



OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE ADSORÇÃO DO FÁRMACO CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINA

Maikon Eduardo dos Santos Soldan⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Câmpus Medianeira.

Eduardo Borges Lied

Doutor em Engenharia Química pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (PEQ/Unioeste). Professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Câmpus Medianeira.

Ana Paula Trevisan

Tecnóloga em Gestão Ambiental. Mestre em Agronomia pela UEM. Doutora em Engenharia Agrícola pela Unioeste.

Camilo Freddy Mendoza Morejon

Doutor em Engenharia Mecânica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (COPPE/UFRJ). Professor da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (PEQ/Unioeste).

Endereço⁽¹⁾: Av. Brasil, 4232. Jd. Independência - Medianeira - Paraná - CEP: 85884-000 - País - Tel: +55 (45) 3240-8120 - e-mail: maikonsoldan@alunos.utfpr.edu.br

RESUMO

O presente trabalho trata do estudo da adsorção de cloridrato de ciprofloxacina (CIP) em resina catiônica da marca Amberlite IRA-120. A resina IRA-120 foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia por dispersão de energia de raios X (MEV-EDS) e espectroscopia no infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR). O delineamento experimental foi realizado com o objetivo de otimizar as seguintes variáveis no processo de adsorção: velocidade de agitação (100 a 500 rpm), massa adsorvente (0,05 a 0,13) e pH da solução (2 a 12). O processo de otimização indicou as seguintes condições operacionais: pH 4,63; massa de 0,13 g de resina e 267 rpm. Nestas condições o processo foi capaz de remover 98% do CIP (2 horas de operação). Por fim, a partir dos resultados do DCCR a análise de toxicidade comprovou a eficiência do processo de remoção, que permitiu o crescimento de uma cultura de *E. coli* no efluente com apenas 1 hora de tratamento (nas condições operacionais otimizadas).

PALAVRAS-CHAVE: Troca iônica, DCCR, modelagem empírica.

INTRODUÇÃO

Desde que a comunidade científica começou a considerar os produtos farmacêuticos como poluentes ambientais, eles rapidamente se tornaram de grande interesse para a pesquisa. Esses estudos demonstraram que alguns produtos farmacêuticos podem ser encontrados em efluentes hospitalares e urbanos, passando por estações de tratamento de esgoto e atingir águas superficiais, acarretando significativo risco ambiental.

Ciprofloxacina (CIP) é um importante ingrediente farmacêutico, sendo classificado como um antimicrobiano fluoroquinolona de amplo espectro, que é ativo contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, e pode ser usado para combater doenças humanas e veterinárias. Sua baixa biodegradabilidade e efeito tóxico sobre bactérias ambientais foram bem documentados. Além disso, antibióticos em concentrações subinibitórias podem desenvolver resistência a espécies bacterianas (VASCONCELOS et al., 2009).

Várias tecnologias têm sido utilizadas para remover o CIP da água, por exemplo, oxidação eletroquímica, separação por membrana, ozonização e processo de adsorção. Em relação à oxidação eletroquímica, embora a degradação total da ciprofloxacina tenha sido alcançada, o processo produziu uma taxa de mineralização em torno de 50%, indicando a formação de subprodutos que podem apresentar toxicidade superior aos compostos originais. O sistema de separação por membrana é difícil de aplicar, pois requer altas pressões de operação, não pode tratar grandes volumes e tem alto consumo de energia. A ozonização requer alto consumo de energia, sendo um processo caro, no qual se estima que esse processo, com cerca de $0,1 \text{ kW h m}^{-3}$, pode aumentar em até 50% a energia necessária em estações de tratamento convencionais. Dentre essas tecnologias, a adsorção é promissora por sua eficiência e simplicidade de operação. O custo relacionado ao processo de adsorção depende principalmente do adsorvente utilizado, e as resinas de troca iônica são consideradas potenciais adsorventes devido à sua abundância, alta área superficial específica, baixo custo e capacidade de troca catiônica (ANTONELLI et al., 2020).



OBJETIVOS

Avaliar o processo e as variáveis que influenciam a remoção do fármaco Cloridrato de Ciprofloxacina (CIP) em solução aquosa utilizando a resina catiônica Amberlite IRA-120. Especificamente, busca-se: Otimizar o processo de remoção do fármaco através de planejamento experimental com três variáveis: pH inicial, agitação e massa da resina; e Avaliar a eficiência do processo de adsorção na redução da toxicidade utilizando indicador microbiológico.

METODOLOGIA

Caracterização do adsorvente

A morfologia e a composição química elementar da resina Amberlite IRA-120 foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Microscópio Eletrônico de Varredura da marca Zeiss, Modelo EVO-MA10), juntamente com a análise por espectroscopia de dispersão de energia de raios X (EDS) com detector de raios X da fabricante Oxford. As imagens das superfícies captadas pelo MEV foram obtidas com magnificação entre 100 a 300X.

Os espectros de intensidade de transmissão do infravermelho (FTIR-ATR) foram obtidos por um analisador infravermelho Perkin Elmer Frontier™ na faixa de comprimento de onda de 550 a 4000 cm⁻¹.

Solução de CIP e metodologia analítica

Os experimentos de adsorção foram realizados utilizando soluções de CIP, preparadas a partir da dissolução do cloridrato de ciprofloxacina, com pureza de 98%, em água destilada. O pH das soluções CIP foi ajustado com soluções aquosas de HCl (0,1 mol L⁻¹) e NaOH (0,1 mol L⁻¹). O espectro de absorção molecular de uma solução CIP de 10 mg L⁻¹ foi medido por espectrofotometria UV-Vis (Lambda 35, PerkinElmer) para determinar o comprimento de onda de absorção máximo (λ_{max}). O valor de λ_{max} observado foi próximo a 272 nm.

Ensaio em batelada

Os dados de equilíbrio experimental foram obtidos em sistema fechado e descontínuo, utilizando incubadora resfriada com agitação orbital (Tecnal, TE-421). Para isso, foi adicionado aos frascos Erlenmeyer um volume fixo de solução CIP (100 mL) nas concentrações iniciais de 25 mg L⁻¹. As suspensões foram mantidas sob temperaturas controladas (25°C) por um período de 2h.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi realizado com o objetivo de otimizar as seguintes variáveis no processo de adsorção: velocidade de agitação (X_1), massa adsorvente (X_2) e pH da solução (X_3). Testes preliminares foram realizados para caracterizar o sistema e definir os níveis estudados para cada variável. Utilizou-se o delineamento central composto rotacional (DCCR) e os níveis estudados para cada variável são apresentados na Tabela 1. A análise dos dados foi realizada no software Statistica® 7. Os ensaios foram conduzidos em frascos erlenmeyer de 150 mL contendo 100 mL de solução de CIP numa concentração de 25 mg L⁻¹.

Tabela 1: Valores reais e codificados de delineamento composto central rotacional (DCCR).

Fator	Nível				
	-1,68	-1	0	+1	+1,68
X_1 (RPM)	100	180	300	420	500
X_2 (g)	0,05	0,09	0,105	0,12	0,13
X_3 (pH)	2	4	7	10	12

A variável resposta considerada no DCCR foi a eficiência na remoção do CIP da solução aquosa. A estimativa dos coeficientes da regressão não linear e a análise de variância foram realizadas com nível de significância de 5%.

Atividade antimicrobiana

Teste de placas com o intuito de confirmar a eficiência do processo remoção do fármaco foi aplicado na solução de CIP submetida a tratamento nas condições operacionais otimizadas (obtidas a partir do planejamento experimental). Amostras foram analisadas em diferentes tempos de tratamento. O microrganismo foi inoculado em placas de Petri, previamente esterilizadas, contendo Ágar Mueller Hinton em quantidade necessária para cobrir a placa. *Swab* foi utilizado para inocular o microrganismo *Escherichia coli* no meio. Discos de papel filtro saturados com a amostra de CIP (nos diferentes tempos de tratamento) foram dispostas ao centro da placa. As placas foram incubadas a uma temperatura de 37 °C por 48 horas.

As respostas nesse ensaio foram medidas pela formação ou não do halo de inibição. A ocorrência de halo de inibição indica que o crescimento microbiano foi afetado pela ação tóxica do fármaco. Neste sentido, o crescimento de *E. coli* foi utilizado como indicador na medição da performance da remoção de CIP.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Microscopia eletrônica de varredura

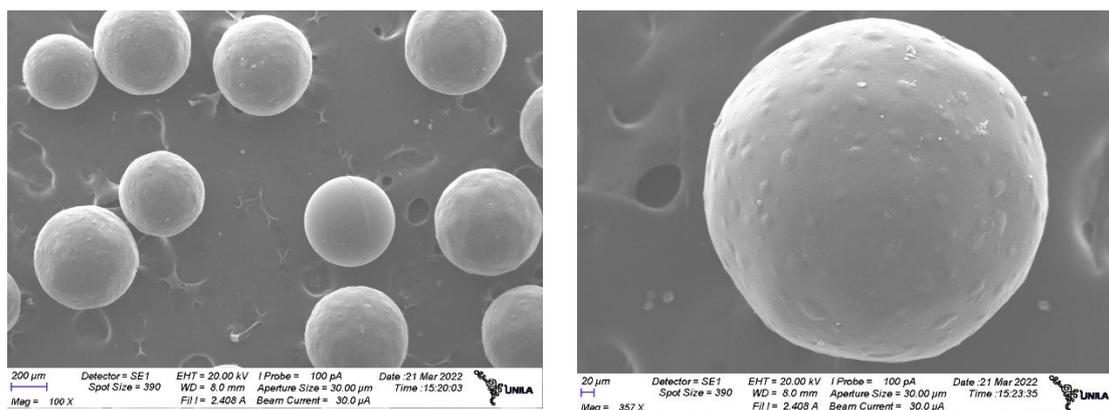


Figura 1: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da resina Amberlite IRA120 com níveis de ampliação de: (a) 100×, (b) 300×.

As micrografias da resina IRA120 obtidas na ampliação de 100 a 300× são mostradas na Fig. 1. Inicialmente, analisando as imagens de MEV, é possível visualizar a forma esférica típica da resina. Além disso, o aspecto uniforme da superfície da resina IRA120, nas quais não foi possível visualizar a presença de poros.

Infravermelho

Os espectros FTIR da IRA-120 pristina e utilizada são mostrados na Fig. 2.

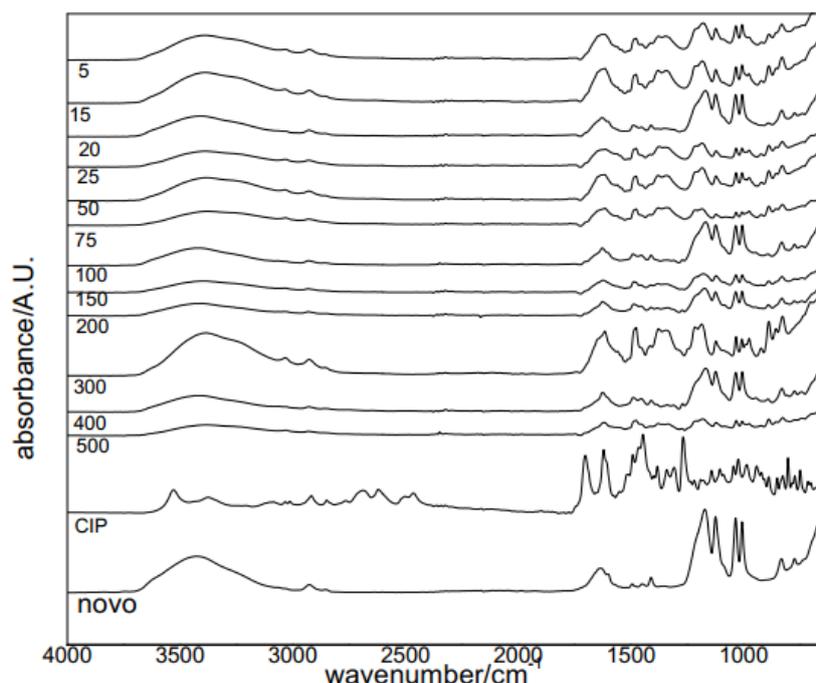


Figura 2: Espectro do infravermelho para amostras de resina e CIP.

Com relação a caracterização da CIP, de acordo com Wang et al. (2010), o pico em 1707 cm^{-1} pode ser atribuído ao alongamento de CO do ácido carboxílico, e 1274 cm^{-1} ao acoplamento do alongamento C–O do ácido carboxílico e deformação O–H. O pico de vibração em 1385 cm^{-1} foi interpretado como sendo devido à protonação do grupo amina na porção piperazina. Percebe-se picos na faixa de $1650\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$, esta banda faz referência às quinolonas, composto característico dos antibióticos.

Já no espectro da resina IRA120, observa-se, segundo Aversa et al. (2014), uma banda larga em 3394 cm^{-1} , atribuída à deformação axial da ligação O–H dos grupos sulfônicos. As bandas em 1199 , 1134 e 1122 cm^{-1} correspondem à deformação axial simétrica do grupo $\text{S}(=\text{O})_2$, enquanto que as bandas em 1031 e 1004 cm^{-1} , correspondem à deformação axial assimétrica deste grupo.

Nos espectros é possível notar que com o aumento da concentração de CIP, a banda de 3394 cm^{-1} da resina IRA120 sofre uma redução de intensidade. Pode-se admitir que essa redução é resultante da adsorção de CIP nos sítios de adsorção.

Resultados do delineamento experimental

Na Tabela 2 são apresentados os resultados para a resposta considerada após 2 horas de tratamento. A porcentagem de remoção do CIP variou de 12,08 a 96,61%. O ensaio número 14 foi o que levou a maior remoção do fármaco (96,61%), onde ambas as variáveis pH e massa de resina estavam definidas no ponto central (pH 7 e 0,105 g, respectivamente) e a variáveis agitação no nível superior (500 rpm) do planejamento experimental. Ademais, os valores próximos (desvio inferior a 3%) observados entre os ensaios 15, 16 e 17 (repetições nos pontos centrais do planejamento experimental) demonstram a boa reprodutibilidade dos dados apresentados.

Tabela 2: Matriz experimental do DCCR utilizada para otimização na remoção de CIP.



Ensaio	X1	X2	X3	Remoção de CIP (%)
1	-1 (4)	-1 (0,09)	-1 (180,95)	90,70
2	1 (10)	-1 (0,09)	-1 (180,95)	38,18
3	-1 (4)	1 (0,12)	-1 (180,95)	93,99
4	1 (10)	1 (0,12)	-1 (180,95)	47,62
5	-1 (4)	-1 (0,09)	1 (419,05)	87,17
6	1 (10)	-1 (0,09)	1 (419,05)	77,25
7	-1 (4)	1 (0,12)	1 (419,05)	91,61
8	1 (10)	1 (0,12)	1 (419,05)	93,38
9	-1,68 (2)	0 (0,105)	0 (300)	71,66
10	1,68 (12)	0 (0,105)	0 (300)	12,08
11	0 (7)	-1,68 (0,05)	0 (300)	58,20
12	0 (7)	1,68 (0,13)	0 (300)	86,24
13	0 (7)	0 (0,105)	-1,68 (100)	70,14
14	0 (7)	0 (0,105)	1,68 (500)	96,61
15	0 (7)	0 (0,105)	0 (300)	82,27
16	0 (7)	0 (0,105)	0 (300)	80,53
17	0 (7)	0 (0,105)	0 (300)	76,90

Legenda: pH (X1), massa de resina (X2) e agitação (X3).

Modelagem empírica dos resultados de otimização

Os dados experimentais foram ajustados por meio da estimativa de mínimos quadrados não linear. A Tabela 3 mostra os valores dos efeitos (linear, quadrático e interativo) das três variáveis independentes investigadas na remoção de CIP e sua significância.

Tabela 3: Estimativas de efeito para a remoção de CIP (%) de acordo com o DCCR.

Fator	Efeito	Erro padrão	t(7)	p-valor
Média	79,0659	5,565367	14,20678	0,000002 ^a
Linear				
X1	-30,3643	5,230144	-5,80563	0,000660 ^a
X2	11,7834	5,230144	2,25298	0,058938
X3	18,0862	5,230144	3,45808	0,010575 ^a
Quadrático				
X1	-21,3517	5,761932	-3,70565	0,007598 ^a
X2	0,1587	5,761932	0,02755	0,978792
X3	8,0612	5,761932	1,39905	0,204514
Interativo				
X1.X2	4,4605	6,830496	0,65303	0,534591
X1.X3	22,6840	6,830496	3,32099	0,012748 ^a
X2.X3	1,9605	6,830496	0,28702	0,782406

^aFator significante (p-valor < 0,05).

Embora os valores dos efeitos não possam ser associados a significados físicos ou químicos, algumas conclusões podem ser tiradas deles. Na verdade, quanto maior for o valor absoluto do efeito, mais importante será o peso

da variável correspondente. Um efeito positivo representa que os incrementos no valor da variável resultam em aumentos na resposta. Da mesma forma, quando mostra um valor negativo, um aumento nesta variável diminuirá a resposta.

Nota-se, através da análise da Tabela 3, o elevado peso dos efeitos lineares das variáveis $X1$ (pH) e $X3$ (rotação), bem como efeito interativo entre ambas. Já a variável $X2$ (massa de resina) não demonstrou ter forte efeito na remoção do CIP, dentro da faixa experimental investigada, bem como interação significativa com as demais variáveis independentes.

Embora não seja significativo para o teste estatístico, o efeito linear da variável $X2$ (massa da resina) foi considerado para a geração do modelo matemático devido à sua proximidade do limite de significância, bem como conhecimentos prévios acerca do processo. O modelo preditivo proposto é apresentado abaixo na Equação 1.

$$Y = 83,115 - 15,182X1 - 11,620X1^2 + 5,892X2 + 9,043X3 + 11,342X1.X3 \quad (1)$$

onde Y é a resposta (porcentagem de remoção de CIP) e $X1$, $X2$ e $X3$ são os valores codificados das variáveis independentes.

A adequação estatística do modelo quadrático proposto (Eq. 1) foi examinada por ANOVA usando o teste F de Fisher ($\alpha = 0,05$) e resumida na Tabela 4. O valor de p da regressão menor que 0,05 (0,000052) indica que o modelo é significativo com nível de confiança de 95%, o que significa que os fatores selecionados têm um efeito significativo na resposta. Além disso, os valores elevados de R^2 e R^2 ajustado (0,8932 e 0,8446, respectivamente) retratam a grande capacidade do modelo em prever os resultados experimentais (menos de 11% da variação não é explicada pelo modelo). Essas informações também podem ser observadas numericamente e graficamente por meio do gráfico 'experimental vs. previsto' (Figura 3), que apresentou um arranjo linear, garantindo a consistência entre as variáveis independentes e as respostas do modelo.

No entanto, a falta de ajuste do modelo mede sua falha em descrever adequadamente a relação funcional entre os fatores experimentais e a variável de resposta. Neste estudo, o valor não significativo da falta de ajuste (0,0729) mostra que o modelo quadrático é estatisticamente ajustado para a resposta e pode ser usado para análises posteriores.

Tabela 4: Análise de variância para o modelo polinomial quadrático da remoção de CIP (%)

Fonte	SQ	GL	MQ	F-valor	p-valor
Regressão	7513,4897	5	1502,698	18,400	0,000052
Resíduos	898,3714	11	81,670		
Falta de ajuste	883,372	9	98,152	13,0875	0,072968
Erro puro	14,999	2	7,500		
Total	8411,861	16			

$F_{5,11,0,05} = 3,204$; $R^2 = 0,8932$; $R^2_{adj} = 0,8446$. SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: média dos quadrados.

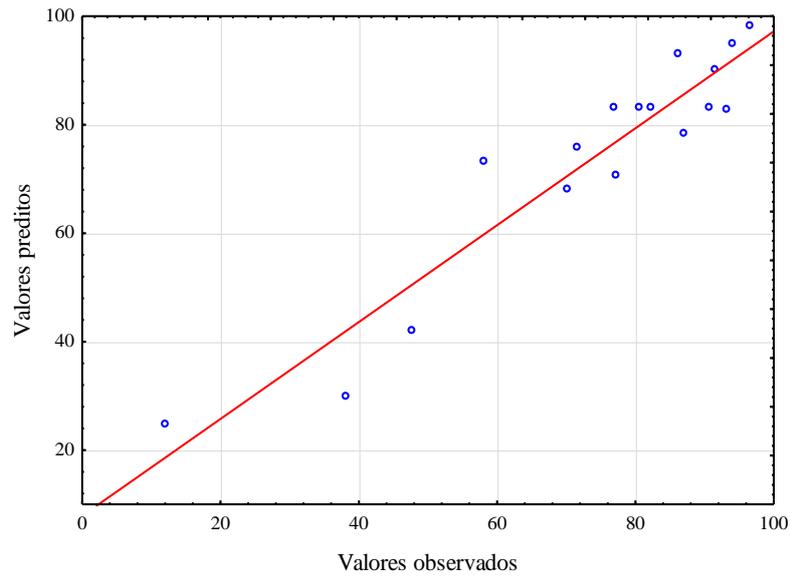
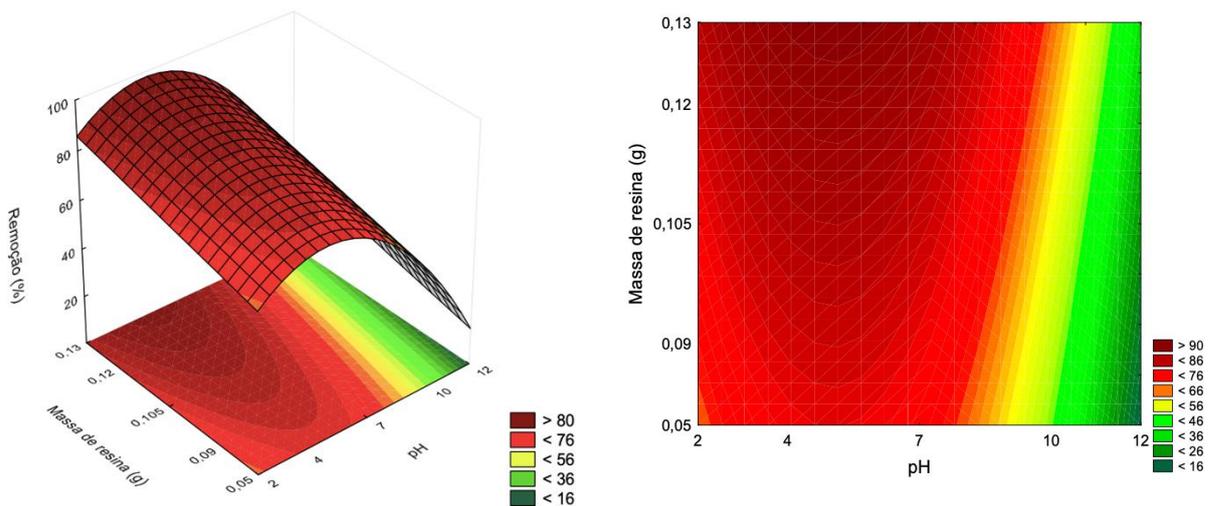


Figura 3: Valores de remoção do CIP preditos vs. Observados.

Na Figura 4 são apresentados os gráficos de superfície de resposta da remoção de CIP (%). Os gráficos foram construídos pela flutuação de duas variáveis dentro da faixa experimental e mantendo a variável excluída constante no centro de seu domínio experimental. Observa-se que a porcentagem de fármaco removida da solução é fortemente dependente do pH do meio, sendo maior em condições próximas a 4,0 e 5,0. Para além, nota-se que maiores remoções de CIP são atingidas com a utilização de massas de resina mais elevadas, fato este também explicado pelo seu efeito linear positivo (Tabela 3). Em relação a agitação, seu comportamento apresenta-se brando – dados efeitos linear e interativo com a variável *XI* – havendo, assim, diferentes pontos capazes de conduzir a elevadas remoções de CIP da solução.



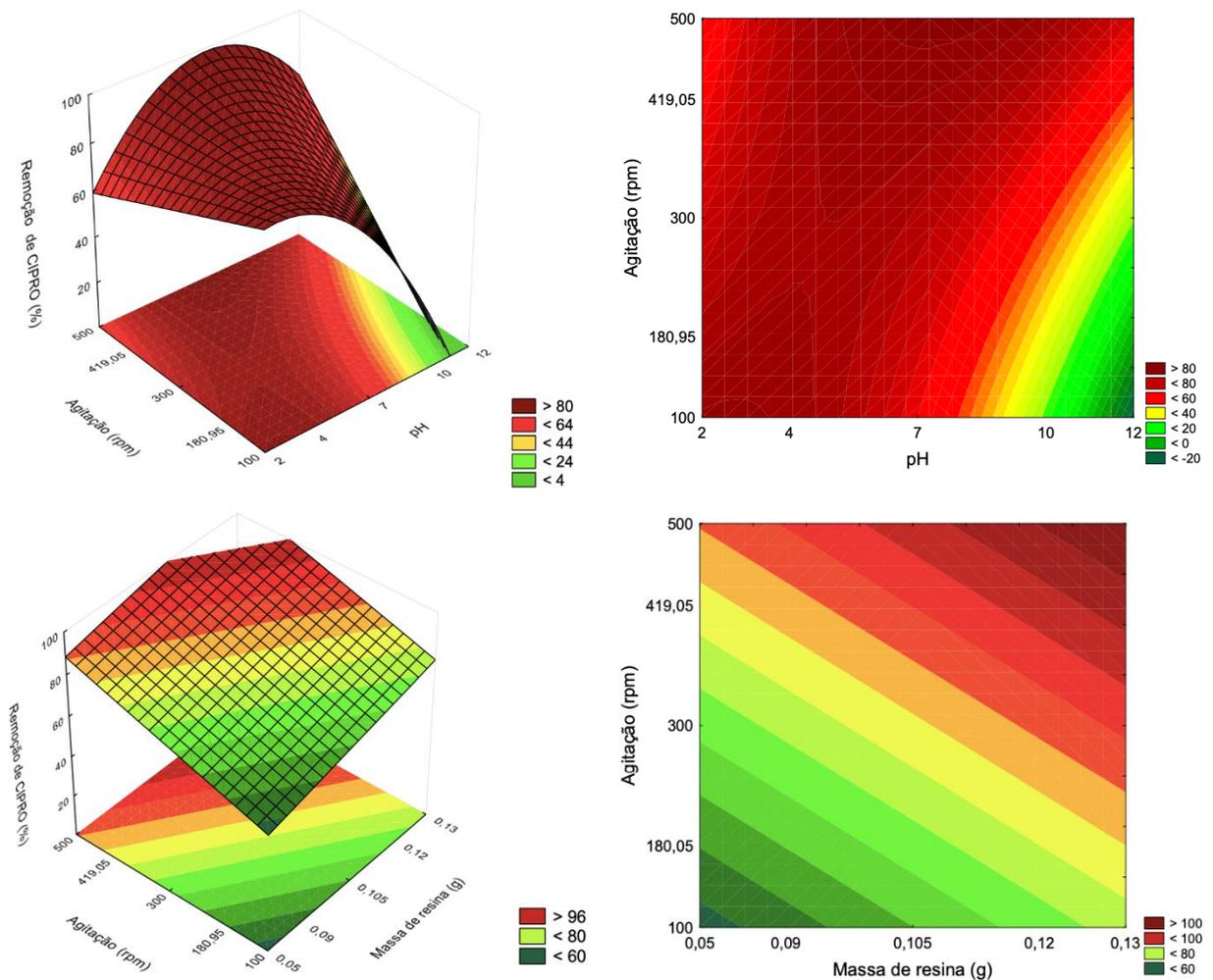


Figura 4 - Superfície de resposta teórica tridimensional para a remoção de CIP em função do pH, massa de resina e agitação do sistema.

Condições ótimas para remoção do CIP e validação experimental

Uma vez que o modelo foi validado estatisticamente, análises numéricas foram realizadas para otimizar os fatores e determinar as condições de resposta máxima. A Tabela 5 mostra as condições de X_1 , X_2 e X_3 que otimizam a resposta avaliada (remoção de CIP). A remoção máxima de 97,74 % foi prevista nas condições operacionais de pH de 4,63, com 0,13 g de resina (concentração final de 2,6 mg/mL) e agitação de 266,9 rpm. Nessas condições otimizadas, foi alcançado um valor experimental 98,01 %. O baixo erro relativo entre os dois valores (menor que 1 %) fornece dados adicionais para garantir a alta precisão do modelo proposto. Além disso, a remoção de CIP prevista e experimental não diferiu pelo teste de *Tukey* com 95% de confiança.

Tabela 5: Condições ótimas (em valores codificados e reais) para a remoção de CIP (%) e validação experimental do modelo matemático.

Fator	Condições ótimas	Resposta predita (%)	Resposta experimental (%)	Erro relativo (%)
X_1	-0,79 (4,63)			
X_2	1,68 (0,13 g)	97,74	98,01 ± 1,57	-0,28
X_3	-0,28 (266,9 rpm)			

Embora o valor ótimo da massa de resina corresponde ao nível superior do planejamento experimental (+1,68 ou 0,13 g), este fato não se traduz em prejuízos econômicos ao processo, uma vez que a resina pode ser

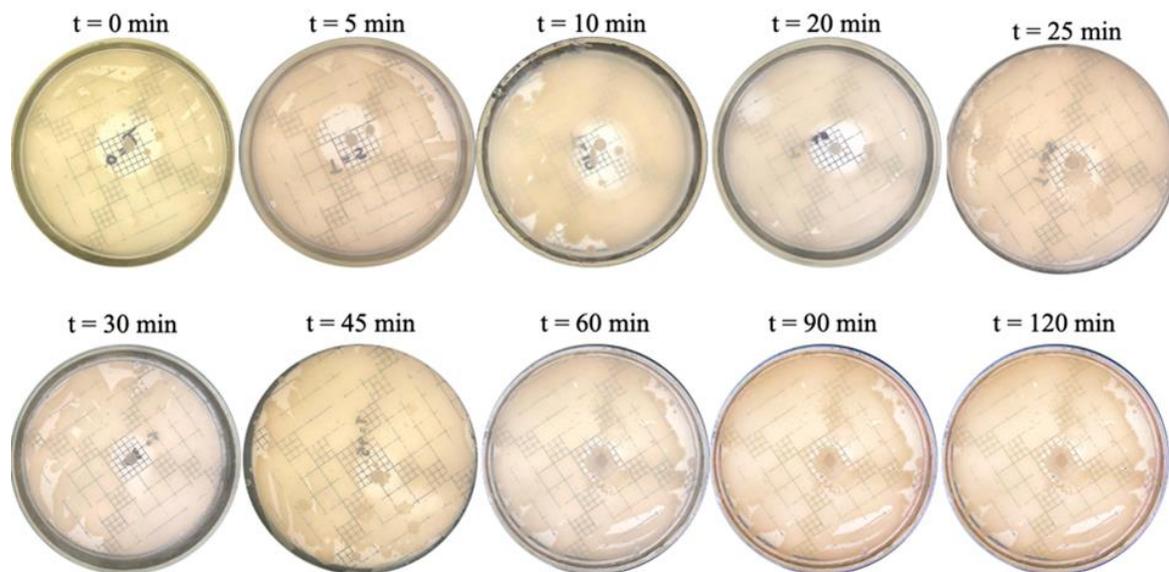
reutilizada. Além disso, a condição ideal de pH para operação do sistema foi determinada, bem como a agitação mínima necessária para tornar o processo o mais economicamente praticável.

Por fim, o processo de otimização foi capaz de levar a remoção de 98% de CIP inicialmente presente em solução ao final de 2 horas de operação. Estas constatações reforçam a otimização como uma das etapas cruciais para que o máximo proveito econômico seja obtido de processos, viabilizando a aplicação eficiente da técnica não apenas em escala laboratorial, mas também a nível industrial.

Análises da toxicidade utilizando organismo *Escherichia coli*

A Figura 5 apresenta as fotos das placas de Petri contendo a suspensão de células de *Escherichia coli* em contato com a solução de fármaco em diferentes tempos de tratamento, após 48 horas de incubação. As condições operacionais do tratamento (pH, massa de resina e rotação) utilizadas foram as otimizadas pelo planejamento experimental. Uma vez que o fármaco utilizado neste trabalho (CIP) é um antibiótico, este, quando em contato com bactérias, inibe seu crescimento. Dessa forma, quando a suspensão de células de *E. coli* foi incubada com discos de papel filtro embebidos com soluções onde o antibiótico ainda se fez remanescente, nota-se a presença de um halo de inibição. Entretanto, se a solução embebida no papel filtro não continha antibiótico (ou o continha em quantidades não representativas), não há a presença de um halo de inibição, mas sim pode-se observar o crescimento da colônia bacteriana.

Figura 5: Atividade microbiana e halo de inibição de amostras da solução de CIP em diferentes tempos de tratamento com resina.



Fonte: Autoria própria (2021)

Baseado na *Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Tests* (NCCLS, 2003), os halos de inibição podem ser classificados de acordo com a sensibilidade do microrganismo, isto é, como sensível, intermediário e resistente:

1. Sensível: diâmetro do halo maior que 21 mm. Indica que a *E. coli* é inibida pelo fármaco.
2. Intermediário: diâmetro do halo entre 16 e 20 mm. Indica que outros testes se fazem necessários para afirmar, com certeza, se a concentração de fármaco é responsável por inibir completamente o crescimento bacteriano.
3. Resistente: diâmetro do halo inferior a 15 mm. Indica que o fármaco não foi eficaz para conter o crescimento microbiano.

Com base na Figura 5, a atividade microbiana dos sistemas, em diferentes tempos de tratamento com a resina, pode ser classificada. Para tempos de tratamento inferiores a 20 minutos, foi possível medir que os halos de inibição foram maiores que 25 mm, indicando sensibilidade da bactéria ao fármaco remanescente. Já para os tempos de 25 e 30 min de tratamento, os halos de inibição apresentaram diâmetro médio de 20 e 17 mm, respectivamente. Nestes tempos de tratamento, a concentração remanescente de fármaco foi tal de forma a causar

uma inibição intermediária na *E. coli*. Por fim, 45 minutos de tratamento com a resina catiônica foram suficientes para a formação de halos de inibição médios inferiores a 15 mm, ou seja, a concentração de CIP remanescente foi baixa o suficiente para que a *E. coli* se apresenta resistente ao mesmo. Ademais, a partir de 60 minutos de tratamento, a ação da resina catiônica – nas condições operacionais utilizadas – permitiu o crescimento da colônia de *E. coli*, sem causar nenhuma inibição. Estes resultados indicam que não havia quantidade de CIP na solução capaz de afetar o crescimento microbiano, isto é, o processo de remoção fez-se eficiente já a partir de 1 hora.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, o processo de adsorção de CIP em resina catiônica Amberlite IRA-120 foi estudado. Foram investigados o efeito da massa, pH inicial, temperatura e velocidade de agitação na remoção de CIP. Portanto, as seguintes conclusões podem ser destacadas:

- O processo de otimização indicou as seguintes condições operacionais: pH 4,63; massa de 0,13 g de resina e 267 rpm. Nestas condições o processo foi capaz de remover 98% do CIP (2 horas de operação);
- A análise de toxicidade comprovou a eficiência do processo de remoção, que permitiu o crescimento de uma cultura de *E. coli* no efluente com apenas 1 hora de tratamento (nas condições operacionais otimizadas).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Antonelli, R., Malpass, G. R. P., da Silva, M. G. C., & Vieira, M. G. A. (2020). *Adsorption of ciprofloxacin onto thermally modified bentonite clay: experimental design, characterization, and adsorbent regeneration*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 104553.
2. Aversa, Thiago Muza et al. Síntese e sulfonação de resinas poliméricas macroporosas e avaliação na remoção de petróleo e de anilina em água. Polímeros [online]. 2014, v. 24, n. 1 [Acessado 20 Maio 2022], pp. 45-51. Disponível em: <<https://doi.org/10.4322/polimeros.2013.048>>.
3. NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard- Eighth Edition*. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-898 USA, 2003.
4. Vasconcelos, T. G., Kümmerer, K., Henriques, D. M., & Martins, A. F. (2009). *Ciprofloxacin in hospital effluent: Degradation by ozone and photoprocesses*. Journal of Hazardous Materials, 169(1-3), 1154–1158.
5. Wang, C.-J., Li, Z., Jiang, W.-T., Jean, J.-S., & Liu, C.-C. (2010). *Cation exchange interaction between antibiotic ciprofloxacin and montmorillonite*. Journal of Hazardous Materials, 183(1-3), 309–314.