

ESTUDO PARAMÉTRICO DA OXIDAÇÃO DE ENROFLOXACINA PELO PROCESSO FENTON

V. M. F. FRADE, M. S. A. PALMA

Universidade de São Paulo, Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
E-mail para contato: msapalma@usp.br

RESUMO – Após a administração do fármaco, uma parte significativa deste, aproximadamente 10 a 90% (Kümmerer, 2009), é excretada do corpo humano de forma inalterada para o esgoto doméstico. A presença de antibióticos no ambiente pode acarretar a seleção de microrganismos resistentes a esses medicamentos, fazendo com que as drogas utilizadas atualmente não sejam mais eficazes. Neste trabalho foi estudada a degradação de enrofloxacin, que é um antibiótico amplamente utilizado na medicina veterinária, através do processo Fenton de acordo com um planejamento experimental do tipo Delineamento Composto Central Rotacional – DCCR. Foram estudadas as influências da temperatura (20, 25, 32 e 40°C), concentrações iniciais de peróxido de hidrogênio, $C_{H_2O_2,0}$, (100, 262, 500, 611, 738, 900 e 1000 mg/L) e íon ferroso, $C_{Fe^{2+},0}$, (5, 10, 20, 28,3, 35, 40, 45, 50 e 62,5 mg/L), na concentração residual de enrofloxacin e de carbono orgânico total (TOC). Foi realizado um estudo paramétrico das variáveis ao redor da condição experimental que resultou na menor concentração residual final de enrofloxacin $C_{E,Res,Final} = 13,0$ mg/L para 28,3 mg/L de íon ferroso, 738 mg/L de peróxido de hidrogênio e 32,0°C. Através do estudo paramétrico obteve-se $C_{E,Res,Final} = 12,0$ mg/L para 35 mg/L de íon ferroso, 738 mg/L de peróxido de hidrogênio e 32,0°C. Nesta condição obteve-se redução de 31% da matéria orgânica inicial (63,4 mg/L). Apesar da baixa eficiência de degradação o processo Fenton pode ser utilizado em conjunto com outros processos de tratamento para diminuir a atividade bacteriana do fármaco.

1. INTRODUÇÃO

Pequenas quantidades de antibióticos e seus metabolitos têm sido detectados nos esgotos, solo, águas superficiais e subterrâneas, em várias partes do mundo, como Alemanha, Brasil, Canadá, Holanda, Inglaterra, Itália, Suécia, Estados Unidos, Reino Unido (Bila e Dezotti, 2003; Ikehata *et al.*, 2006; Tambosi, 2008), Japão (Gosh *et al.*, 2009), Espanha (Gros *et al.*, 2010), França, Suíça, Grécia (Melo *et al.*, 2009), Áustria (Regitano e Leal, 2010) e China (Guinea *et al.*, 2009). A presença de antibióticos pode afetar o ecossistema e desenvolver a resistência bacteriana, que é favorecida pelas baixas concentrações dos antibióticos no meio ambiente (Yuan *et al.*, 2011; Fink *et al.*, 2012). A enrofloxacin (ácido ciclopropil-7-(4-etil-1-piperazinil)-6-fluoro-1,4-diidro-4-oxo-3-quinoleína carboxílico), é um antimicrobiano sintético da segunda geração das fluoroquinolonas, sendo utilizada exclusivamente na medicina veterinária. A enrofloxacin atua inibindo a enzima DNA girase bacteriana, possui um largo espectro de ação, e é indicada para o tratamento de um grande número de

doenças infecciosas causadas por bactérias gram positivas, gram negativas, micoplasmas e espiroquetas (Lizondo *et al.*, 1997; Otero *et al.*, 2001; Silva, 2004; Sousa, 2007; Frade *et al.*, 2014). O reagente de Fenton foi descoberto há aproximadamente 100 anos atrás, mas sua aplicação como um oxidante para o processo de destruição de compostos orgânicos tóxicos não foi aplicado até 1960. A reação de Fenton é muito conhecida no tratamento de águas residuais por ser muito eficaz na remoção ou destruição de poluentes orgânicos presentes na água. A maior vantagem é a completa destruição do contaminante em compostos inofensivos, como água, gás carbônico e sais inorgânicos. A reação de Fenton causa a dissociação do oxidante (peróxido de hidrogênio) e a formação de radicais hidroxila, que são altamente reativos, pouco seletivos e atacam e destroem o poluente orgânico (Neyens e Baeyens, 2003). No processo Fenton, os radicais hidroxila são gerados pela decomposição do H_2O_2 na presença de íons Fe^{+2} em meio ácido. Em solução aquosa, os íons Fe^{+3} existem na forma de aquo/hidroxo complexos, cuja proporção depende do pH (Melo *et al.*, 2009). A maior vantagem associada ao processo foto Fenton é a simplicidade na operação, empregando reagentes de baixo custo e não tóxicos ao ambiente nas condições empregadas, podendo-se trabalhar em condições ambientes de temperatura e pressão, havendo ainda a possibilidade do uso de energia solar, o que pode acarretar em uma redução nos custos do processo, principalmente quando se opera em larga escala.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Para os ensaios de degradação foram utilizados enrofloxacina, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), para a quantificação do fármaco foi empregado cloreto férrico ($FeCl_3$), para a interrupção da reação após a amostragem, para quantificação da enrofloxacina, metabissulfito de sódio ($Na_2S_2O_5$), que reage com o peróxido de hidrogênio. Para a amostragem para determinação de TOC, iodeto de potássio (KI), sulfito de sódio (Na_2SO_3) e hidróxido de sódio (NaOH). Em todos os ensaios e amostragens utilizou-se água destilada, bem como para o preparo das soluções.

2.2. Equipamentos

A aparelhagem experimental utilizada nos ensaios está esquematizada na Figura 1.

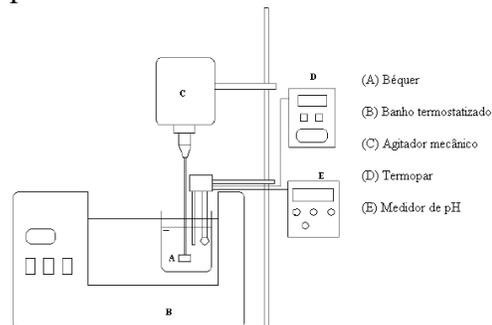


Figura 1 – Equipamento experimental para os ensaios de oxidação.

O equipamento consistia de banho termostático, refrigerador, béqueres, balões volumétricos, balança semi analítica, agitadores mecânicos, termômetro, pHmetro, bureta, além de um espectrofotômetro VIS para a quantificação da enrofloxacin durante o curso da reação. O béquer (A) contendo a solução aquosa de enrofloxacin a 100 ppm era imerso em um banho termostático (B), com temperatura ajustável entre 0 e 100°C. O béquer dispunha de um agitador mecânico (C), um termopar (D), um medidor de pH (E). Nas dosagens e amostragens utilizaram-se micropipetas de 0 a 20, 20 a 200 e de 100 a 1000 µL.

2.3. Ensaio de oxidação

Transferia-se 200 mL de solução aquosa de enrofloxacin com concentração de 100 ppm para um béquer envolto em papel alumínio, de modo que a reação ocorresse na ausência de luz e, em seguida, o béquer era colocado em banho termostático com a temperatura ajustada de acordo com o planejamento experimental. Quando o conteúdo do béquer alcançava a temperatura desejada, adicionava-se o agente oxidante e o catalisador. Em seguida media-se o pH e acionava-se o cronômetro. Os ensaios de oxidação da enrofloxacin foram realizados de acordo com o planejamento experimental do tipo Delineamento Composto Central Rotacional, DCCR (Frade *et al.*, 2012).

2.4. Técnicas analíticas

A quantificação da enrofloxacin está descrita na literatura (Frade, 2013). Para a determinação da TOC adicionava-se 3,5 mL de solução inibidora do sistema Fenton (solução de KI, Na₂SO₃ e NaOH, 0,1M de cada componente) a 3,5 mL do meio reacional. Esta mistura era filtrada com filtro de acetato de celulose 0,45 µm diretamente para um vial e a este se adicionava 5 gotas de H₂SO₄ 1:5, garantindo pH na faixa entre 2,0 e 3,0. Com auxílio de filme plástico, a abertura do vial era selada, possibilitando a homogeneização e posterior determinação no equipamento TOC-5000A (Shimadzu), localizado no Centro de Sistemas de Engenharia Química – CESQ do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da USP.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios segundo o planejamento DCCR já foram publicados anteriormente (Frade *et al.*, 2012) e não serão mostrados aqui. Observou-se uma grande variação nos resultados de $C_{E,Residual}$ que variaram de 13,0 a 92,6 mg/L. A menor concentração residual final de enrofloxacin foi de 12,0 mg/L para 28,3 mg/L de íon ferroso, 738 mg/L de peróxido de hidrogênio e temperatura de 32,0°C, resultando em uma redução de aproximadamente 31% de matéria orgânica em relação à inicial, que era de 63,4 mg/L. Estes resultados também mostram que o planejamento utilizado contemplou condições operacionais que influenciaram significativamente a variável dependente. Os resultados foram tratados com o Software Statística[®] e mostraram que apenas a concentração de íon ferroso foi significativa ($p < 0,05$). Com base nos resultados experimentais fez-se um novo planejamento experimental para o estudo paramétrico mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Novo planejamento experimental para determinação da condição reacional mais favorável.

Parâmetro	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6	Central
$C_{Fe^{2+}}$ (ppm)	28,3	28,3	5,0	62,5	28,3	28,3	28,3
$C_{H_2O_2}$ (ppm)	738,0	738,0	738,0	738,0	262,0	900,0	738,0
T (°C)	20,0	40,0	32,0	32,0	32,0	32,0	32,0

Nas Figuras 2 a 4 são mostrados os efeitos de cada parâmetro na degradação da enrofloxacin.

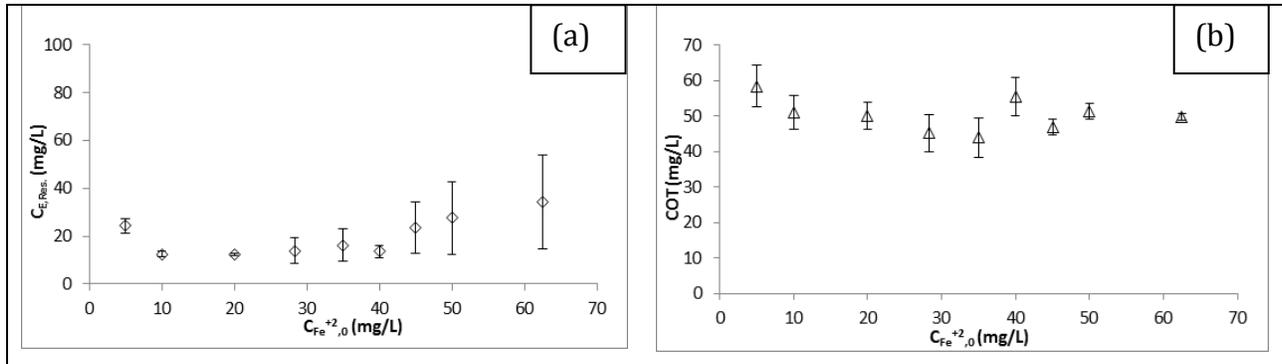


Figura 2 - Influência de $C_{Fe^{2+}}$ inicial na $C_{E,Res,Final}$ (a) e TOC_{Final} (b). $T = 32^\circ C$, $C_{H_2O_2,0} = 738,0$ ppm, $pH = 3,0$

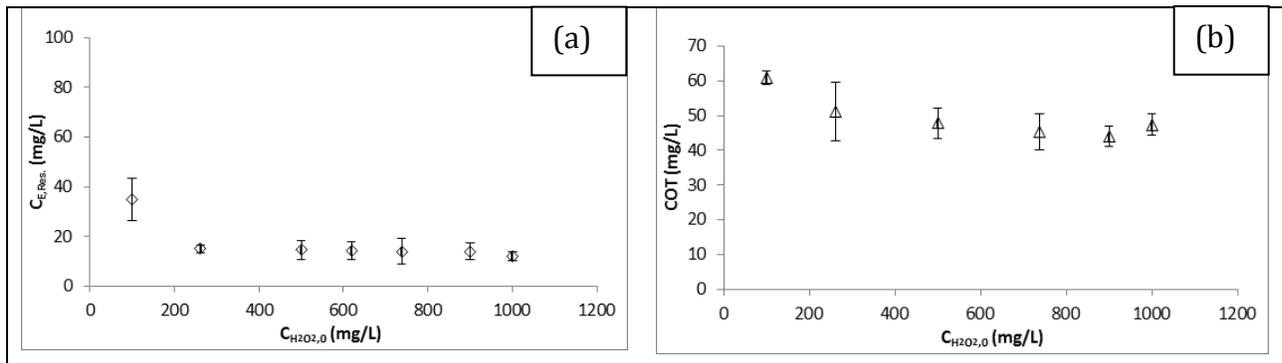


Figura 3 - Influência de $C_{H_2O_2}$ inicial na $C_{E,Res,Final}$ (a) e TOC_{Final} (b). $T = 32^\circ C$, $C_{Fe^{2+},0} = 28,3$ ppm, $pH = 3,0$

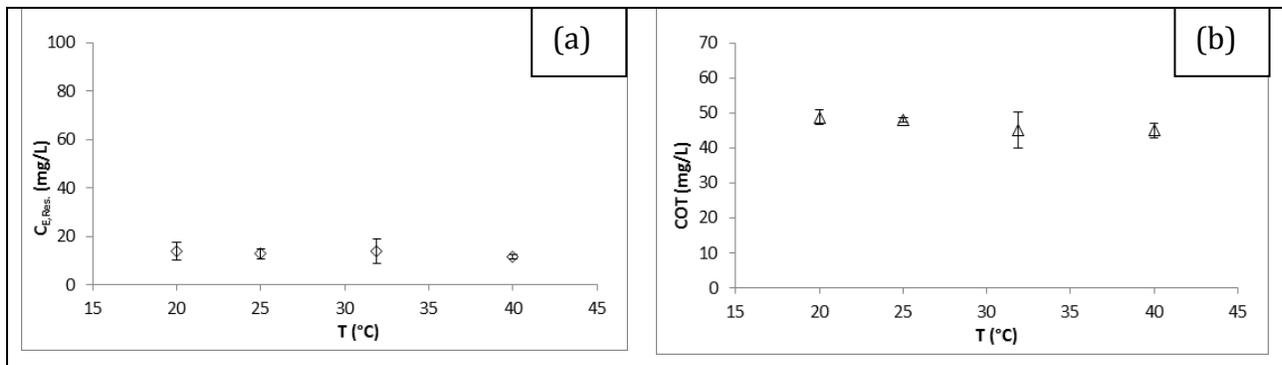


Figura 4 - Influência de T na $C_{E,Res,Final}$ (a) e TOC_{Final} (b). $C_{H_2O_2,0} = 738,0$ ppm, $C_{Fe^{2+},0} = 28,3$ ppm, $pH = 3,0$

A Figura 2A mostra que para concentrações de íon ferroso entre 10 e 40 mg/L, a concentração residual final de enrofloxacinina é mínima e tem o valor aproximado de 12,0 mg/L. Para valores de $C_{Fe^{2+},0}$ menores que 10 e maiores que 40 mg/L há um aumento da concentração residual final de enrofloxacinina. Os valores mais altos de concentração residual também podem ter sido ocasionados pela competição entre Fe^{+2} e a molécula orgânica pelos radicais hidroxila, resultando em uma inibição da oxidação pelo reagente de Fenton, devido ao excesso de íons ferrosos. O aumento da concentração de enrofloxacinina para $C_{Fe^{2+}}$ maiores que 40 mg/L pode ser falsa devido à interferência do ion Fe^{3+} na análise espectrofotométrica. A Figura 2B mostra que o valor de TOC residual é mínimo (TOC = 44,0 mg/L) para concentração inicial de íon ferroso 35 mg/L. Para concentrações iniciais de Fe^{+2} maiores que 35 mg/L e menores que 10 mg/L, a TOC residual aumenta, sendo o maior valor obtido de 58,4 mg/L para concentração inicial de íon ferroso de 5 mg/L. De modo semelhante, entre as concentrações 10 e 35 mg/L de Fe^{+2} , o TOC residual apresentou valores de aproximadamente 50 mg/L. De acordo com Kumar (2011), com o aumento da concentração de íon ferroso é esperado que se tenha uma taxa de oxidação mais rápida. Entretanto, altas concentrações de Fe^{+2} podem ocasionar o sequestro de radicais hidroxila, conforme a Equação 2, e diminuir a eficiência da degradação, o que foi observado nos resultados obtidos. Como a constante da taxa da reação entre os íons ferrosos e os radicais hidroxila (Equação 2; $k_2 = 2,8 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) é maior em relação à constante da taxa de produção de radicais hidroxila (Equação 1; $k_1 \approx 70 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), pode-se supor que a maioria dos radicais hidroxila produzidos reagem com Fe^{+2} que ainda não foi convertido em Fe^{+3} , ao invés de atacarem a molécula orgânica, no caso a enrofloxacinina.



A Figura 3A mostra que a concentração de enrofloxacinina mínima é de 14,0 mg/L para concentrações iniciais de H_2O_2 entre 262 e 1000 mg/L. O maior valor de $C_{E,Res,Final}$ (45 mg/L) foi obtido para concentração inicial de peróxido $C_{H_2O_2,0} = 100 \text{ mg/L}$. A baixa eficiência do ensaio com 100 mg/L de peróxido de hidrogênio pode ser atribuída à baixa disponibilidade deste para a reação com o íon ferroso, não gerando radicais hidroxila suficientes para que a degradação fosse mais eficiente. A Figura 3B mostra os resultados de TOC residual e observa-se que um valor mínimo de 46 mg/L, o que corresponde a uma mineralização de 29%, obtido para $C_{H_2O_2,0} = 900 \text{ mg/L}$, sendo que a TOC inicial nominal era de 63,4 mg/L. A TOC residual aumenta pouco com $C_{H_2O_2,0}$ para valores maiores que 900 mg/L e aumenta significativamente com a diminuição de $C_{H_2O_2,0}$ para valores menores que 900 mg/L. O maior valor de TOC obtido foi de 60,9 mg/L para $C_{H_2O_2,0} = 100 \text{ mg/L}$ o que corresponde a mineralização de apenas 4%. O aumento do valor da TOC para a concentração inicial de 1000 mg/L de H_2O_2 indica que há um excesso de peróxido de hidrogênio no meio, o que provoca uma inibição do processo, pois este pode estar atuando como sequestrante de radicais hidroxila, conforme a Equação 3. Como a constante da taxa da Equação 3, $k_3 = 3,3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, é maior que a constante da taxa de geração de radicais hidroxila, Equação 1, $k_1 \approx 70 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, o sequestro de radicais hidroxila ocorrerá preferencialmente em relação à sua produção, fazendo com que a oxidação da enrofloxacinina seja pouco eficiente.



Para concentrações iniciais de H_2O_2 entre 500 e 1000 mg/L, não há uma variação significativa entre os valores de TOC, que foram, em média 45 mg/L. A Figura 4A mostra que a temperatura não influencia significativamente a concentração residual final do fármaco, que apresentou $C_{E,Res,Final}$ aproximadamente 12,0 mg/L para as temperaturas estudadas. Estes resultados indicam que com a elevação da temperatura ocorre uma maior degradação do peróxido de hidrogênio, não necessariamente para a produção de radicais hidroxila, como sugerem os resultados de TOC, onde não se observa menores valores nas temperaturas maiores (Figura 4B). A influência da temperatura sobre a TOC residual mostradas na Figura 4B indicam que há uma pequena queda de TOC residual com a temperatura, da ordem de - 0,21 mg/L/°C. Os valores de TOC residual variaram de 48,7 a 45,0 mg/L para temperaturas entre 20 e 40°C. Esses resultados mostram que a temperatura não influencia significativamente a oxidação da enrofloxacin pelo processo Fenton. Foram realizados dois ensaios nos quais se manteve a relação entre o peróxido de hidrogênio e o íon ferroso em 0,0233 mol Fe^{+2} /mol H_2O_2 , ou seja, constante, mas variando-se as concentrações de íon ferroso e peróxido de hidrogênio simultaneamente, empregando-se a metade ($C_{\text{Fe}^{2+},0} = 14,2$ mg/L, $C_{\text{H}_2\text{O}_2,0} = 369$ mg/L e $T = 32,0^\circ\text{C}$) e o dobro ($C_{\text{Fe}^{2+},0} = 56,5$ mg/L, $C_{\text{H}_2\text{O}_2,0} = 1476$ mg/L e $T = 32,0^\circ\text{C}$) de ambos os reagentes, em relação à condição do ponto central ($C_{\text{Fe}^{2+},0} = 28,3$ mg/L, $C_{\text{H}_2\text{O}_2,0} = 738$ mg/L e $T = 32,0^\circ\text{C}$), mostrada na Tabela 1 e aqui denominada Condição Base. Esta relação se encontra na classificação feita por Neyens e Bayens (2003) na condição $\text{Fe}^{+2}/\text{H}_2\text{O}_2$ muito menor que 1. Para esta condição, que tem excesso de peróxido, a taxa global da reação pode ser favorecida devido à formação de mais radical hidroperóxido ($\text{HO}_2\cdot$) que pode participar na propagação das reações em cadeia reduzindo Fe^{3+} a Fe^{2+} . Os resultados estão mostrados na Figura 5. Este estudo também pode avaliar os efeitos sobre a eficiência da degradação se ocorrer uma mudança na proporção entre o reagente de Fenton e a enrofloxacin. Pode ocorrer sequestro de radicais hidroxila pelo excesso de peróxido de hidrogênio, de acordo com a Equação 2 e 3, visto que $k_2 = 2,8 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ é maior que $k_3 = 3,3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. O sequestro de radicais hidroxila poderia ser evitado se for mantida uma alta proporção entre o composto orgânico e o peróxido de hidrogênio. A Figura 5A mostra os resultados de concentração residual de enrofloxacin e pode-se observar que, ao utilizar-se o dobro da quantidade dos reagentes, em relação à Condição Base, obtém-se uma eficiência inferior em comparação com a Condição Base ou o uso da metade dos reagentes. Verifica-se também, que para o ensaio em que se empregou a metade dos reagentes e para a Condição Base, obtiveram-se resultados muito semelhantes, indicando que, para quantidades muito altas de íons ferrosos, mesmo aumentando-se a quantidade de peróxido de hidrogênio, pode ocorrer alguma inteiração entre a enrofloxacin e o íon Fe^{+3} convertido durante a reação com o H_2O_2 para gerar os radicais hidroxila (Equação 3), ou reação entre o fármaco e o íon Fe^{+2} o que acarretaria em uma menor disponibilidade deste para reagir com o H_2O_2 , diminuindo, assim, a quantidade de radicais hidroxila para o ataque à enrofloxacin. Outra consequência seria um incremento na absorvância da amostra, falseando os resultados. Também pode ter ocorrido o sequestro de radicais hidroxila pelo excesso de peróxido de hidrogênio, de acordo com a Equação 2 e 4. Os resultados de concentração residual de carbono orgânico total para a proporção constante de $\text{Fe}^{+2}/\text{H}_2\text{O}_2$ e variando-se as concentrações de Fe^{+2} e de H_2O_2 se encontram na Figura 5B. Verifica-se que há uma tendência de valores maiores de TOC residual com a diminuição das concentrações de Fe^{+2} e de H_2O_2 , o que está evidenciado nos instantes 5, 60 e 240 minutos. Também é possível perceber que os comportamentos das curvas de decaimento de TOC são semelhantes para os três casos estudados, indicando que não há mudanças no rendimento da reação com a variação da

quantidade de reagentes utilizados, desde que seja mantida a relação molar entre o íon ferroso e o peróxido de hidrogênio.

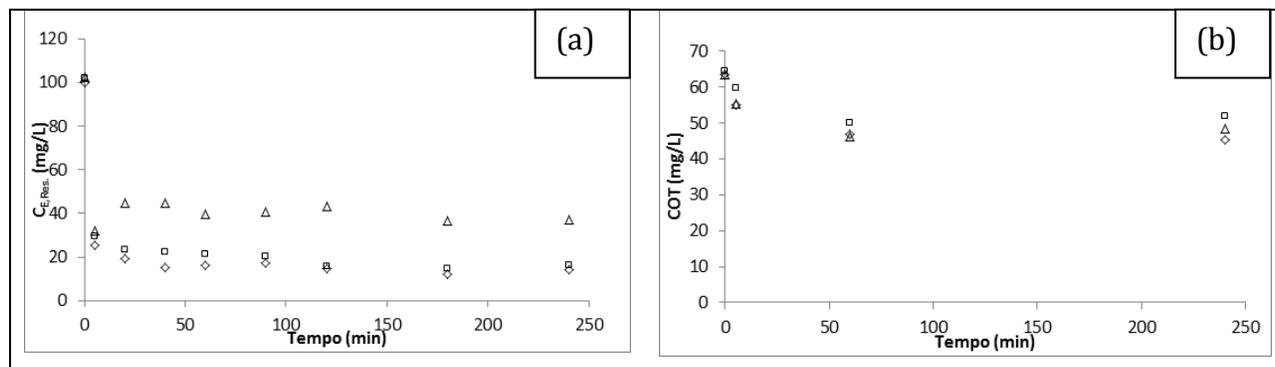


Figura 5 – Concentração residual de enrofloxacin (a) e TOC (b) resultante da utilização de quantidades diferentes de reagentes, mantendo-se a proporção Fe^{+2}/H_2O_2 em 0,0233 mol $Fe^{+2}/mol H_2O_2$ (◇ 28,3 mg/L de Fe^{+2} , 738 mg/L de H_2O_2 ; □ 14,15 mg/L de Fe^{+2} , 369 mg/L de H_2O_2 ; Δ 56,5 mg/L de Fe^{+2} , 1476 mg/L de H_2O_2). $T = 32,0^\circ C$.

4. CONCLUSÕES

A análise paramétrica mostrou que as 3 variáveis estudadas ($C_{H_2O_2}$, $C_{Fe^{2+}}$ e T) influenciam na concentração residual final de enrofloxacin, porém, com base na análise de resíduos do software Statistica[®], as variáveis que mais influenciaram o processo foram $C_{Fe^{2+}}$, T e $C_{H_2O_2}$, respectivamente. A análise paramétrica mostrou que a temperatura, a concentração inicial de peróxido de hidrogênio e de ion ferroso não influenciam o processo nas faixas de valores 20 a 40 °C, 262 a 1000 mg/L e 10 a 40 mg/L, respectivamente. Os resultados de Carbono Orgânico Total mostraram que a matéria orgânica teve redução máxima de 31% e, desta forma, formaram-se moléculas orgânicas não detectáveis pelo método espectrofotométrico, que era específico para a determinação do fármaco. O método espectrofotométrico não é adequado para a análise da enrofloxacin para altos valores de concentração de ion ferroso, visto que o ion Fe^{3+} formado interfere no método analítico. Este método deveria ser validado através de análises em HPLC-MS.

5. REFERÊNCIAS

- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. *Quím. Nova*, v. 24, p. 523-530, 2003.
- FINK, L.; DROR, I.; BERKOWITZ, B. Enrofloxacin oxidative degradation facilities by metal oxide nanoparticles. *Chemosphere*, v. 86, p. 144-149, 2012.
- GOSH, G. C.; OKUDA, T.; YAMASHITA, N.; TANAKA, H. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatments plants in Japan and their effects on bacterial ammonia oxidation. *Water Sci. Technol.*, v. 59 (4), p. 79-786, 2009.
- GROS, M.; PETROVIC, M.; GINEBREDA, A.; BARCELÓ, D. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environ. Int.*, v. 36, p. 15-26, 2010.

- GUINEA, E.; BRILLAS, E.; CENTELLAS, F.; CANIZARES, P.; RODRIGO, M. A., SÁEZ. Oxidation of enrofloxacin with conductive-diamond electrochemical oxidation, ozonation and Fenton oxidation - A comparison. *Water Res.*, v. 43, p. 2131-2138, 2009.
- IKEHATA, K.; NAGHASHKAR, N. J.; EL-DIN, M. G. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation process: A review. *Ozone: Sci. Eng.*, v. 28, p. 353-414, 2006.
- KUMAR, S. M. Degradation and mineralization of organic contaminants by Fenton and photo-Fenton process: Review of mechanisms and effects of organic and inorganic additives. *Res. J. Chem. Environ.*, v. 15 (2), p. 96-112, 2011.
- LIZONDO, M.; PONS, M.; GALLARDO, M.; ESTELRICH, J. Physicochemical properties of enrofloxacin. *J. Pharm. Biom. Anal.*, v. 15, p. 1845-1849, 1997.
- MELO, S. A. S.; TROVÓ, A. G.; BAUTIZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Quím. Nova*, v. 32, n. 1, p. 188-197, 2009.
- NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *J. Haz. Mat.*, v. 98, p. 33-50, 2003.
- FRADE, V. M. F.; SHINOTSUKA, L. Y.; PALMA, M.S.A. Oxidação química da enrofloxacina pelo processo Fenton: obtenção das condições ótimas a partir de um planejamento fatorial. In: XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Búzios, RJ, 9 a 12 de setembro de 2012.
- FRADE, V. M. F.; DIAS, M.; TEIXEIRA, A. C. S.; PALMA, M. S. A. Environmental contamination by fluoroquinolones. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v. 50, n. 1, p. 1-14, 2014.
- FRADE, V. M. F. Oxidação de enrofloxacina pelo processo Fenton. *Dissertação de Mestrado*, Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*, v. 75, p. 417-434, 2009.
- OTERO, J. L.; MESTORINO, N.; ERRECALDE, J. O. Enroflocacina: una fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria – Parte I: Química, mecanismo de acción, actividad antimicrobiana y resistencia bacteriana. *Analecta Veterinaria*, v. 21, n. 1, p. 31-41, 2001.
- REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e impacto de antibióticos usados na produção animal brasileira. *Rev. Bras. Ciên. Solo*, v. 34, p. 601-616, 2010.
- SILVA, R. G. Farmacocinética e determinação de resíduos de enrofloxacina e seu metabólito em tecidos de frangos. *Tese de doutorado*. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, 2004.
- SOUSA, I. C. S. C. Interação da Enrofloxacina com modelos biomembranares: Influência de suas propriedades físico-químicas. *Dissertação de Mestrado*, Departamento de Química, Faculdade de Ciências do Porto, Porto, 2007.
- YUAN, F.; HU, CHUN.; HU, X.; WEI, D.; CHEN, Y.; Q, J. Photodegradation and toxicity changes of antibiotics in UV and UV/H₂O₂ process. *J. Haz. Mat.*, v. 185, p. 1256-1263, 2011.

RESPOSTA AO REVISOR

Eu gostaria de agradecer ao revisor pelas indagações e observações muito pertinentes feitas sobre o nosso trabalho. Todas as indagações foram atendidas e o texto como um todo foi revisado e melhorado.

São Paulo, 5 de junho de 2014.

Mauri S. A. Palma

Artigo: **ESTUDO PARAMÉTRICO DA OXIDAÇÃO DE ENROFLOXACINA PELO PROCESSO FENTON**

Resumo

“Após a administração do fármaco, uma parte significativa deste, aproximadamente 10 a 90%”

Revisor: Conferir esta referencia ou citar a fonte em caso de informação correta

A INFORMAÇÃO ESTÁ CORRETA E A REFERÊNCIA É:

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

Acrescentado no Resumo, pg. 1, linha 2.

Materiais e Métodos

Segundo autores: “Para os ensaios de degradação foram utilizados enrofloxacina, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), para a quantificação do fármaco foram empregados cloreto férrico ($FeCl_3$) e metabissulfito de sódio ($Na_2S_2O_5$).”

Revisor: Explicar como se quantifica o fármaco com $FeCl_3$ e $Na_2S_2O_5$

NO TEXTO (PG. 2, ÍTEM “MATERIAIS”, 10. PARÁGRAFO) FOI ACRESCENTADO O SEGUINTE TRECHO:

“foi empregado cloreto férrico ($FeCl_3$), para a interrupção da reação após a amostragem, para quantificação da enrofloxacina, metabissulfito de sódio ($Na_2S_2O_5$), que reage com o

peróxido de hidrogênio. Para a amostragem para determinação de TOC, iodeto de potássio (KI), sulfito de sódio (Na_2SO_3) e hidróxido de sódio (NaOH).”

O TEXTO A SEGUIR É DE FRADE (2013) (Disponível em www.teses.usp.br) E NÃO FOI COLOCADO NO TRABALHO POR FALTA DE ESPAÇO:

“O método analítico para determinação da enrofloxacina de baseava na formação de um complexo entre a enrofloxacina e íon férrico. No entanto, o meio reacional continha peróxido de hidrogênio que reagiria com o íon férrico. Desta forma era necessário remover o peróxido de hidrogênio antes da análise espectrofotométrica, o que era feito com a adição de metabissulfito de sódio. A quantidade metabissulfito a ser adicionada era determinada com base em uma análise anterior que quantificava o peróxido de hidrogênio remanescente no meio.”

METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO DA ENROFLOXACINA

“Para a análise, coletava-se 2 mL do meio reacional em um frasco contendo 2 mL de solução de metabissulfito de sódio, cuja concentração dependia concentração de peróxido de hidrogênio empregada na reação, e adicionava-se 1 mL de solução de cloreto férrico na concentração de 7.10^{-3} M. Agitava-se e media-se a absorbância em 434 nm em espectrofotômetro vis, contra branco de reagentes. O branco continha apenas 4 mL de água destilada e 1 mL de solução de cloreto férrico (El Sherif, 1999).”

Segundo autores: “espectrofotômetro VIS para a quantificação da enrofloxacina”

Revisor: Mostrar como, incluir curva de calibração, comprimento de onda, etc. Geralmente esses fármacos não são identificados no visível.

A RESPOSTA ESTA INDAGAÇÃO ESTÁ MOSTRADA ACIMA E ABAIXO (Frade, 2013) (Disponível em www.teses.usp.br) E NÃO FOI COLOCADO NO TRABALHO POR FALTA DE ESPAÇO:

Curva de calibração

A cada nova solução de enrofloxacina preparada, construía-se uma curva de calibração a partir da solução utilizada no ensaio. Em balões volumétricos de 10 mL, transferiam-se alíquotas da solução, que possuía concentração de 100 mg/L, de modo que se obtivesse um gradiente de

concentrações, conforme Tabela 6. Avolumavam-se os balões com água destilada, agitava-se e retirava-se 2 mL destes padrões, que eram transferidos para frascos contendo 2 mL de água, sendo adicionado 1 mL de cloreto férrico logo em seguida. Agitava-se e media-se absorvância em 434 nm em espectrofotômetro vis, contra branco de reagentes

Segundo autores: “Para a determinação da TOC adicionava-se 3,5 mL de solução inibidora do sistema Fenton a 3,5 mL do meio reacional.”

Revisor: Qual solução era usada como inibidora, em que concentração? Os autores consideraram a diluição de 1:1?

Solução inibidora do sistema foto Fenton (contendo 0,1 M de cada componente)

Dissolvia-se 16,6 g de iodeto de potássio + 12,6 g de sulfito de sódio + 4 g de hidróxido de sódio em água destilada, completando o volume para 1000 mL.

A DILUIÇÃO 1:1 FOI CONSIDERADA.

FOI ACRESCENTADO NO TEXTO (2.4 TÉCNICAS ANALÍTICAS):

“(solução de KI, Na₂SO₃ e NaOH, 0,1M de cada componente)”

Resultados:

Revisor: De acordo com os autores: “Os resultados dos ensaios segundo o planejamento DCCR já foram publicados anteriormente (Frade *et al.*, 2012) e não serão mostrados aqui.” Entretanto, os mesmos mencionam no resumo: “Neste trabalho foi estudada a degradação de enrofloxacin, que é um antibiótico amplamente utilizado na medicina veterinária, através do processo Fenton de acordo com um planejamento experimental do tipo Delineamento Composto Central Rotacional – DCCR.”

Se é um objetivo, como não serão apresentados? Sugiro reavaliar os objetivos no artigo e descreve-los no resumo

FOI RETIRADA DOS OBJETIVOS A SEGUINTE FRASE:

“...de acordo com um planejamento experimental do tipo Delineamento Composto Central Rotacional – DCCR”

Na frase: “resultando em uma redução de aproximadamente 31% de carga orgânica em relação à inicial, que era de 63,4 mg/L” trocar o termo carga orgânica por matéria orgânica. Repetir esse procedimento na conclusão.

FEITO.

No resumo, os autores escrevem: “Foram estudadas as influências da temperatura (0 a 40 °C),” entretanto, só foram investigadas as temperaturas 20, 40 e 32⁰C

FEITO. FOI ACRESCENTADO NO RESUMO:

Foram estudadas as influências da temperatura (20, 25, 32 e 40 °C), concentrações iniciais de peróxido de hidrogênio, $C_{H_2O_2,0}$, (100, 262, 500, 611, 738, 900 e 1000 mg/L) e íon ferroso, $C_{Fe^{2+},0}$, (5, 10, 20, 28,3, 35, 40, 45, 50 e 62,5 mg/L),

Qual a concentração de peróxido de hidrogênio e valor de pH nos experimentos da figura 2?

Qual a concentração de Fe^{2+} e valor de pH nos experimentos da figura 3?

Quais as concentrações de Fe^{2+} , peróxido de hidrogênio e pH nos experimentos da figura 4?

FEITO. FORAM MODIFICADOS OS TÍTULOS DAS FIGURAS 2, 3 E 4:

Figura 2 - Influência de $C_{Fe^{2+}}$ inicial na $C_{Enro.Res.Final}$ (a) e TOC_{Final} (b). $T = 32\text{ °C}$, $C_{H_2O_2,0} = 738,0\text{ ppm}$, $pH = 3,0$

Figura 3 - Influência de $C_{H_2O_2}$ inicial na $C_{Enro.Res.Final}$ (a) e TOC_{Final} (b). $T = 32\text{ °C}$, $C_{Fe^{2+},0} = 28,3\text{ ppm}$, $pH = 3,0$

Figura 4 - Influência de T na $C_{Enro.Res.Final}$ (a) e TOC_{Final} (b). $C_{H_2O_2,0} = 738,0\text{ ppm}$, $C_{Fe^{2+},0} = 28,3\text{ ppm}$, $pH = 3,0$

Na página 6 os autores se referem a “Condição Base”, o que isso significa?

FEITO. FOI ACRESCENTADO NA PG. 6, LINHA 15:

, em relação à condição do ponto central ($C_{Fe^{2+}} = 28,3\text{ mg/L}$, $C_{H_2O_2} = 738\text{ mg/L}$ e $T = 32,0\text{ °C}$), mostrada na Tabela 1 e aqui denominada Condição Base.