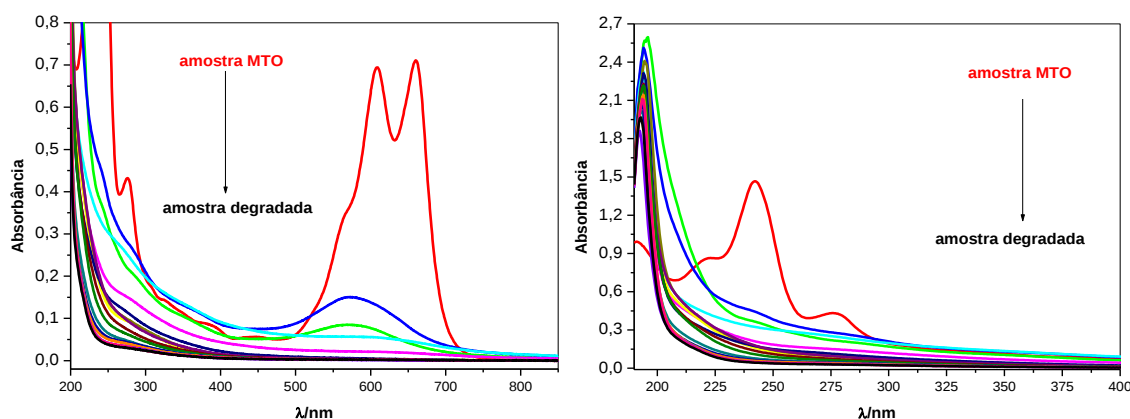


Figura 4.24: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo foto-Fenton, utilizando 0,27 mmol L⁻¹ de FeOx: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

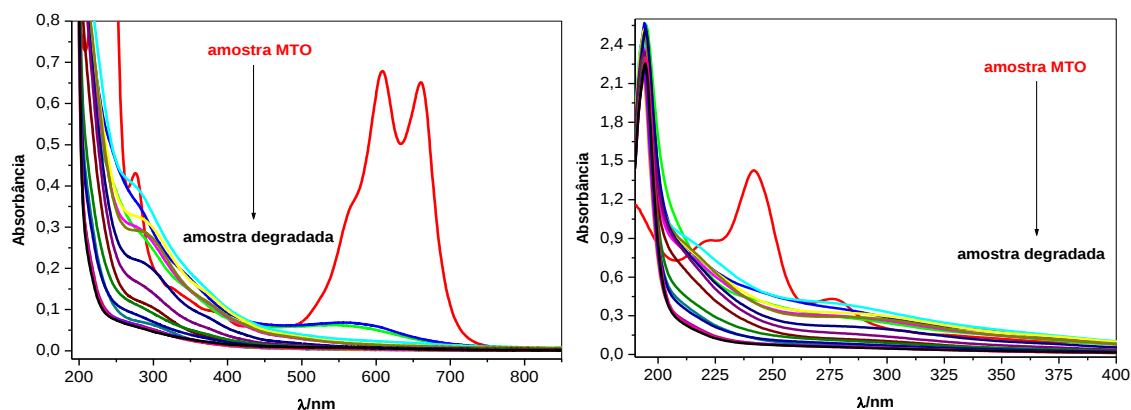


Figura 4.25: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO padrão 40 mg L^{-1} pelo processo foto-Fenton ($0,54 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeOx): — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx , — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

A Figura 4.26 apresenta os cromatogramas das amostras de degradação da MTO padrão pelo processo foto-Fenton. Verifica-se que como os experimentos anteriores, os cromatogramas de amostras da MTO submetidas ao processo foto-Fenton não apresentaram picos cromatográficos, em 658 nm , indicando degradação total do medicamento ao final do processo.

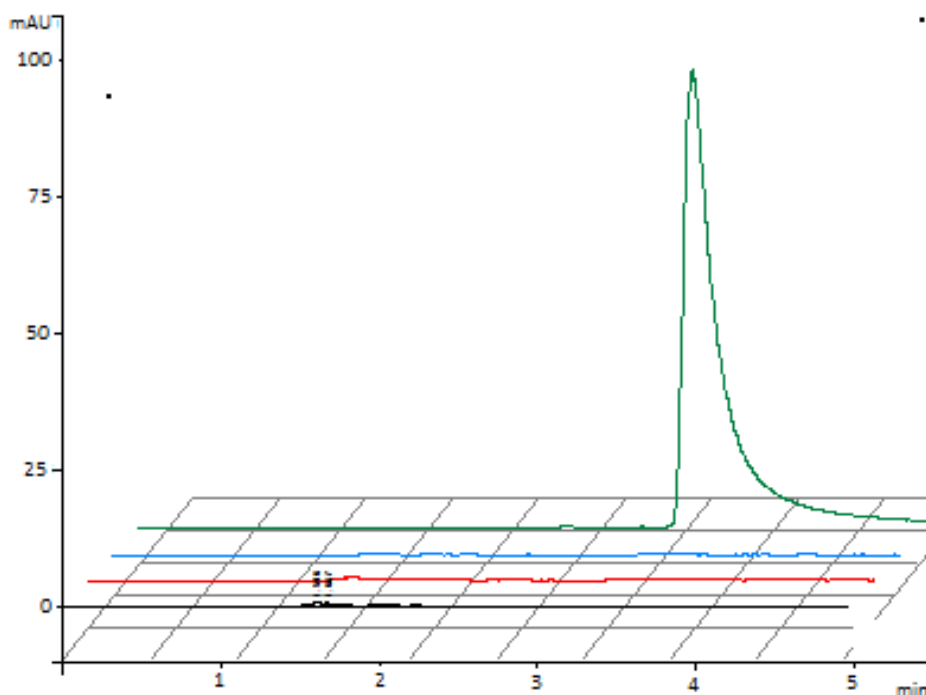


Figura 4.26: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO padrão 40 mg L^{-1} pelo processo foto-Fenton ($0,54 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeOx e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2). Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=4,00$):acetonitrila (75:25), vazão de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e detecção em 658 nm , — amostra inicial da MTO, — após adição de FeOx , — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min de degradação.

4.3.5. Degradação do medicamento antineoplásico MTO: influência da radiação solar

De modo a tornar o processo de descontaminação ecologicamente e economicamente viável o uso da luz solar torna-se uma alternativa interessante, pois diminui consideravelmente os custos com energia (NOGUEIRA et al., 2005). O FeOx é muito utilizado como fonte de ferro em tratamentos que utilizam luz solar, pois apresenta rápida reação fotoquímica gerando Fe(II) (Equação 1.21). Baseado nisso, a luz solar foi testada como fonte de radiação para a degradação da MTO.

A Figura 4.27 apresentam a comparação dos resultados dos experimentos de degradação pelo processo foto-Fenton, com FeOx, sob luz solar e luz UV e pelo processo H_2O_2 /luz solar. A degradação utilizando radiação solar pelo processo foto-Fenton utilizando FeOx como fonte de ferro apresentou remoção de 59% de COT, e pelo processo H_2O_2 /luz solar nenhuma mineralização foi obtida. Isso era esperado, devido à absorção máxima do H_2O_2 ser em torno de 220 nm, (NOGUEIRA et al., 2005) sendo ineficaz a absorção desta espécie por luz solar, pois a máxima intensidade da luz solar está entre 450-550 nm (NOGUEIRA et al., 2005). Entretanto, FeOx possui alta absorção entre 450 a 550 nm o que torna possível sua utilização no processo foto-Fenton sob radiação solar com sucesso, como pode ser observado pela mineralização obtida (59%), portanto, além da redução de custos utilizando a radiação solar o processo mostrou-se eficiente para a mineralização da MTO.

Os resultados demonstraram que o processo utilizando luz solar segue uma cinética de pseudo-primeira ordem, com valor de constante da taxa de mineralização, $k_m = 0,065 \text{ min}^{-1}$ ($R = 0,993$) para o processo foto-Fenton com FeOx. A taxa de mineralização utilizando radiação solar foi menor que utilizando luz UV, este comportamento, provavelmente, deve-se a taxa do fluxo de fótons emitida pela radiação solar ter sido menor em comparação a emitida pela radiação UV (taxa de incidência de fótons = $4,59 \times 10^{21} \text{ fotons s}^{-1}$).

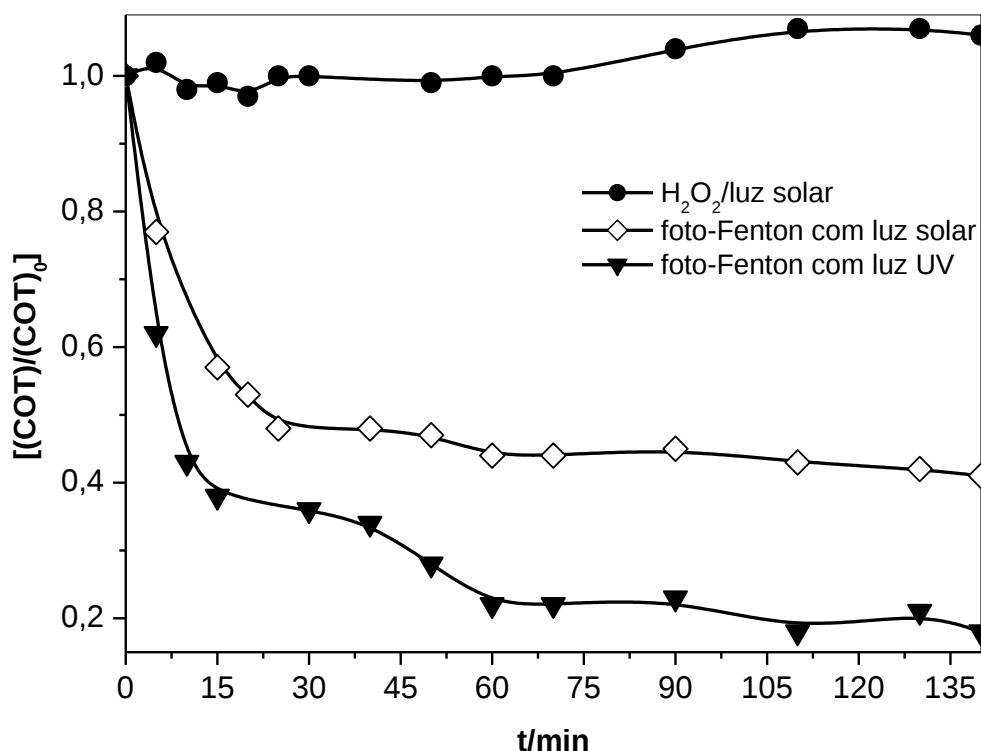


Figura 4.27: Comparação da degradação da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L⁻¹ de FeOx, 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂) com luz UV e solar e pelo processo H₂O₂/luz solar (18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂).

As Figuras 4.28 e 4.29 mostram os espectros de absorção das amostras de degradação do processo foto-Fenton com radiação solar e pelo processo H₂O₂/luz solar. Como verificado anteriormente pelo processo foto-Fenton utilizando luz artificial (UV), obteve-se um decaimento gradual das bandas de absorção com o aumento do tempo de degradação e houve completa supressão das bandas de absorção do medicamento na região visível no término da degradação (140 min), indicando total degradação do medicamento ao final do processo com radiação solar. Pela análise da Figura 4.29, utilizando o processo H₂O₂/luz solar, verifica-se apenas supressão parcial da banda de absorção do medicamento, indicando que o medicamento não foi degradado, e estes resultados são comprovados pelos altos valores de COT encontrados, comprovando a ineficiência do processo para a degradação da MTO.

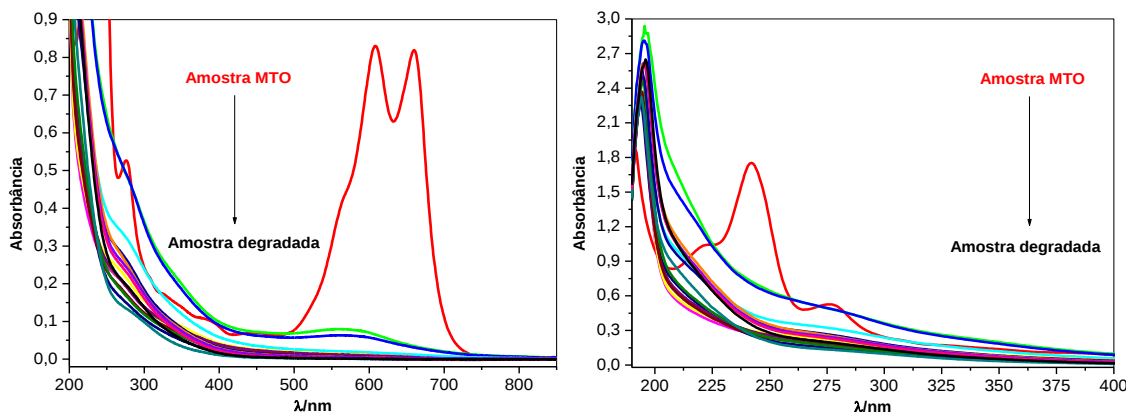


Figura 4.28: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L^{-1} pelo processo foto-Fenton ($0,54 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeOx e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2) utilizando radiação solar: — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx , — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

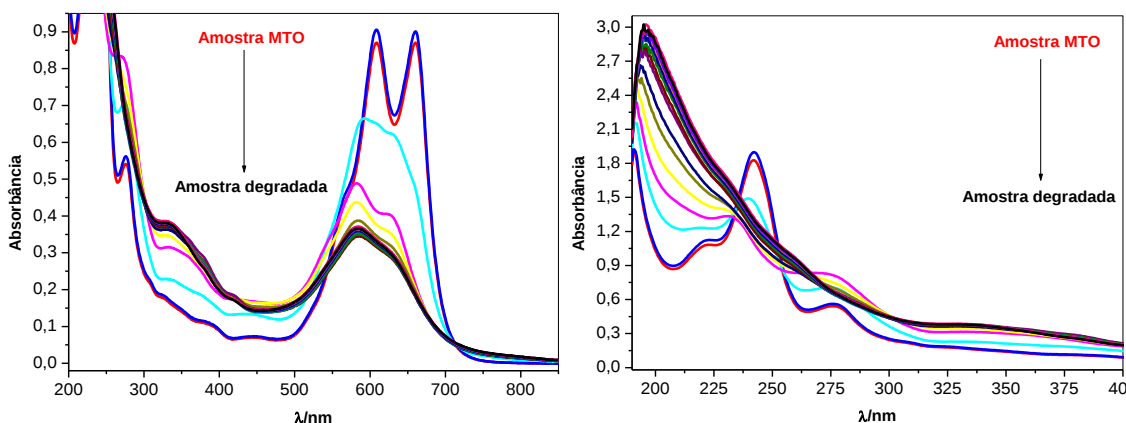


Figura 4.29: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L^{-1} pelo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{luz solar}$ utilizando $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 : — amostra inicial de MTO, — após adição de FeOx , — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

A Figura 4.30 apresentam os cromatogramas das amostras de MTO, submetidas à degradação pelo processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{luz solar}$. Assim, como observado pelos espectros de absorção, através dos cromatogramas obteve-se apenas um decaimento parcial dos picos cromatográficos com o tempo de degradação e o surgimento de um segundo pico com tempo de retenção menor (2,5 min) provavelmente de um subproduto final, e no final do processo (140 min) ainda observou a presença do pico da MTO e do subproduto formado.

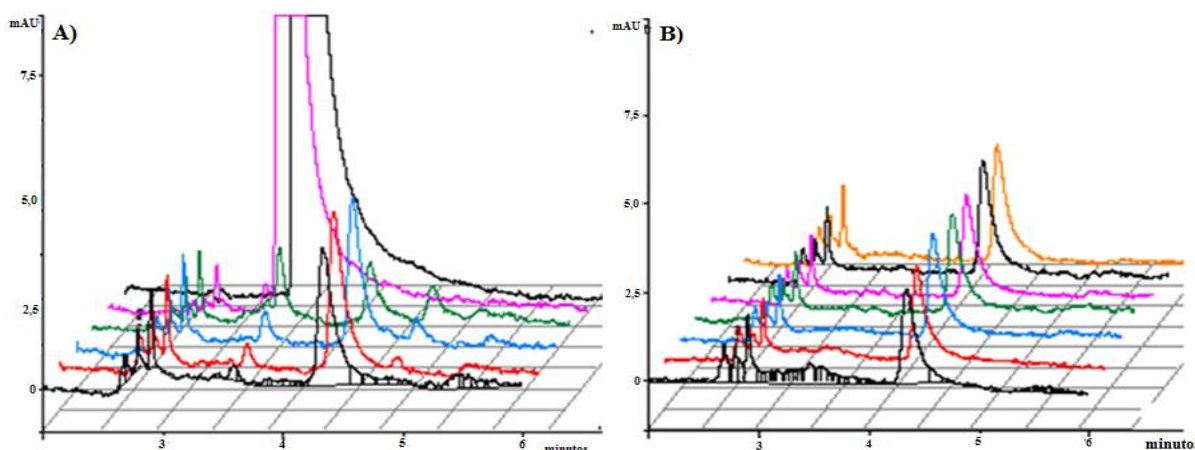


Figura 4.30: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo H₂O₂/luz solar utilizando 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L⁻¹, pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 658 nm: **A)** — amostra inicial de MTO, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5min, — 10 min, — 20 min, — 30min, **B)** — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70min, — 90 min, — 110 min, — 140min de degradação.

4.4. Processo UV e H₂O₂/UV

Diversas tecnologias avançadas têm sido estudadas para remover poluentes, dentre as técnicas o processo H₂O₂/UV é muito eficaz na oxidação e mineralização da maioria dos poluentes orgânicos (GHALY et al., 2001; VOGNA et al., 2004; PEREIRA et al., 2007; YUAN et al., 2009). Na fotólise de H₂O₂ quase sempre é utilizado lâmpadas de vapor de mercúrio de média e baixa pressão (pico de emissão em torno de 254 nm). Entretanto cerca de 50% da energia é perdida na forma de calor ou de emissões abaixo de 185 nm, que são absorvidos pelo tudo de quartzo. Seria mais conveniente utilizar lâmpadas de Xe/Hg que emitem na faixa de 210-240nm, entretanto, essas são mais caras. Para comparação dos processos, e com a finalidade de tornar o processo economicamente viável optou-se por utilizar a lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão.

A fotólise direta, UV também pode ser usada como um modo complementar da degradação dos compostos orgânicos. Alguns autores citam a degradação de fármacos e compostos orgânicos usando somente radiação UV (DANTAS et al., 2010). A radiação UV, sozinha, atacaria e degradaria algumas moléculas orgânicas pela clivagem de ligações. Este processo de degradação de compostos orgânicos por radiação UV isoladamente necessita de radiação com comprimentos de onda menor do que a UV-C, ou seja, UV vácuo e deste modo necessitaria de lâmpadas de arco de Xe (DOMÈNECH et al., 2001).

Avaliou-se a eficiência dos processos H₂O₂/UV e fotólise direta, UV, para a degradação e mineralização do medicamento antineoplásico MTO nas concentrações de 20 e 40 mg L⁻¹.

Os experimentos utilizando 20 mg L^{-1} do medicamento foram monitorados pelo grau de mineralização através de determinações de carbono orgânico total (COT). A Figura 4.31 apresenta os resultados dos experimentos de degradação de MTO 20 mg L^{-1} utilizando os processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ na concentração de $9,4 \text{ mmol L}^{-1}$ e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 , e um experimento de fotólise direta. Os resultados demonstram que duplicando a concentração de H_2O_2 não houve aumento da taxa de mineralização (70% de remoção de COT) em comparação a utilização de $9,4 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 , em que se obteve 68% de mineralização. O excesso de peróxido de hidrogênio gera altas concentrações de radicais $\text{HO}^\bullet$, que podem provocar reações competitivas (Equação 1.26-1.29), que consomem radicais $\text{HO}^\bullet$ produzindo um efeito inibitório para a degradação (TAMBOSI, 2008). Utilizando fotólise direta a mineralização foi de apenas 7%. A mineralização segue um cinética de pseudo-primeira ordem com valores de constante da taxa de mineralização, k_m , iguais a $0,021 \text{ min}^{-1}$ ($R=0,984$) e $0,017 \text{ min}^{-1}$ ($R=0,998$) para o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ utilizando $9,4 \text{ mmol L}^{-1}$ e $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente.

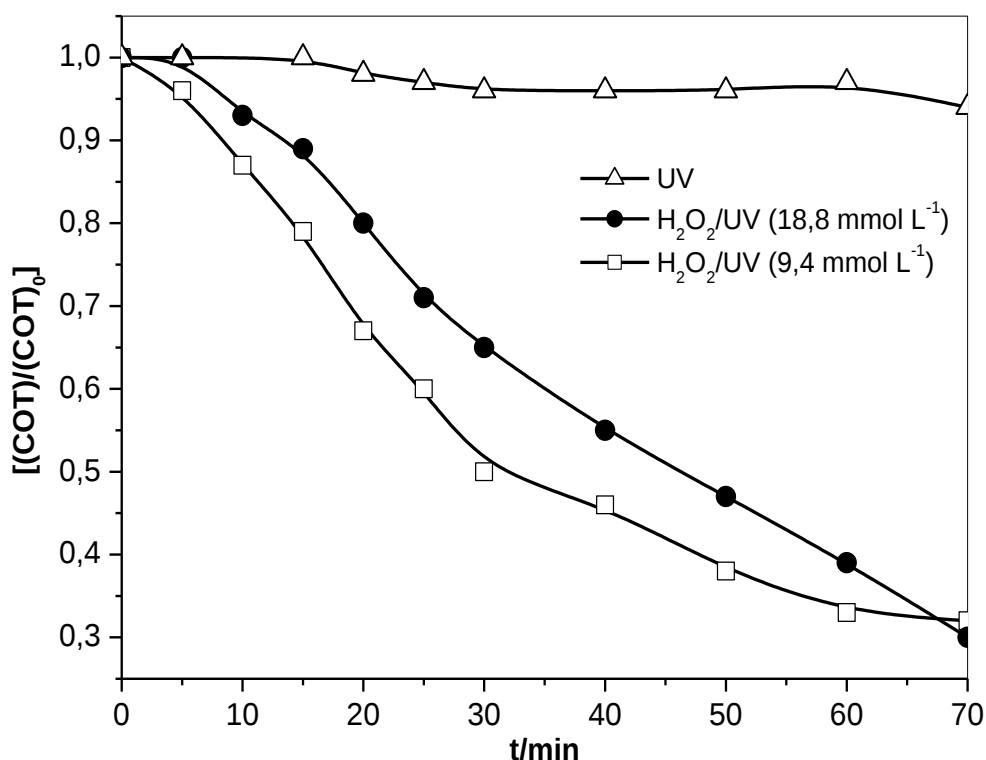


Figura 4.31: Comparação da degradação entre os processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e UV para degradação de MTO 20 mg L^{-1} .

Realizaram-se experimentos aumentando a concentração do medicamento para 40 mg L^{-1} , utilizando o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ na concentração de $18,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 , e por fotólise direta. Também verificou-se a influência da formulação (comercial e padrão) do medicamento

sobre a degradação pelo processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Os experimentos de degradação foram monitorados por COT, análises de espectrofotometria de absorção e CLAE.

A Figura 4.32 apresenta os resultados de COT destes experimentos. Pelo processo de fotólise direta nenhuma mineralização da MTO foi obtida, mesmo após longos períodos de tratamento. Adição de H_2O_2 na solução aquosa resultou em uma eficiente mineralização da MTO. Os resultados demonstram redução de 90% de COT de MTO em formulação comercial e redução de 88% de COT de MTO padrão. A mineralização para o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ segue um cinética de pseudo-primeira ordem com constante da taxa de mineralização, $k_m = 0,031 \text{ min}^{-1}$ ($R = 0,993$) e $k_m = 0,018 \text{ min}^{-1}$ ($R = 0,990$) para MTO em formulação comercial e padrão, respectivamente.

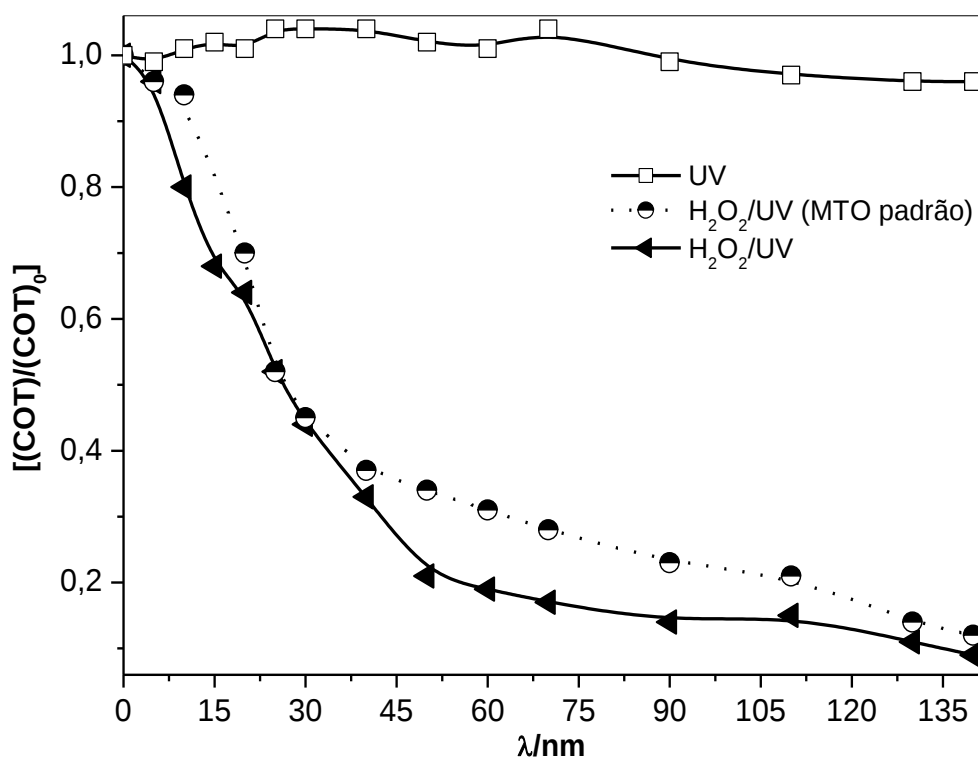


Figura 4.32: Comparação da degradação de MTO 40 mg L^{-1} padrão e formulação comercial pelo processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e degradação de MTO por fotólise direta (UV).

As Figuras 4.33 a 4.35 mostram os espectros de absorção das amostras de MTO submetidas à degradação pelos processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e fotólise direta. Através dos espectros de absorção verificou-se um decaimento gradual das bandas de absorção da MTO com o tempo de degradação e supressão completa das bandas de absorção do medicamento no término da degradação (140 min) pelo processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, em ambas as formulações do medicamento (comercial e padrão) e utilizando apenas luz artificial (UV), verifica-se, remoção parcial da

banda de absorção do medicamento após o termino da degradação. Estes resultados podem ser melhores analisados nos respectivos gráficos de concentração relativa (C/C_0) em função do tempo (Figura 36), onde C é a concentração em um dado tempo e C_0 é a concentração inicial da MTO. Pelo processo H_2O_2 /UV, em ambas as formulações do medicamento, após 25 min de reação obteve-se completa supressão da banda de absorção indicando que o medicamento foi totalmente degradado e praticamente mineralizado, utilizando apenas luz artificial (UV), após o término da reação (140min) ainda verifica-se a presença da banda de absorção da MTO, uma vez que a luz ultravioleta isoladamente não foi eficaz para degradar o medicamento, e estes resultados são comprovados pelos altos valores de COT encontrados.

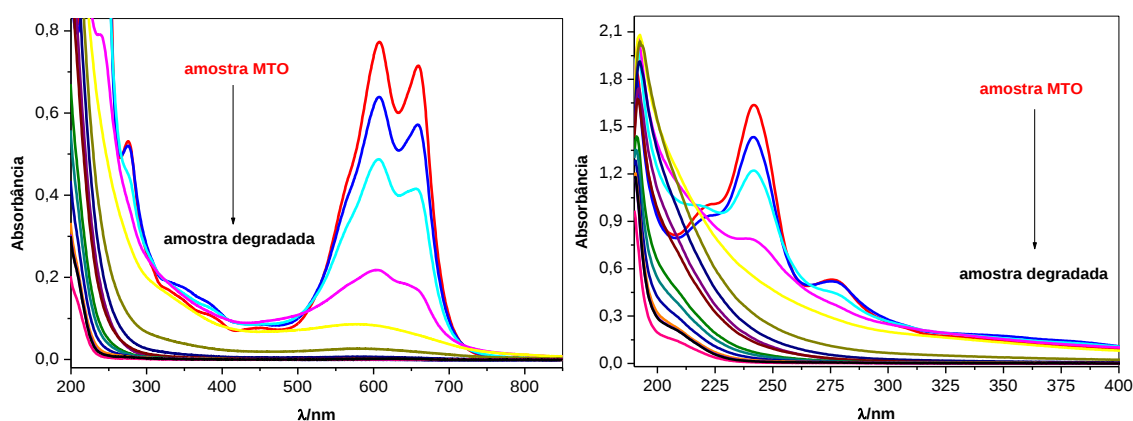


Figura 4.33: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo H_2O_2 /UV utilizando 18,8 mmol L⁻¹ de H_2O_2 : — amostra inicial da MTO, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

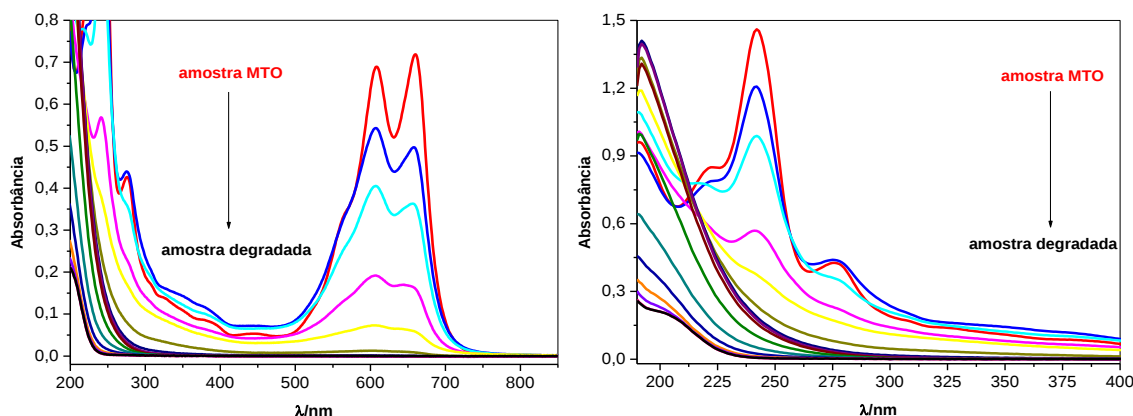


Figura 4.34: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L⁻¹ padrão pelo processo H_2O_2 /UV utilizando 18,8 mmol L⁻¹ de H_2O_2 : — amostra inicial da MTO, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

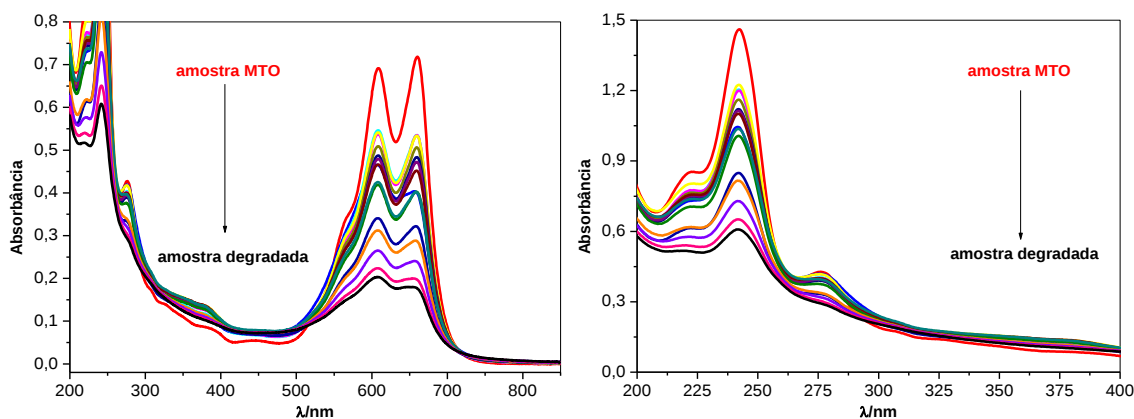


Figura 4.35: Espectros de absorção na região UV-Vis e a região UV (ampliada) das amostras de degradação da MTO 40 mg L^{-1} pelo processo UV: — amostra inicial da MTO, — após 5 min tempo de espera da lâmpada, — 5 min, — 10 min, — 15 min, — 20 min, — 25 min, — 30 min, — 40 min, — 50 min, — 60 min, — 70 min, — 90 min, — 110 min, — 130 min, — 140 min.

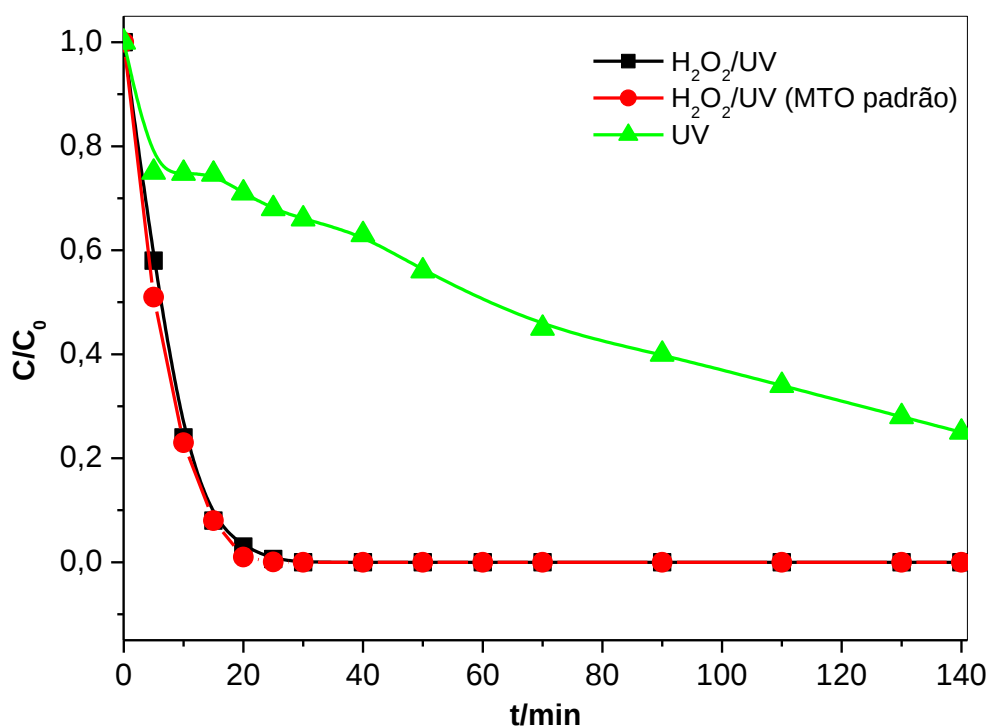


Figura 4.36: Concentrações relativas (C/C_0) vs tempo de reação para degradação da MTO 40 mg L^{-1} padrão e formulação comercial pelo processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e por fotólise direta (UV) analisada em 658 nm.

As Figuras 4.37 e 4.38 apresentam os cromatogramas das amostras de MTO, padrão e em formulação comercial, submetidas à degradação pelo processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Pelos cromatogramas obteve-se um decaimento do pico da MTO com o tempo de degradação e o surgimento de um segundo pico com tempo de retenção menor (2,5 min), provavelmente de

um subproduto formado. Entretanto, após 20 min de degradação também observa-se o desaparecimento deste pico, indicando total mineralização da MTO.

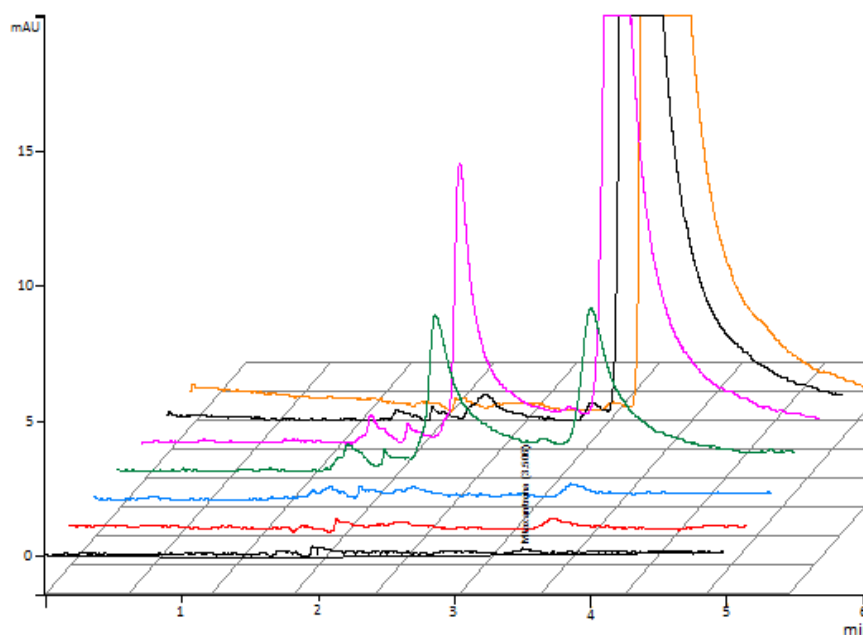


Figura 4.37: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo H₂O₂/UV utilizando 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L⁻¹, pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 658 nm: — amostra inicial de MTO, — após 5 min tempo de espera a lâmpada, — 5 min, — 10min, — 15 min, — 20 min, — 25min de degradação.

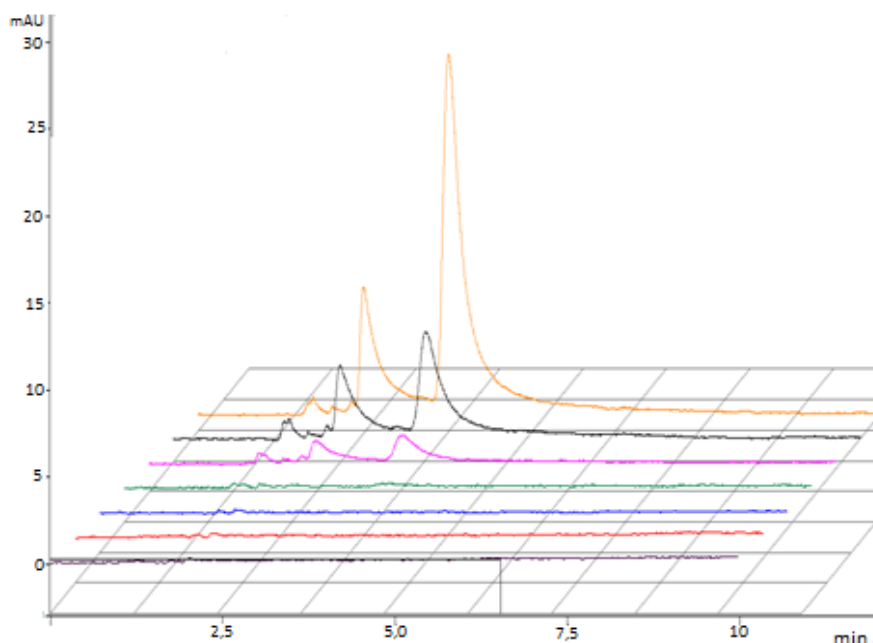


Figura 4.38: Cromatogramas das amostras de degradação da MTO padrão 40 mg L⁻¹ pelo processo H₂O₂/UV utilizando 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂. Condições cromatográficas: fase móvel acetato de amônio (0,2 mol L⁻¹, pH=4,00):acetonitrila (75:25), vazão de 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 658 nm: — 5 min de degradação, — 10 min, — 15min, — 20 min, — 25min, — 30 min, — 35 min.

No processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ não há presença do catalisador (ferro) e o processo costuma ser mais lento do que o processo foto-Fenton, porém, neste estudo, o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ mostrou-se mais eficiente que ao processo foto-Fenton. Este comportamento pode ser explicado exatamente pela ausência de íons ferro, uma vez que este forma um complexo estável com a MTO, que, como se observou anteriormente, inibe parcialmente a degradação.

4.5. Comparação dos processos

Considerando todos os processos de degradação aplicados, foto-Fenton (utilizando FeOx, Fe(II) e Fe(III) como fonte de ferro), foto-Fenton Solar (utilizando FeOx, como fonte de ferro), $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e UV, e utilizando os mesmos parâmetros operacionais (volume, tempo de reação, concentração dos reagentes, etc), a seguir, comparou-se a eficiência dos processos na degradação da MTO.

A Figura 4.39 apresenta os resultados dos experimentos de degradação da MTO em formulação comercial na concentração de 40 mg L^{-1} pelos diversos processos aplicados. A mineralização da MTO segue uma cinética de pseudo-primeira ordem em todos os processos utilizados. A escolha da fonte de ferro é um parâmetro importante na fotodegradação, pois como verificado as três fontes de fontes estudadas apresentaram resultados diferentes, Fe(III) e FeOx mostrou-se mais eficiente que Fe(II) sob radiação artificial. A adição de Fe(III) e FeOx sobre o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ aumentou a taxa de mineralização por um fator de 3, como observado pelos valores de constante de taxa de mineralização obtidos, k_m , iguais a $0,089 \text{ min}^{-1}$ e $0,084 \text{ min}^{-1}$ para o processo foto-Fenton utilizando Fe(III) e FeOx, respectivamente e k_m igual a $0,031 \text{ min}^{-1}$ para o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Este fenômeno de aumento da eficiência também é conhecida por outros autores (GHALY et al., 2001). Analisando a Figura 4.36 verifica-se que os processo foto-Fenton utilizando Fe(III) e FeOx e o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ apresentaram os melhores resultados de mineralização (77%, 82% e 90%, respectivamente).

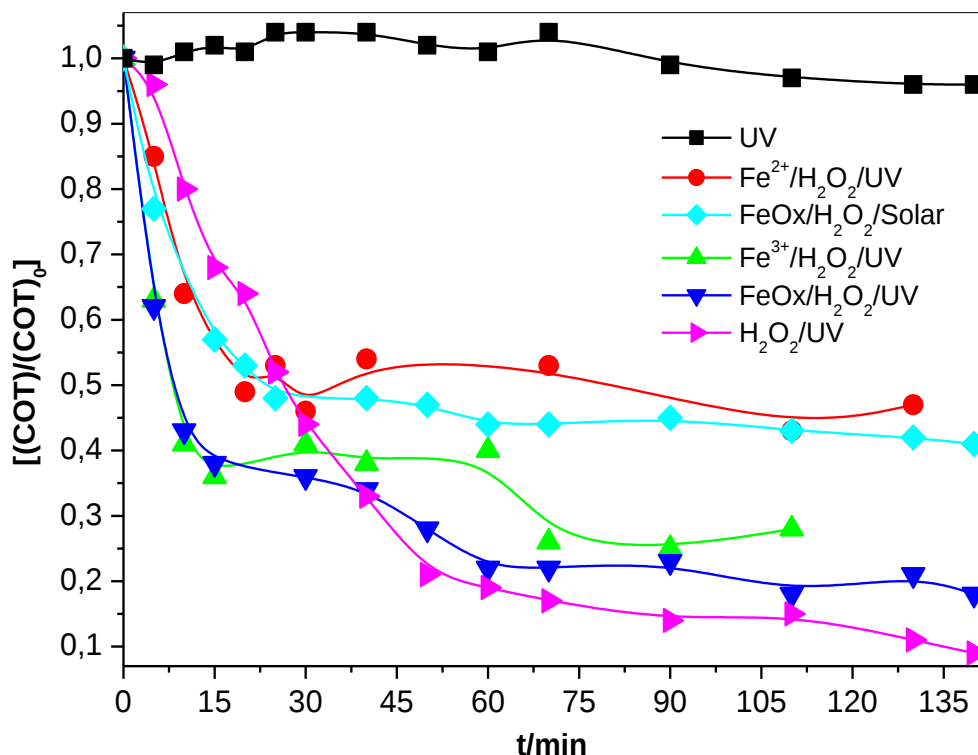


Figura 4.39: Comparação da degradação de MTO 40 mg L⁻¹ pelo processo foto-Fenton (0,54 mmol L⁻¹ de fonte de ferro, 18,8 mmol L⁻¹ de H₂O₂) com luz UV e solar, por fotólise direta, UV, e pelo processo H₂O₂/UV (18,8 mmol L⁻¹ H₂O₂).

4.6. Avaliação da citotoxicidade da MTO e dos produtos de degradação

A avaliação da toxicidade é muito importante, pois compostos mais tóxicos que o composto original podem ser formados, especialmente se COT permanecer após o tratamento. Deste modo, a toxicidade de amostras de MTO antes e após serem submetidas à degradação pelos processos H₂O₂/UV e foto-fenton (utilizando FeOx, como fonte de ferro) foi avaliada. Os ensaios de toxicidade foram realizados utilizando a linhagem celular NIH/3T3 (ATCC–CRL 1658, fibroblasto murino), e aplicando o corante sulforrodamina B (SRB), que tem como princípio a coloração das proteínas da membrana celular (Skehan et al., 1990), e é utilizado para a busca de atividade antineoplásica.

O resultado de ensaio de toxicidade aguda é expresso pelo valor de IC₅₀, ou seja, a concentração do composto que inibe metade do crescimento celular. O valor da concentração inibitória é inversamente proporcional à toxicidade da amostra, isto é, quanto menor o valor de IC₅₀, maior é a toxicidade da amostra. O Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos (NCI) em seu programa de triagem de drogas anti-câncer considera forte atividade antineoplásica valores de IC₅₀ menor ou igual a 4,0 µg mL⁻¹. No presente trabalho os compostos foram considerados inativos quando IC₅₀ > 50 µg mL⁻¹). O IC₅₀, foi calculado por curvas de regressão não-linear de dose resposta (absorbância, determinada pelo ensaio

colorimétrico, pela concentração da amostra testada), através do programa de análise de dados Origin (Versão 6.0). A curva dose-resposta é obtida pela absorbância (resposta) em diferentes concentrações do composto analisado (Tabela 4.1)

Inicialmente, determinou-se o IC_{50} para o branco e a MTO. Os resultados demonstraram que não houve inibição do crescimento das células NIH/3T3, mesmo na mais alta concentração aplicada ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$), para as células expostas ao branco. Para as células expostas à MTO a inibição do crescimento foi proporcional ao aumento da concentração de MTO, com 87% de inibição das células na presença de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 4.2). O valor IC_{50} foi de $3,29 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a MTO, comprovando sua toxicidade para as células NIH/3T3. Para comparação, a toxicidade de amostras de MTO degradadas pelos processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e foto-Fenton (utilizando FeOx , como fonte de ferro), ambos selecionados por apresentarem maior eficiência na mineralização do agente antitumoral, foi avaliada. Para as células expostas às amostras degradadas de MTO a porcentagem de crescimento foi próxima a 100% em todas as doses analisadas, e os valores de IC_{50} para estas amostras foram maiores que $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, indicando que não há efeito tóxico das amostras submetidas aos processos de degradação. Estes resultados comprovam que o medicamento foi totalmente degradado e nenhum produto tóxico foi gerado, confirmando o alto potencial de aplicabilidade de ambos os processos para a remoção do medicamento antineoplásico MTO.

Tabela 4.2: Dose resposta obtida durante o teste de citotoxicidade da MTO e da MTO após serem submetidas à degradação:

Doses ($\mu\text{g/mL}$)		0,01	0,025	0,25	2,5	25	250
% crescimento (média)+SD	MTO	100±0	100±0	87,4±0,11	68,4±0,11	13,5±0,05	
	$\text{FeOx}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$			95,8±0,7	93,6±0,45	92,8±0,65	91,4±0,60
	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$			98,6±0,75	96,8±0,40	92,5±0,05	71,5±1,35

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível verificar alguns fatores importantes no processo de degradação do medicamento MTO. A degradação de MTO pelo processo foto-Fenton é influenciada pela fonte de ferro utilizada. A interação de ferro com MTO foi verificada por análises espectrofotométricas e voltamétricas. Através das análises voltamétricas verificou-se diminuição de 66% e 80% na corrente de pico do primeiro e do segundo pico de oxidação da MTO respectivamente, após adição de $0,34 \text{ mmol L}^{-1}$ de Fe(III). Observou-se uma menor interação da MTO utilizando FeOx (diminuição de 26,48% da corrente de pico da oxidação da MTO), em comparação a utilização de Fe(III) livre (diminuição de 54,31% da corrente de pico), nas mesmas condições experimentais. Na presença de Fe(II) verificou-se modificação no perfil voltamétrico da MTO, devido a competição entre a oxidação de Fe(II) a Fe(III), na mesma região de potencial de oxidação da MTO. Análises espectrofotométricas demonstraram que a adição de Fe(III) causa mudanças espectrais na banda de absorção da MTO, tais como, supressão da banda de absorção, deslocamento e aumento das bandas observadas na região UV ao passo que a adição de ferro (II) não causa mudanças no espectro de absorção da MTO. As análises voltamétricas e espectrofotométricas indicaram a complexação de íon Fe(III) com a molécula de MTO, dificultando a participação destes íons na reação de Fenton e inibindo parcialmente a degradação da MTO. Através de titulações espectrofotométricas de MTO, em pH 3,00, com Fe(III), determinou-se a estequiometria e a constante de complexação, K , sugerindo um complexo de estequiometria 2:1 Fe^{3+} : MTO e $K = 1,47 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Os melhores resultados de mineralização de 40 mg L^{-1} de MTO foram obtidos pelos processos foto-Fenton, utilizando Fe(III) e FeOx, 77 e 82% de mineralização, respectivamente e pelo processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ com 90% de mineralização. Os produtos de degradação não apresentaram toxicidade para as células NIH/3T3 após serem submetidas à degradação pelos processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e foto-fenton (utilizando FeOx, como fonte de ferro), diferentemente da MTO que apresentou IC_{50} igual a $3,29 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ para as mesmas células. O processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ é usualmente mais lento que o processo foto-Fenton, porém, neste estudo, o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ mostrou-se mais eficiente que ao processo foto-Fenton, como não há ferro no meio reacional, não há formação do complexo Fe:MTO, que inibe parcialmente a degradação do medicamento. A utilização de radiação solar no tratamento demonstrou ser uma alternativa viável, pois mantém a eficiência do processo e com custos menores. A utilização de FeOx sob luz solar, promoveu a degradação do medicamento e removeu 59% de COT no final do processo, ao passo que a utilizando apenas H_2O_2 sob luz solar nenhuma

mineralização foi obtida devido à absorção máxima do H_2O_2 ser em torno de 220 nm, sendo ineficiente a absorção desta espécie por luz solar. Comparando-se os resultados de degradação utilizando soluções de MTO padrão e em formulação comercial não se observou modificação significativa nos processos estudados.

6. REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [Internet]. Brazil: Ministério da Saúde. c2003 [cited 2011, November 9]. Resolução - RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004 Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/auda/arq/normas.htm> . Acesso em 21 nov. 2011.

AGUIAR, A.; FERRAZ, A.; CONTRERAS, D.; RODRÍGUEZ, J. Mecanismo e aplicação da reação de Fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro. **Química Nova**, v.30, n.3, p.623-628, 2007.

ALBERTS, DS.; PENG, Y-M.; LEIGH, S.; DAVIS, TP.; WOODWARD, D.L. Disposition of Mitoxantrone in Cancer Patients. **Cancer Research**, v.45, p.1879-1884, 1985.

ANDREOZZI, R.;CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation process (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, v. 53, n. 1, p.51-59, 1999.

AUGUGLIARO, V.; LITTER, M.; PALMISANO, L.; SORIA, J.J. The combination of heterogeneous photocatalysis with chemical and physical operations: A tool for improving the photoprocess performance. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v.7, p.127–144, 2006.

BAHARITH L.A.; AL-KHOULI, A.; RAAB G.M. Cytotoxic assays for screening anticancer agents. **Statistics in Medicine**, v.25, p.2323–2339, 2006.

BAREK, J.; CVACKA, J.; ZIMA, J.; MEO, M.; LAGET, M.; MICHELONX, J.; CASTEGNAROS, M. Chemical Degradation of Wastes of Antineoplastic Agents Amsacrine, Azathioprine, Asparaginase and Thiotep. **The Annals of Occupational Hygiene**, v.42, n.4, p.259-266, 1998.

BAUTITZ I.R.; NOGUEIRA R.F.P. Degradation of tetracycline by photo-Fenton process—Solar irradiation and matrix effects. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.187, p.33–39, 2007.

BELTRAN, H.; BEER, T.M.; CARDUCCI, M.A.; BONO, J.; GLEAVE, M.; HUSSAIN, M.; KELLY, W.K.; SAAD, F.; STERNBERG, C.; TAGAWA, S.T.; TANNOCK, I.F. New Therapies for Castration-Resistant Prostate Cancer: Efficacy and Safety. **European Urology**, v.60, p.279-290, 2011.

BENITEZ FJ, ACERO JL, REAL FJ, ROLDÁN G. Ozonation of pharmaceutical compounds: Rate constants and elimination in various water matrices. **Chemosphere**, v.77, p.53–59, 2009.

BENKELBERG, H. J.; WARNECK, P. Photodecomposition of iron(III) hydroxo and sulfato complexes in aqueous solution: wavelength dependence of OH and SO_4^- quantum yields. **The Journal of Physical Chemistry C**, J. v.99, p.5214-5221, 1995.

BESSE J-P, LATOUR J-F, GARRIC J. Anticancer drugs in surface waters. What can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, cytostatic and endocrine therapy drugs? **Environment International**, v.39, p.73–86, 2012.

Bila DM, Dezotti M. Fármacos no Meio Ambiente. **Química Nova**, v.26, n.4, p.523-530, 2003.

BOGO, D.; MATOS, M.F.C.; HONDA, N.K.; PONTES, E.C.; OGUMA, P.M.; SANTOS, E.C.; CARVALHO, J.E.; NOMIZO, A. In vitro Antitumour Activity of Orsellinates. Zeitschrift für Naturforschung. CA. **Journal of Bioscience**, v.65, p.43-48, 2010.

BOSSMANN, S.H.; OLIVEROS, E.; GÖB, S.; SIEGWART, S.; DAHLEN, E.P.; PAYAWAN JR.L.; STRAUB, M.; WÖRNER, M.; BRAUN A.M. . New evidence against hydroxyl radicals as reactive intermediates in the thermal and photochemically enhanced Fenton reactions. **The Journal of Physical Chemistry A**, v.102, p.5542-5550, 1998.

BOSSMANN, S.H; OLIVEROS, E.; KANTOR, M.; NIEBLER, S.; BONFILL, A.; SHAHIN, N.; WÖRNER, M.; BRAUN A.M. New insights into the mechanisms of the thermal Fenton reactions occurring using different iron(II)-complexes. **Water Science and Technology**, v.49, p.75-80, 2004.

BRAUN, A.M. MAURETTE, M.T; OLIVEIROS, E. **Photochemical Technology Chischester**, John Wiley, New York, 1991.

BRETT, A.M.O.; MACEDO, T.R.A.; RAIMUNDO, D.; MARQUES, M.H.; SERRANO, S.H.P.; Electrochemical oxidation of mitoxantrone at a glassy carbon electrode. **Analytica Chimica Acta**; v.385, p.401-408, 1999.

BUXTON, G.V.; GREENSTOCK, C.L.; HELMAN, W.P.; ROSS, A.B. Critical-review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen-atoms and hydroxyl radicals ($\text{HO}^\bullet/\text{O}^\bullet$) in aqueous solution. **Journal of Physical Chemical Reference Data**, v.17, p.513-886, 1988.

CARNEIRO, P.A.; NOGUEIRA, R.F.P.; ZANONI, M.V. Homogeneous photodegradation of C.I. Reactive Blue 4 using a photo-Fenton process under artificial and solar irradiation. **Dyes Pigments**, v.74, p.127-132, 2007.

CARVALHO, E.V.; FERREIRA, E.; MUCINI, L.; SANTOS, C. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. **Revista Brasileira de toxicologia**, v.22, p.1-8, 2009.

CASTEGNARO, M.; MEO, M.; LAGET, M.; MICHELON, J.; GARREN L. Chemical degradation of wastes of antineoplastic agents. 2: six anthracyclines: iadarubicin, doxorubicin, epirubicin, pirarubicin, aclarubicin and daunorubicin. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v.70, p.378-384, 1997.

CHEN, R.; PIGNATELLO, J.J. Role of Quinone Intermediates as Electron Shuttles in Fenton and Photo-Fenton Degradation of Aromatic Compounds. **Environmental Science & Technology**, v.31, p.2399-2406, 1997.

DANTAS, R.F.; ROSSITER, O.; TEIXEIRA, A.K.R.; SIMOES, A.S.M.; SILVA, V.L. Direct UV photolysis of propranolol and metronidazole in aqueous solution. **Chemical Engineering Journal**, v.158, p.143-147, 2010.

DYKE, P.H.; FOAN, C.; FREDLER, H. PCB and PAH Releases From Power Stations and Waste Incineration Processes in the UK. **Chemosphere**, v.50, p.469-480, 2003.

DOMÈNECH, X.; JARDIM, W.F.; LITTER, M.I. **Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes**. In: BLESÁ, M. A. Eliminación de contaminantes por fotocátalisis heterogénea. La Plata: Digital Grafic, p.26. 2001.

DURÁN, A.; MONTEAGUDO, J.M.; CARNICER, A.; RUIZ-MURILLO, M. Photo-Fenton mineralization of synthetic municipal wastewater effluent containing acetaminophen in a pilot plant. **Desalination**, v.270, p.124-129, 2011.

ELMOLLA, E.S.; CHAUDHURI, M. Degradation of the antibiotics amoxicillin, ampicillin and cloxacillin in aqueous solution by the photo-Fenton process. **Journal of Hazardous Materials**, v.172, p.1476-1481, 2009.

ENACHE, M.; BENDIC, C.; VOLANSCHI, E. Spectroelectrochemistry of the redox activation of anti-cancer drug mitoxantrone. **Bioelectrochemistry**, v.72, p.10-20, 2008.

FATTA-KASSINOS, D.; VASQUEZ, M.I.; KÜMMERER, K. Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes – Degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency. **Chemosphere**, v.85, p.693-709, 2011.

FERNÁNDEZ, L.A.; HERNÁNDEZ, C.; BATALLER, M.; VÉLIZ, E.; LÓPEZ, A.; LEDEA, O.; PADRÓN, S. Cyclophosphamide degradation by advanced oxidation processes. **Water and Environment Journal**, v.24, p.174-180, 2010.

FRESHNEY IR. **Culture of animal cells**. A manual of Basic Technique. 5º ed. New York, Wiley-Liss, 2005.

FENTON, H.J.H. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. **Journal of the Chemical Society**, v.65, p.899-910, 1894.

GARCEZ, F.R.; SILVA, A.F.G.; GARCEZ, W.S.; LINCK, G.; MATOS, M.F.C.; SANTOS, E.C.S.; QUEIROZ, L.M.M. Cytotoxic Aporphine Alkaloids from *Ocotea acutifolia*. **Planta Medica**, v.77, p.383-387, 2011.

GARCIA-AC A, BROSEÚS R, VINCENT S, BARBEAU B, PRÉVOST M, SAUVÉ S. Oxidation kinetics of cyclophosphamide and methotrexate by ozone in drinking water. **Chemosphere**, v.79, p.1056–1063, 2010.

GAYA, U.I.; ABDULLAH, A.H. Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v.9, p.1–12, 2008.

GHALY, M.Y.; HARTEL, G.; MAYER, R.; HASENEDER, R. Photochemical oxidation of p-chlorophenol by UV/H₂O₂ and photo-Fenton process. A comparative study. **Waste Manage**, v.21, p.41-47, 2001.

GEBHARDT, W.; SCHRÖDER, H.F. Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry for the follow-up of the elimination of persistent pharmaceuticals during wastewater treatment applying biological wastewater treatment and advanced oxidation. **Journal of Chromatography A**, v.1160, p.34-43, 2007.

GOLABI, S.M.; HASSAN-ZADEH, V. Polarographic determination of mitoxantrone in pharmaceutical preparations and biological media. **Talanta**, v.43, p.397-406, 1996.

GONÇALVES, F.K.; OSHIMA-FRANCO, Y. O descarte de medicamentos vencidos e os aspectos toxicológicos da incineração. **Revista de Saúde Pública**, v.12, p.59-63, 2004.

GONZÁLES, O.; SANS, C.; ESPLUGAS, S.; MALATO, S. Application of solar advanced oxidation processes to the degradation of the antibiotic sulfamethoxazole. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v.8, p.1032–1039, 2009.

HALLING-SORENSEN, B.; NIELSEN, S.N.; LANZKY, P.F.; INGERSLEV, F.; LUTZHOFL-HC, JORGENSEN, S.E. Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment-A Review. **Chemosphere**, v.36, n.2, p.357-393, 1998.

HAMILTON, G.A.; FRIEDMAN, J.P.; CAMPBELL, P.M. The hydroxylation of anisole by hydrogen peroxide in the presence of catalytic amounts of ferric ion and catechol. Scope, requirements and kinetic studies. **Journal of the American Chemical Society**, v.88, n.22, p.5266–5268, 1966a.

HAMILTON, G.A.; HANIFIN, JRJ.W.; FRIEDMAN, J.P. The hydroxylation of anisole by hydrogen peroxide in the presence of catalytic amounts of ferric ion and catechol. Product studies, mechanism, and relation to some enzymic reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v.88, n.22, p.5269–5272, 1966b.

HERMAN, E.H.; ZHANG, J.; HASINOFF, B.B.; CLARK, JRJ.R.; FERRANS, V.J. Comparison of the Structural Changes Induced by Doxorubicin and Mitoxantrone in the Heart, Kidney and Intestine and Characterization of the Fe(III)-mitoxantrone Complex. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v.29, p.2415–2430, 1997.

HIROSE, J.; KONDO, F.; NAKANO, T.; KOBAYASHI, T.; HIRO, N.; ANDO, Y.; TAKENAKA, H.; SANO, K.. Inactivation of antineoplastics in clinical wastewater by electrolysis. **Chemosphere**, v.60, p.1018-1024, 2005.

HOMEM, V.; SANTOS, L. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices - A review. **Journal of Environmental Management**, v.92, p.2304-2347, 2011.

Instituto Nacional de Câncer-INCA [internet]. Brazil: Ministério da Saúde. INC; c1996-2011[cited 2011, November 9]. Disponível em: <http://www.inca.org.br/>. Acesso em 20 nov. 2011.

KAJITVICHYANUKUL, P.; SUNTRONVIPART, N.; Evaluation of biodegradability and oxidation degree of hospital wastewater using photo-Fenton process as the pretreatment method. **Journal of Hazardous Materials B**, v.138, p.384–391, 2006.

KAPUSCINSKI, J.; DARZYNKIEWICZ, Z. Relationship between the pharmacological activity of antitumor drugs Ametantrone and Mitoxantrone (Novatrone) and their ability to condense nucleic acids. **Biochemistry**, v.83, p.6302-6306, 1986.

Keene, J.H. Medical Waste: A Minimal Hazard. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v.12, p.682-685, 1991.

KESWANI, N.; KISHORE, N. Calorimetric and spectroscopic studies on the interaction of anticancer drug mitoxantrone with human serum albumin. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v.43, p.1406–1413, 2011.

KIM, I.; YAMASHITA, N.; TANAKA, H. Photodegradation of pharmaceuticals and personal care products during UV and UV/H₂O₂ treatments. **Chemosphere**, v.77, p.518–525, 2009.

KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. **Environment International**, v.35, p.402–417, 2009.

KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. **Chemosphere**, v.75, p.417–434, 2009.

KÜMMERER K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources- a review. **Chemosphere**, v.45, p.957-969, 2001.

KWAN, C.Y.; CHU, W. Photodegradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in various iron-mediated oxidation systems. **Water Research**, v.37, p.4405-4412, 2003.

Lee CC, Huffman GL. Medical waste management/incineration. **Journal of Hazardous Materials**, v.48, p.1-30, 1996.

LEGRINI, O.; OLIVEROS E.; BRAUN A. M. Photochemical processes for water treatment. **Chemical Reviews**, v.93, n.2, p.671–698, 1993.

LI, N.; MAA, Y.; YANGA, C.; GUOC, L.; YANGA, X. Interaction of anticancer drug mitoxantrone with DNA analysed by electrochemical and spectroscopic methods. **Biophysical Chemistry**, v.116, p.199–205, 2005.

LI N, YANG X. Promoted electron transfer of mitoxantrone binding with DNA by cytochrome c. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.331, p.947–952, 2005.

LINDSEY, M.E.; TARR, M.A. Quantitation of hydroxyl radical during fenton oxidation following a single addition of iron and peroxide. **Chemosphere**, v.41, n.3, p.409-417, 2000.

LOPES, L. LAAT, J.; LEGUBE, B. Charge Transfer of Iron(III) Monomeric and Oligomeric Aqua Hydroxo Complexes: Semiempirical Investigation into Photoactivity. **Inorganic Chemistry**, v.41, p.2505-2517, 2002.

MACHULEK, JR.A. **Estudos mecanísticos da origem da inibição da reação foto-Fenton por íons cloreto**. 2007. 124f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MACHULEK, JR.A.; GOGRITCCHIANI, E.; MORAES, J.E.F.; QUINA, F.H.; BRAUN, A.M.; OLIVEROS, E. Kinetic and mechanistic investigation of the ozonolysis of 2,4-xylidine (2,4-dimethyl-aniline) in acid aqueous solution. **Separation and Purification Technology**, v.67, p.141-148, 2009a.

MACHULEK, JR.A.; MORAES, J.E.F.; OKANO, L.T.; SILVÉRIO, C.A.; QUINA, F.H. Photolysis of ferric ion in the presence of sulfate or chloride ions: implications for the photo-Fenton process. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v.8, p.985-991, 2009b.

MACHULEK, JR.A.; MORAES, J.E.F.; VAUTIER-GIONGO, C.; SILVERIO, C.A.; FRIEDRIC, L.C.; NASCIMENTO, C.A.O.; GONZALES, M.C.; QUINA, F.H. . Abatement of the inhibitory effect of chloride anions in the photo-Fenton process. **Environmental Science & Technology**, v.41, p.8459-8463, 2007.

MACHULEK JR.A.; VAUTIER-GIONGO C, MORAES JEF, NASCIMENTO CAO, QUINA FH. Laser flash photolysis study of the photocatalytic step of the photo-Fenton reaction in saline solution. **Photochemistry and Photobiology**, v.82, p.208-212, 2006.

MARTIRE, D.O.; CAREGNATO, P.; FURLONG, J.; ALLEGRETTI, P.; GONZALEZ, M.C. Kinetic study of the reactions of oxoiron(IV) with aromatic substrates in aqueous solutions. **International Journal of Chemical Kinetics**, v.34, p.488-493, 2002.

MÉNDEZ-ARRIAGA, F.; ESPLUGAS, S.; GIMÉNEZ, J. Degradation of the emerging contaminant ibuprofen in water by photo-Fenton. **Water Research**, v.44, p.589-595, 2010.

MICHAEL, I.; HAPESHI, E.; MICHAEL, C.; FATTA-KASSINOS, D. Solar Fenton and solar TiO₂ catalytic treatment of ofloxacin in secondary treated effluents: Evaluation of operational and kinetic parameters. **Water Research**, v.44, p.5450-5462, 2010.

MICHELETTI, A.C.; HONDA, N.K.; LIMA, D.P.; BEATRIZ, A.; SANTANA, M.R.; CARVALHO, N.C.P.; MATOS, M.F.C.; QUEIRÓZ, L.M.M.; BOGO, D. ZORZATTTO, J.R. Chemical modifications of a natural xanthone and antimicrobial activity against multidrug resistant *Staphylococcus aureus* and cytotoxicity against human tumor cell lines. **Química Nova**, v.34, p.1014-1020, 2011.

MITOSTATE® Mitoxantrona (cloridrato) [internet] 2004. Disponível em: <http://www.neurolab.com.br/bulasdocs/BM%5B26082-1-0%5D.PDF>. Acesso em 3 dez. 2011.

MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. **Journal of the National Cancer Institute**, v.83, p.757-766, 1991. News.med.br [internet]. Notícias e informações sobre saúde. INC; c2011[cited 2011, November 9]. Disponível em: <http://www.news.med.br/>. Acesso em 3 dez. 2011.

NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal of Hazardous Materials**, v.B98, p.33-50, 2003.

NOGUEIRA, R.F.P.; GUIMARÃES, J.R. Photodegradation of dichloroacetic acid and 2,4-dichlorophenol by ferrioxalate/H₂O₂ system. **Water Research**, v.34, p.895-901, 2000.

NOGUEIRA, R.F.P.; SILVA, M.R.A.; TROVÓ, A.G. Influence of the iron source on the solar photo-Fenton degradation of different classes of organic compounds. **Solar Energy**, v.79, p.384-92, 2005.

NOGUEIRA, R.F.P.; TROVÓ A.G.; MODÉ, D.F. Solar photodegradation of dichloroacetic acid and 2,4-dichlorophenol using an enhanced photo-Fenton process. **Chemosphere**, v.48, p.385-391, 2002.

NOGUEIRA RFP, TROVÓ AG, SILVA MRA, VILLA RD. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. **Química Nova**, v.30, n.2, p.400-408, 2007.

NUSSBAUMER, S.; BONNABRY, P.; VEUTHEY, J-L.; FLEURY-SOUVERAIN, S. Analysis of anticancer drugs: A review. **Talanta**, v.85, p.2265-2289, 2011.

OCAMPO-PEREZ, R.; RIVERA-UTRILLA, J.; SANCHEZ-POLO, M.; LOPEZ-PEÑALVER, J.J.; LEYVA-RAMOS, R. Degradation of antineoplastic cytarabine in aqueous solution by gamma radiation. **Chemical Engineering Journal**, v.174, p.1-8, 2011b.

OCAMPO-PÉREZ, R.; SANCHEZ-POLO, M.; RIVERA-UTRILLA, J.; LEYVA-RAMOS, R. Enhancement of the catalytic activity of TiO₂ by using activated carbon in the photocatalytic degradation of cytarabine. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.27, p.177-184, 2011a.

OCAMPO-PÉREZ, R.; SANCHEZ-POLO, M.; RIVERA-UTRILLA, J.; LEYVA-RAMOS, R. Degradation of antineoplastic cytarabine in aqueous phase by advanced oxidation processes based on ultraviolet radiation. **Chemical Engineering Journal**, v.165, p.581-588, 2010.

OLLER, I.; MALATO, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J.A. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination—A review. **Science of the Total Environment**, v.409, p.4141–4166, 2011.

OSUGI, M.E.; ZANONI, M.V.B.; CHENTHAMARAKSHAN, C.R.; TACCONI, N.R.; WOLDEMARIAM, G.A.; MANDAL S.S.; RAJESHWAR, K.T. Toxicity Assessment and Degradation of Disperse Azo Dyes by Photoelectrocatalytic Oxidation on Ti/TiO₂ Nanotubular Array Electrodes. **Journal of Advanced Oxidation Technologies**, v.11, n.3, p.425-434, 2008.

OSUGI, M.E; RAJESHWAR, K.; FERRAZ, E.R.A.; OLIVEIRA, D.P.; ARAÚJO, Â.R.; ZANONI, M.V.B. Comparison of oxidation efficiency of disperse dyes by chemical and photoelectrocatalytic chlorination and removal of mutagenic activity. **Electrochimica Acta**, v.54, p.2086–2093, 2009.

PEREIRA, V.J.; LINDEN, K.G.; WEINBERG, H.S. Evaluation of UV irradiation for photolytic and oxidative degradation of pharmaceutical compounds in water. **Water Research**, v.41, p.4413–4423, 2007.

PEREIRA, A.V.; VALUS, N.; BELTRAME, F.L.; GARRIDO, L.H. Determinação de ferro (III) em produtos farmacêuticos por titulação fotométrica. **Acta Scientiarum. Health Science**, v.33, n.1, p.65-70, 2011.

PÉREZ-MOYA, M.; GRAELLS, M.; CASTELLS, G.; AMIGÓ, J.; ORTEGA, E.; BUHIGAS, G.; PÉREZ, L.M.; MANSILLA, H.D. Characterization of the degradation performance of the sulfamethazine antibiotic by photo-Fenton process. **Water Research**, v.44, p.2533-2540, 2010.

PIGNATELLO, J.J.; OLIVEROS, E.; MACKAY, A. Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v.36, p.1-84, 2006.

PONTES, R.F.F.; MORAES, J.E.F.; MACHULEK, JR.A.; PINTO, J.M. A mechanistic kinetic model for phenol degradation by the Fenton process. **Journal of Hazardous Materials**, v.176, p.402-413, 2010.

POZDNYAKOV, I.P.; SOSEDOVA, Y.A.; PLYUSNIN, V.F; GLEBOV, E.M.; GRIVIN, V.P.; VOROBYEV, D.Y.; BAZHIN, N.M. Photodegradation of organic pollutants in aqueous solutions caused by Fe(OH)_{aq}²⁺ photolysis: Evidence of OH radical formation. **International Journal of Photoenergy**, v.6, p.89-93, 2004.

RAJESHWAR, K.; OSUGI, M.E.; CHANMANEE, W.; CHENTHAMARAKSHAN, C.R.; ZANONI, M.V.B.; KAJITVICHYANUKUL, P.; KRISHNAN-AYER, R. Heterogeneous photocatalytic treatment of organic dyes in air and aqueous media. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v.9, p.171-192, 2008.

RAZAVI, B.; SONG, W.; SANTOKE, H.; COOPER, W.J. Treatment of statin compounds by advanced oxidation processes: Kinetic considerations and destruction mechanisms. **Radiation Physics and Chemistry**, v.80, p.453-461, 2011.

REY, R.P.; PADRON, A.S.; LEON, L.G.; POZO, M.M.; BALUJA, C. Ozonation of cytostatics in water medium. Nitrogen bases. **Ozone: Science & Engineering**, v.21, p.69-77, 1999.

ROZAS, O.; CONTRERAS, D.; MONDACA, M.A.; PÉREZ-MOYA, M.; MANSILLA, H.D.J. Experimental design of Fenton and photo-Fenton reactions for the treatment of ampicillin solutions. **Journal of Hazardous Materials**, p.1-6, 2010.

SANTOS, L.H.M.L.M.; ARAUJO, A.N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, v.175, p.45-95, 2010.

SHEMER, H.; KUNUKCU, Y.K.; LINDEN, K.G. Degradation of the pharmaceutical Metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. **Chemosphere**, v.63, p.269-276, 2006.

SCHRÖDER, A.; KLOTZ, P.; LEE, D-H.; GOLD, R.; LINKER, R.A. Stability of cognitive functions under mitoxantrone therapy in patients with progressive multiple sclerosis: A pilot analysis. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v.113, p.527-530, 2011.

SHAPOVALOV, V.I. Nanopowders and Films of Titanium Oxide for Photocatalysis: A Review. **Physics and Chemistry of Glasses**, v.36, n.2, p.121-157, 2010.

SILVA, M.R.A.; VILEGAS, W.; ZANONI, M.V.B.; NOGUEIRA, R.F.P. Photo-Fenton degradation of the herbicide tebuthiuron under solar irradiation: Iron complexation and initial intermediates. **Water Research**, v.44, p.3745-3753, 2010.

SIMIONATTO E, PERES MTLP, HESS SC, SILVA CB, CHAGAS MO, POPPI NR, PRATES CB, SANTOS ECS, MATOS MFC, CARVALHO JE. Chemical composition and cytotoxic activity of leaves essential oil from *Mangifera indica* var. coquinho.(Anacardiaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.22, p.596-599, 2010.

SIRTORI, C.; ZAPATA, A.; OLLERA, I.; GERNJAK, W.; AGÜERA, A.; MALATO, S.; Decontamination industrial pharmaceutical wastewater by combining solar photo-Fenton and biological treatment. **Water Research**, v.43, p.661–668, 2009.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D. New Colorimetric Cytotoxicity Assay For Anticâncer Drug Screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v.82, p.1107-1112, 1990.

SOBOTKA J. The efficiency of water treatment and disinfections by means of ultraviolet radiation. **Water Science and Technology**, v.27, n.3-4, p.343-346, 1993.

TAMBOSI, L.J. **Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento**. 2008. 141f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2008.

TURCI, R.; SOTTANI, C.; SCHIERL, R.; MINOIA, C. Validation protocol and analytical quality in biological monitoring of occupational exposure to antineoplastic drugs. **Toxicology Letters**, v.162, p.256–262, 2006.

VERLICCHI, P.; GALLETTI, A.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. **Journal of Hydrology**, v.389, p.416–428, 2010.

VOGNA, D.; MAROTTA, R.; ANDREOZZI, R.; NAPOLITANO, A.; D'ISCHIA, M. Kinetic and chemical assessment of the UV/H₂O₂ treatment of antiepileptic drug carbamazepine. **Chemosphere**, v.54, p.497–505, 2004.

YANGA, L.; YUA, L.E.; RAYB, M.B. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ photocatalysis. **Water Research**, v.42, p.3480–3488, 2008.

YUAN, F.; HU, C.; HU, X.; QU, J.; YANG, M. Degradation of selected pharmaceuticals in aqueous solution with UV and UV/H₂O₂ **Water Research**, v.43, p.1766-1774, 2009.

YURDAKAL, S.; LODDO, V.; AUGUGLIARO, V.; BERBER, H.; PALMISANO, G.; PALMISANO, L. Photodegradation of pharmaceutical drugs in aqueous TiO₂ suspensions: Mechanism and kinetics **Catalysis Today**, v.129, p. 9-15, 2007.

ZANTA, C.L.P.S.; FRIEDRICH, L.C.; MACHULEK JR.A.; HIGA, K.M.; QUINA, F.H. Surfactant degradation by a catechol-driven Fenton reaction. **Journal of Hazardous Materials**, v.178, p.258-263, 2010.

ZHANG, P.; LING, G.; SUN, J.; SUN, Y.; PU, X.; WANG, Z.; HE, Z. Determination of mitoxantrone in rat plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry method: Application to a pharmacokinetic study. **Journal of Chromatography B**, v.878, p.2260–2065, 2010.