

I-129 - DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO NORFLOXACINA POR PROCESSOS AVANÇADOS ENVOLVENDO DIFERENTES FONTES DE FERRO METÁLICO

Ana Luiza de Toledo Fornazari⁽¹⁾

Bacharel em Química (2005) pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Mestrado (2009) e Doutorado (2015) em Ciências pelo Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (IQSC/USP). Atualmente é pós-doutoranda no Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (DEQ/UFTM).

Lucas Fernandes Castro⁽²⁾

Graduado em Biomedicina pelo Centro Universitário Central Paulista (Unicep). Atualmente é mestrando no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (IQSC/USP).

Eduardo Bessa Azevedo⁽²⁾

Possui Graduação em Engenharia Química (1991) e Licenciatura em Química (1993) pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Mestrado (1998) e Doutorado (2003) em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (PEQ/COPPE/UFRJ). Atualmente é professor doutor da Universidade de São Paulo. Tem experiência na área de Engenharia Sanitária, com ênfase em Técnicas Avançadas de Tratamento de Águas.

Endereço⁽¹⁾: Av. Doutor Randolpho Borges Júnior, 1250 – Univerdecidade – Uberaba/MG – CEP: 38064-200 – Brasil – Tel: + 55 (16) 99761-7886 – e-mail: afornazari@hotmail.com

Endereço⁽²⁾: Av. Trab. São-carlense, 400 – Centro – São Carlos/SP – CEP:13560-970 – Brasil – Tel: +55 (16) 3373-9962.

RESUMO

Atualmente, um dos tópicos mais relevantes da Química Ambiental é a qualidade da água. A preocupação com micropoluentes, presentes no meio ambiente em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} , tem aumentado recentemente. O objetivo deste trabalho foi estudar a degradação do antibiótico norfloxacin, uma fluoroquinolona, pelo acoplamento do Processo Ferro Zero, com nanopartículas de ferro metálico ou lã de aço comercial, ao Processo Fenton. Teve-se como metas a avaliação da ecotoxicidade (*Lactuca sativa*) e da atividade antimicrobiana (*Escherichia coli*). Os experimentos de degradação foram realizados via planejamento fatorial 2^2 com a finalidade de se determinar os efeitos dos parâmetros reacionais (pH e vazão) sobre o desempenho do Processo Ferro Zero. As partículas de Fe^0 sintetizadas foram nanométricas (< 100 nm), verificou-se a sua morfologia esférica e constatou-se a presença de Fe^0 , óxidos de ferro e hidróxidos de ferro. No Processo Ferro Zero, a concentração inicial da norfloxacin foi de 1 mg L^{-1} , e após 15 min de tratamento, obteve-se uma remoção de $68,9 \pm 2,2\%$ ou $67,2 \pm 2,0\%$, quando se utilizaram as nanopartículas de ferro metálico ou lã de aço comercial, respectivamente. Ambos os processos não geraram ecotoxicidade ao organismo-teste (*Lactuca sativa*). Entretanto, as nanopartículas de ferro metálico foram mais eficientes na remoção da atividade antimicrobiana (*Escherichia coli*) e produziram menores concentrações de ferro dissolvido ao final do tratamento. As eficiências das nanopartículas de ferro metálico e da lã de aço comercial, na remoção da norfloxacin, foram bastante semelhantes. No entanto, a lã de aço comercial tem um custo menor que o das nanopartículas de ferro metálico. A única vantagem das nanopartículas de ferro metálico é um potencial aparentemente maior de remoção de atividade antimicrobiana no Processo Ferro Zero.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas, Norfloxacin, Ferro Zero, Fenton, Ecotoxicidade, Atividade antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos, vários estudos relataram a presença de novos compostos chamados de "poluentes emergentes", em águas residuárias e ambientes aquáticos [1]. A *United States Environmental Protection Agency* define poluentes emergentes como sendo novos produtos químicos cujo descarte ainda não está legislado e que possuem efeitos desconhecidos sobre o meio ambiente e a saúde humana [2].

A ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos começou a ser observada na década de 70, quando uma pesquisa relatou a presença de ácido clofíbrico, metabólito dos antilipêmicos clofibrato e etofibrato, na faixa de concentração de $\mu\text{g L}^{-1}$ em efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE) na cidade de Kansas, nos Estados Unidos [3]. Desde então, uma grande quantidade de trabalhos relata a presença de fármacos em diversos ambientes aquáticos, em várias partes do mundo [4-8]. No Brasil, um dos primeiros trabalhos publicados sobre a ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos é o de Stumpf et al. (1999) que detectou a presença de ibuprofeno, diclofenaco, ácido acetilsalicílico etc. em efluentes de ETE na cidade do Rio de Janeiro [9].

As fluoroquinolonas surgiram na década de 80 com o acréscimo de um átomo de flúor no anel quinolônico do ácido nalidíxico, tornando-se quinolonas de segunda geração [10]. Este agente antimicrobiano possui uma ótima farmacocinética, com boa biodisponibilidade oral. As fluoroquinolonas atuam por inibição da DNA-girase bacteriana, complexo enzimático que participa do processo de replicação do DNA bacteriano e da topoisomerase tipo IV do DNA bacteriano [11]. Dentre as fluoroquinolonas, a norfloxacin (NOR) é a que apresenta farmacocinética menos favorável, sendo que apenas 30% a 40% da dose administrada são absorvidos por via oral. A NOR sofre metabolismo hepático e excreção renal [11].

A NOR já foi encontrada em diversos ambientes aquáticos, como em rios [12], efluentes hospitalares e lagoas de cultura de camarões [13-14].

A utilização dos Processos Oxidativos Avançados (POA), os quais utilizam fortes agentes oxidantes (O_3 , H_2O_2) e/ou catalisadores (Fe, TiO_2), para a degradação/remoção de substâncias orgânicas em águas vem sendo estudada e aprimorada nos últimos anos, sendo uma alternativa financeiramente viável e que pode ser combinada com os tratamentos convencionais já aplicados [15].

O processo que utiliza partículas de ferro metálico (Fe^0) vem sendo estudado desde a década de 70, porém somente a partir da década de 90 os estudos sobre a remediação de poluentes orgânicos via oxidação do ferro metálico se tornaram expressivos [16-17]. O uso de nanopartículas de ferro metálico para o tratamento de águas e efluentes é recente, como o estudo da remoção dos antibióticos amoxicilina [18], metronidazol [19], ciprofloxacina [20], etc.

Neste estudo a síntese das nanopartículas de ferro metálico (NPFe^0) foi realizada por um método *bottom-up*, onde sais de Fe^{2+} (ou Fe^{3+}) são reduzidos com borohidreto de sódio. Essa síntese é relativamente simples, utiliza-se dois reagentes comuns e não há a necessidade de nenhuma instrumentação ou equipamento sofisticado [21].

A lã de aço comercial é uma liga com baixo teor de carbono, composta basicamente de ferro metálico (~ 98%), como se pode constatar por caracterizações já relatadas na literatura [22].

A corrosão do Fe^0 é um processo eletroquímico (semi-reação anódica), sendo que a reação catódica dependerá da reatividade das espécies aceptoras de elétrons presentes no meio. Quando o Fe^0 é oxidado em meio aquoso anódico, os aceptores de elétrons são os íons H^+ e água; assim, além da geração dos íons Fe^{2+} , há a formação das espécies reduzidas H_2 e OH^- , de acordo com as Equações 1 e 2 [23].



Em condições óxicas, o oxigênio será o aceptor de elétrons, havendo somente a formação de hidroxila, como mostra a Equação 3.



A oxidação do Fe^0 pode ainda formar peróxido de hidrogênio (Equação 4).



Os íons Fe^{2+} podem ser oxidados a Fe^{3+} , como demonstra a Equação 5.

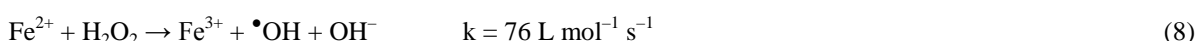


O Fe^{3+} pode reagir com a hidroxila, ou com a água, para formar hidróxidos e/ou oxi-hidróxidos de ferro, de acordo com as Equações 6-7. O hidróxido de ferro também pode ser desidratado e formar óxidos.

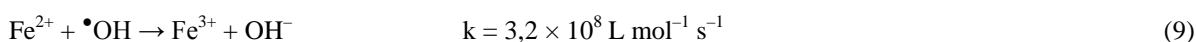


As espécies geradas nas equações 3-7 podem reagir com compostos orgânicos e oxidá-los ou reduzi-los, conforme o meio reacional. Quando o Fe^0 gera Fe^{2+} e/ou Fe^{3+} juntamente com a formação ou na presença de peróxido de hidrogênio, as NPFe⁰ participam do Processo Fenton.

O processo Fenton ocorre espontaneamente na presença de íons ferrosos (Fe^{2+}) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) gerando o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) [24], de acordo com a Equação 8:



Os radicais hidroxila podem também oxidar os íons ferrosos (Fe^{2+}) gerando íons férrico (Fe^{3+}) (Equação 9):



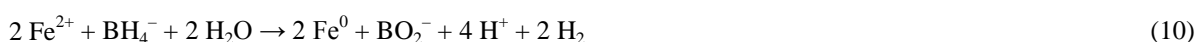
Os íons ferrosos em solução aquosa (e na ausência de outros ligantes) estão na forma de aquocomplexos, porém para simplificar as equações, as moléculas d'água coordenadas foram omitidas. Os íons férrico formados podem decompor cataliticamente o H_2O_2 à H_2O e O_2 , dependendo do pH, e formar íons ferrosos e radicais [24].

A máxima eficiência da reação de Fenton ocorre em valores ácidos de pH, onde a decomposição do peróxido de hidrogênio é eficaz e gera maior quantidade do radical hidroxila. Em $\text{pH} > 3$ começam a precipitar lentamente oxi-hidróxidos de ferro(III) amorfos, gerando turbidez e/ou uma cor levemente amarelo-alaranjada. Os íons ferrosos também tendem a coprecipitar com os oxi-hidróxidos férricos. Por outro lado, em valores de pH abaixo de 2,5 há o sequestro dos radicais hidroxila pelo H^+ . Assim, a melhor faixa de pH para a reação de Fenton é entre os valores de pH 2,5 e 3 [24].

Assim, esta pesquisa propõe o acoplamento do processo Ferro Zero com o processo Fenton, utilizando-se nanopartículas de ferro metálico ou lã de aço comercial para a degradação do antibiótico norfloxacin.

MATERIAIS E MÉTODOS

A síntese das nanopartículas de ferro metálico foi realizada pela reação de redução do sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) pelo borohidreto de sódio (NaBH_4) [21], como mostrado na Equação 10. Usou-se areia durante a síntese como material de suporte.



As NPFe⁰ foram filtradas, lavadas duas vezes com etanol e armazenadas em dessecador sob vácuo.

A lã de aço comercial foi colocada em uma solução 10% de H_2SO_4 por 1 min e depois enxaguada 3 vezes com água destilada antes de ser colocada no reator (ativação).

As degradações da NOR foram realizadas em um sistema contínuo ilustrado na Figura 1. As diferentes fontes de Fe^0 foram colocadas em um reator de vidro de leito fixo. Em seguida, em outro reator de vidro, realizou-se a adição controlada de peróxido de hidrogênio (5 mmol L^{-1}) com a ajuda de uma bomba peristáltica Ismatec®, modelo IPC (vazão de 10 mL min^{-1}). A concentração utilizada no vaso de mistura foi de 1 mmol L^{-1} , aproveitando-se o Fe^{2+} gerado na oxidação do Fe^0 para realizar o processo Fenton e aumentar a eficiência de degradação da NOR (Figura 2).

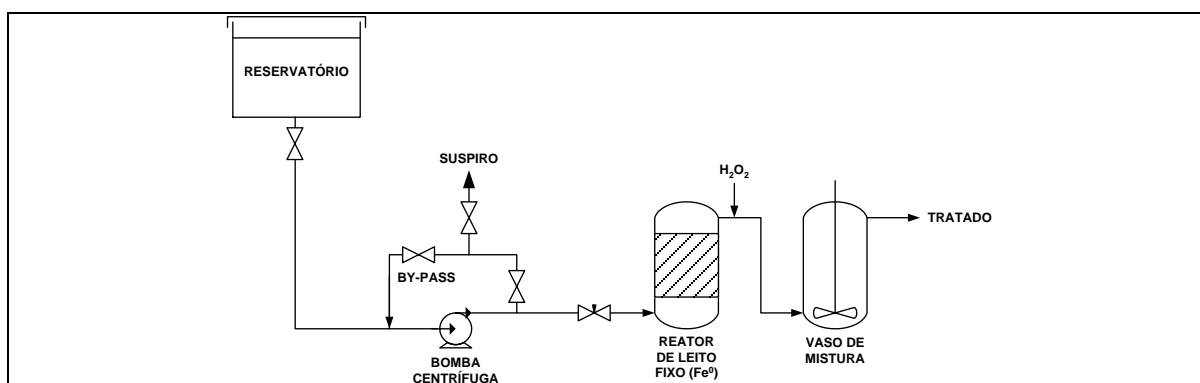


Figura 1: Representação do sistema reacional.

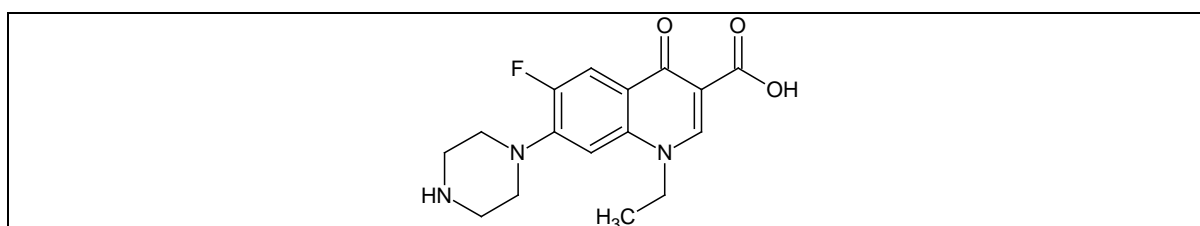


Figura 2: Estrutura molecular do antibiótico estudado (norfloxacina).

A degradação da NOR, tanto com as NPFe⁰ quanto com a lâ de aço comercial, foi realizada segundo um planejamento fatorial 2² em duplicata (*software* Statistica[®] 11.0). Dois fatores, pH (3 e 5) e vazão (20 e 40 mL min⁻¹), foram estudados.

A concentração da NOR foi monitorada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, utilizando-se um cromatógrafo da série 20A da Shimadzu acoplado com um Espectrômetro de Massas com sistema híbrido quadrupolo, modelo Microtof-QII (Bruker Daltonics), uma coluna Zorbax 5μ C-18, fase reversa (250 × 4,60 mm) (Agilent) mantida a 40°C. A fase móvel utilizada foi composta de acetonitrila:água (12:88 em volume), ambas acidificadas com 0,1% de ácido fórmico. O cromatógrafo foi operado em modo isocrático, com uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. O espectrômetro de massas foi operado em modo de ionização *electrospray* positivo.

A quantificação da concentração do ferro dissolvido foi realizada pelo método da *o*-fenantrolina, com leitura em um espectrofotômetro Cary Win UV Scan Application, da marca Varian, em 511 nm [25].

O teste de ecotoxicidade foi realizado para se observar a possível geração ou diminuição de compostos tóxicos durante a degradação. Estas análises foram realizadas utilizando-se sementes de *Lactuca sativa*. As sementes foram lavadas com uma solução 0,1% em massa, de hipoclorito de sódio por 20 min e em seguida enxaguadas por 10 min por três vezes. Dez sementes foram colocadas sobre um papel de filtro embebido com 2 mL de amostra, dentro de uma placa de Petri. Esta etapa foi realizada para 5 diferentes concentrações de amostra (100, 70, 50, 30 e 10%) em quadruplicata. As sementes foram incubadas por 120 h (no escuro e a 24 ± 1°C). Após esse período, mediu-se o hipocótilo das sementes que germinaram e calculou-se o índice de germinação de cada amostra [26-27].

O teste de susceptibilidade à NOR e seus produtos de degradação foi realizado utilizando-se uma cepa de *Escherichia coli* (ATCC 25922) [28]. A cultura microbiana padrão foi fixada em 10⁶ células mL⁻¹ (densidade ótica de 0,324 em 590 nm) [29]. Em uma placa de 96 poços, adicionaram-se 50 μL de cada solução a ser testada, 50 μL de caldo Muller Hinton e 100 μL da suspensão celular padronizada. As amostras foram incubadas com agitação orbital a 37°C por 18 horas [28]. A densidade ótica foi obtida pela leitura da absorbância em um espectrofotômetro (Hitachi U-2800).

Após a incubação, as amostras foram transferidas para microtubos e centrifugadas por 10 min a 1.300 rpm. Os sobrenadantes foram descartados e aos precipitados adicionaram-se 50 μL de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) a 2 mg mL⁻¹. Os microtubos foram incubados a 37°C por 30 min. Em seguida, os microtubos foram centrifugados por 5 min a 6.000 rpm, os sobrenadantes foram novamente

descartados e aos precipitados adicionaram-se 150 μL de isopropanol. Em seguida, foram homogeneizados em agitador de tubos por 1 min, adicionaram-se 50 μL de PBS (tampão fosfato salino), homogeneizados novamente e lidas as absorbâncias em leitora de placas em 560 nm [30].

DEGRADAÇÃO PELO PROCESSO FERRO ZERO

O reator de leito fixo foi preenchido com aproximadamente 100 mg de nanopartículas de Fe^0 mais 4 g de areia (material suporte) ou com 7,50 g de lã de aço comercial da marca Bombril[®].

A remoção da NOR obtida em cada ensaio do planejamento fatorial 2^2 , no qual variou-se o pH e a vazão do sistema, pode ser observada na Tabela 1. A variável-resposta utilizada foi a porcentagem de remoção do fármaco. Os melhores resultados foram obtidos em pH 3 e vazão de 20 mL min^{-1} para ambas as fontes de Fe^0 .

Tabela 1: Porcentagens de remoção da norfloxacin pelo Processo Ferro Zero utilizando-se as nanopartículas de ferro metálico (NPFe^0) ou lã de aço comercial.

Ensaio	Vazão (mL min^{-1})	pH	NPFe^0 (%)	Lã de aço comercial (%)
1	20	3	66,8	65,9
5	20	3	71,0	68,4
2	40	3	62,8	62,8
6	40	3	65,1	59,8
3	20	5	38,2	32,2
7	20	5	34,1	38,4
4	40	5	49,5	39,0
8	40	5	43,2	41,7
Erro-padrão (%)			2,2	2,0

Com o planejamento fatorial, estimou-se o efeito das variáveis estudadas e concluiu-se quais eram estatisticamente significativas (95% de confiança). Definiu-se, assim, o ponto ótimo para a degradação, dentro do espaço de variáveis estudado.

Ao se analisar os dados no software Statistica[®] 11.0 pôde-se afirmar, a partir das superfícies resposta geradas, que os melhores resultados de remoção da NOR foram nos níveis inferiores de pH e vazão, 3 e 20 mL min^{-1} , respectivamente. As remoções foram, em média, de $68,9 \pm 2,2\%$ ou $67,2 \pm 2,0\%$ utilizando-se NPFe^0 ou lã de aço comercial, respectivamente. A Figura 3 apresenta as superfícies de resposta obtidas, sendo a Figura 3a a superfície-resposta para os ensaios utilizando-se as NPFe^0 e a Figura 3b, utilizando-se a lã de aço comercial.

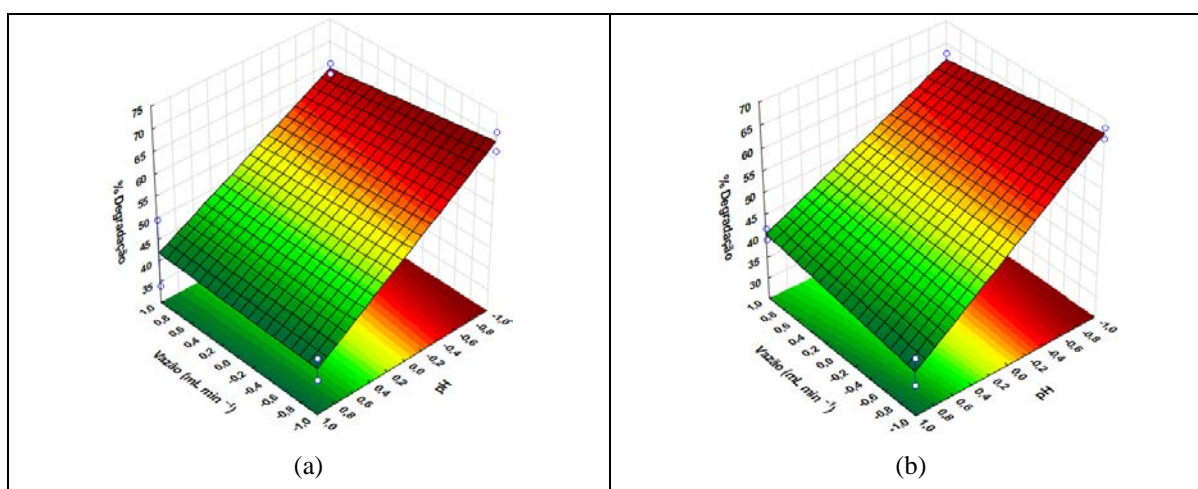


Figura 3: Superfícies resposta obtidas: (a) nanopartículas de ferro metálico e (b) lã de aço comercial.

Pôde-se observar que não houve uma diferença significativa de remoção da NOR quando a vazão foi variada.

A remoção da NOR diminui com o aumento do pH, principalmente, devido a dois fatores: em valores baixos de pH, a corrosão do ferro é acelerada; por outro lado, em valores de pH acima de 7, um filme apassivador de hidróxido férrico tende a se formar na superfície do ferro, inibindo o contato com os compostos orgânicos [31].

A Figura 4 apresenta os gráficos de Pareto gerados, confirmando que a vazão, nos níveis testados, não é uma variável significativa para o Processo Ferro Zero. Como o valor do efeito do pH foi negativo, significa que passar do nível menor para o maior deste fator tem um resultado negativo sobre a remoção da NOR.

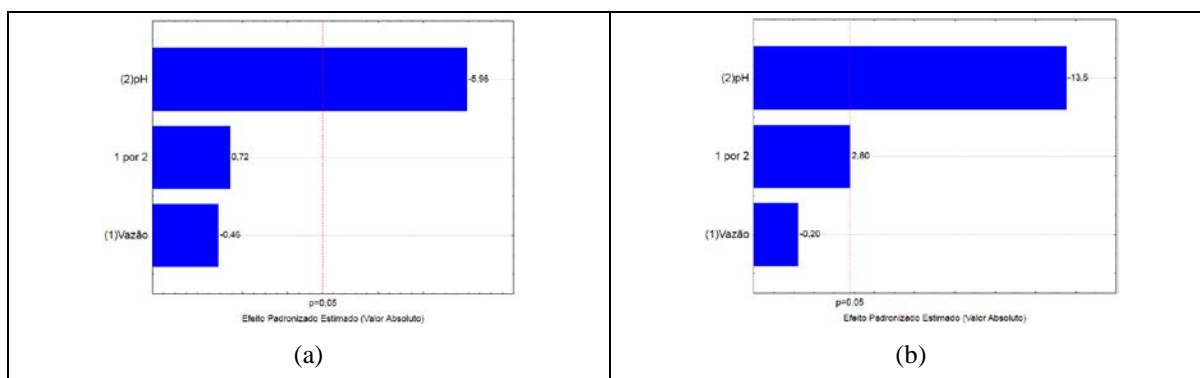


Figura 4: Gráficos de Pareto obtidos: (a) nanopartículas de ferro metálico e (b) lã de aço comercial.

ACOPLAMENTO DO PROCESSO FENTON AO PROCESSO FERRO ZERO

Após a adição de H_2O_2 , atingiram-se degradações de aproximadamente 96% (concentração residual de $40 \mu g L^{-1}$), independentemente da fonte de Fe^0 . Não se observou a formação de subprodutos de degradação.

O limite máximo imposto pela Resolução CONAMA N° 403/2011 para o descarte de ferro dissolvido em corpos d'água ($15,0 mg L^{-1}$) não foi ultrapassado em nenhuma das condições testadas. As concentrações, no estado estacionário, foram de aproximadamente 5,8 e $12,6 mg L^{-1}$ para os reatores de leito fixo preenchido com as nanopartículas de Fe^0 ou lã de aço comercial, respectivamente.

Para as NPF_{Fe^0} , levando-se em conta a massa de 100 mg adicionada no reator de leito fixo e a concentração final de, aproximadamente, $6 mg Fe L^{-1}$, seria possível o tratamento de 17 L de uma solução a $1 mg NOR L^{-1}$. Como a concentração de saída do NOR foi de, aproximadamente, $310 \mu g L^{-1}$, isso significaria uma remoção de 11,5 mg de NOR.

Com a massa inicial de 7,39 g de lã de aço comercial seria então possível o tratamento de 1.232 L da solução a $1 mg NOR L^{-1}$. Com uma concentração de saída de NOR de, aproximadamente, $330 \mu g L^{-1}$, isso significaria uma remoção de 824,1 mg de NOR.

Ao se calcular então a massa de NOR removida por grama de Fe^0 utilizado, verifica-se que as NPF_{Fe^0} removeram $115 mg NOR g^{-1} Fe$, enquanto a lã de aço comercial removeu $112 mg NOR g^{-1} Fe^0$. Portanto, não houve diferença significativa entre as eficiências das duas fontes de ferro metálico utilizadas.

TESTES BIOLÓGICOS

Nenhuma das amostras testadas com o antibiótico norfloxacin apresentou ecotoxicidade ao organismo-teste *Lactuca sativa*.

No teste de susceptibilidade à NOR ($1,0 mg L^{-1}$), apenas 37% das culturas da bactéria *Escherichia coli* sobreviveram, aproximadamente. Nas amostras provenientes do tratamento com as NPF_{Fe^0} e H_2O_2 , a porcentagem de sobrevivência aumentou para aproximadamente 53% após a primeira etapa e 84% após o tratamento completo. Já com o uso da lã de aço comercial, as porcentagens foram de 34 e 49%, respectivamente (Figura 5). Embora não tenha sido observada a formação de produtos após o tratamento (na

análise cromatográfica), aparentemente uma ou mais substâncias foram formadas com a lã de aço comercial que inibiram o crescimento das bactérias.

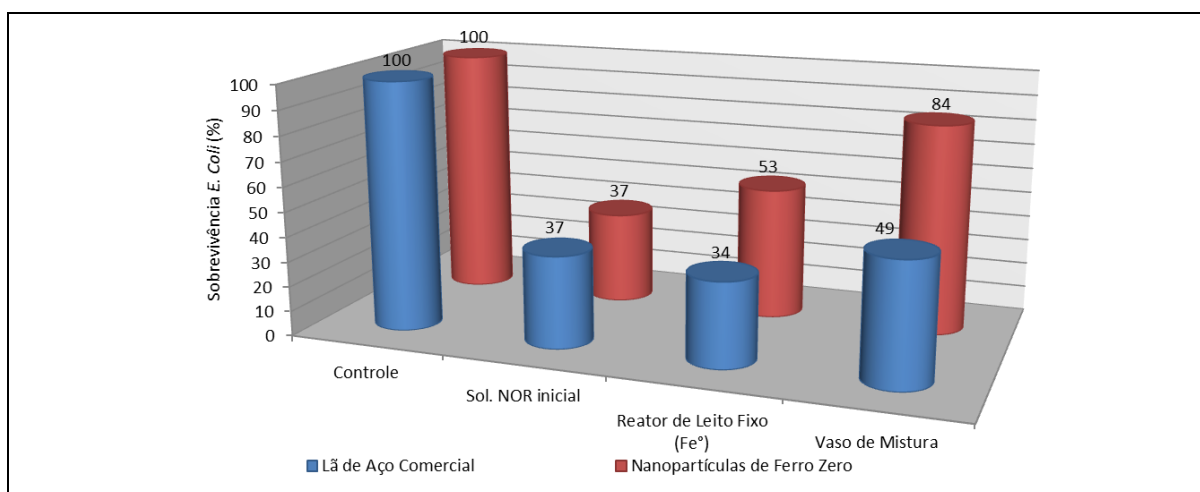


Figura 5: Média dos índices de sobrevivência das culturas da bactéria *E. coli* submetidas às amostras Controle, Solução inicial, Saída do reator de leito fixo e Solução final tratada: (■) nanopartículas de ferro metálico e (■) lã de aço comercial.

CONCLUSÕES

Os processos avançados utilizando nanopartículas de ferro metálico ou lã de aço comercial foram capazes de degradar aproximadamente 70% de uma solução do antibiótico norfloxacin a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, em um único passe.

A vazão, nos níveis testados, não foi uma variável significativa para ambos os processos. A posterior adição de H_2O_2 (aproveitando-se as espécies de ferro solúvel formadas para a realização de reações de Fenton ou tipo-Fenton) elevou a degradação a 96% (aproximadamente $40 \mu\text{g norfloxacin L}^{-1}$ presentes na solução final).

Os dois processos não geraram ecotoxicidade ao organismo-teste *Lactuca sativa*.

Entretanto, as nanopartículas de ferro metálico foram mais eficientes na remoção da atividade antimicrobiana (*Escherichia coli*) e produziram uma menor concentração de ferro dissolvido ao final do tratamento.

As eficiências das nanopartículas de ferro metálico e da lã de aço comercial, na remoção da norfloxacin, foram bastante semelhantes. No entanto, quando os custos são levados em consideração, a lã de aço comercial tem um custo centenas de vezes menor que o das nanopartículas de ferro metálico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DEBLONDE, T., COSSU-LEGUILLE, C., HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 214, n. 6, p. 442-448, 2011.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs). 2012. Disponível em: <<http://epa.gov/ppcp>>. Acesso em: 13 dez. 2013.
- HIGNITE, C., AZARNOFF, D. L. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sciences*, v. 20, n. 2, p.337-342, 1977.
- CALAMARI, D., ZUCCATO, E., CASTIGLIONI, S., BAGNATI, R., FANELLI, R. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy. *Environmental Science & Technology*, v. 37, n. 7, p. 1241-1248, 2003.
- FENT, K., WESTON, A. A., CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, v. 72, n. 2, p. 122-159, 2006.

6. ESCHER, B. I., BAUMGARTNER, R., KOLLER, M., TREYER, K., LIENERT, J., McARDELL, C. S. Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water Research*, v. 45, n. 1, p. 75-92, 2011.
7. WRITER, J. H., FERRER, I., BARBER, L. B., THURMAN, E. M. Widespread occurrence of neuro-active pharmaceuticals and metabolites in 24 Minnesota rivers and wastewaters. *Science of the Total Environment*, v. 461-462, p. 519-527, 2013.
8. RODRIGUEZ-MOZAZ, S., CHAMORRO, S., MARTI, E., HUERTA, B., GROS, M., SÀNCHEZ-MELSIÓ, A., BORREGO, C. M., BARCELÓ, D., BALCÁZAR, J. L. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Research*, v. 69, n. 1, p. 234-242, 2015.
9. STUMPF, M., TERNES, T. A., WILKEN, R. D., RODRIGUES, S. V., BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Science of the Total Environment*, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, 1999.
10. BRYSKIER, A., CHANTOT, J. F. Classification and structure-activity relationships of fluoroquinolones. *Drugs*, v. 49, n. 2, p. 16-28, 1995.
11. SWEETMAN, S. C. Martindale: The complete drug reference. London: Pharmaceutical Press, 2002. 4160 p.
12. XU, W.-H., ZHANG, G., ZOU, S.-C., LI, X.-D., LIU, Y.-C. Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*, v. 145, n. 3, p. 672-679, 2007.
13. DUONG, H. A., PHAM, N. H., NGUYEN, H. T., HOANG, T. T., PHAM, H. V., PHAM, V. C., BERG, M., GIGER, W., ALDER, A. C. Occurrence, fate and antibiotic resistance of fluoroquinolone antibacterials in hospital wastewaters in Hanoi, Vietnam. *Chemosphere*, v. 72, n. 6, p. 968-973, 2008.
14. LE, T. X., MUNEKAGE, Y. Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Vietnam. *Marine Pollution Bulletin*, v. 49, n. 11-12, p. 922-929, 2004.
15. GHAUCH, A. Degradation of benomyl, picloram, and dicamba in a conical apparatus by zero-valent iron powder. *Chemosphere*, v. 43, n. 8, p. 1109-1117, 2001.
16. GILLHAM, R. W., O'HANNESIN, S. F. Enhanced degradation of halogenated aliphatics by zero-valent iron. *Ground Water*, v. 32, n. 6, p. 958-967, 1994.
17. GILLHAM, R. W. Recent advances in ground-water pollution control and remediation. Dordrecht: Kluwer Academic, 1996. p. 249-274.
18. GHAUCH, A., TUQAN, A., ASSI, H. A. Antibiotic removal from water: Elimination of amoxicillin and ampicillin by microscale and nanoscale iron particles. *Environmental Pollution*, v. 154, n. 5, p. 1626-1635, 2009.
19. FANG, Z., CHEN, J., QIU, X., QIU, X., CHENG, W., ZHU, L. Effective removal of antibiotic metronidazole from water by nanoscale zero-valent iron particles. *Desalination*, v. 268, n. 1-3, p. 60-67, 2011.
20. PERINE, J. A. L., SILVA, B. F., NOGUEIRA, R. F. P. Zero-valent iron mediated degradation of ciprofloxacin - Assessment of adsorption, operational parameters and degradation products. *Chemosphere*, v. 117, p. 345-352, 2014.
21. PONDER, S. M., DARAB, J. G., MALLOUK, T. E. Remediation of Cr(VI) and Pb(II) aqueous solutions using supported, nanoscale zero-valent iron. *Environmental Science & Technology*, v. 34, n. 12, p. 2564-2569, 2000.
22. TAUCHERT, Elias. Degradação de espécies organocloradas por processos avançados envolvendo ferro metálico. 2006. 100 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
23. LI, X.-Q., ELLIOT, D. W., ZHANG, W.-X. Zero-valent iron nanoparticles for abatement of environmental pollutants: Materials and engineering aspects. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, v. 31, n. 4, p. 111-122, 2006.
24. 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, n. 6, p. 1-84, 2006.
25. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, D. C., 2005. p. 3-77.
26. ORTEGA, M. C., MORENO, M. T., ORDOVAS, J., AGUADO, M. T. Behaviour of different horticultural species in phytotoxicity bioassays of bark substrates. *Scientia Horticulturae Turae*, v. 66, n. 1-2, p. 125-132, 1996.
27. ROSSI, D., BELTRAMI, M. Sediment ecological risk assessment: in situ and laboratory toxicity testing of Lake Orta sediments. *Chemosphere*, v. 37, n. 14-15, p. 2885-2894, 1998.
28. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Tecnologia em serviços de saúde: Controle Interno da Qualidade para testes de Sensibilidade a Antimicrobianos. Brasília, 2006. 58 p.

29. VILELA, Simone. Ação de diferentes fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica antimicrobiana. 2010. 79 p. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José dos Campos, 2010.
30. STEVEN, M. G., OLSEN, S. C. Comparative analysis of using MTT and XTT in colorimetric assays for quantitating bovine neutrophil bactericidal activity. *Journal of Immunological Methods*, v. 157, n. 1-2, p. 225-231, 1993.
31. ZHANG, W., QUAN, X., WANG, J., ZHANG, Z., CHEN, S. Rapid and complete dechlorination of PCP in aqueous solution using Ni-Fe nanoparticles under assistance of ultrasound. *Chemosphere*, v. 65, n. 1, p. 58-94, 2006.