



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - *CAMPUS* DE CASCAVEL**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS**  
**MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**LEILAINÉ ELISA ROMANO**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE  
DICLOFENACO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS**

Orientador (a): Prof.Dr. Helder Lopes Vasconcelos

**CASCAVEL - PR**  
**2018**

**LEILAINÉ ELISA ROMANO**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE  
DICLOFENACO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas. Linha de pesquisa: Fármacos e Medicamentos

Orientador (a): Prof. Dr. Helder Lopes Vasconcelos

**CASCADEL - PR  
2018**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Sistema de Bibliotecas - UNIOESTE)

R666d	<p>Romano, Leilaine Elisa. Desenvolvimento de metodologia para determinação de diclofenaco em águas superficiais / Leilaine Elisa Romano. --- Cascavel (PR), 2018. xii, 61 f.:il.</p> <p>Orientador (a): Prof. Dr. Helder Lopes Vasconcelos. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2018, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Inclui Bibliografia</p> <p>1. Fármacos. 2. Anti-inflamatórios não esteroides. 3. Amostra de água. I. Vasconcelos, Helder Lopes. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título</p> <p style="text-align: right;">CDD 615.1</p>
-------	---

Rosângela A. A. Silva – CRB 9ª/1810

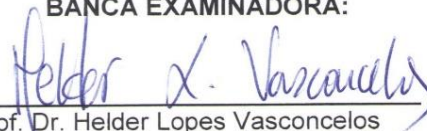
LEILAINÉ ELISA ROMANO

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE  
DICLOFENACO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

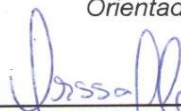
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná como pré-requisito para obtenção do título de Mestre(a) em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas. Linha de pesquisa: Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Helder Lopes Vasconcelos

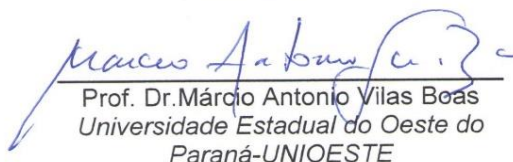
**BANCA EXAMINADORA:**



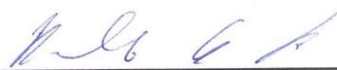
Prof. Dr. Helder Lopes Vasconcelos  
Universidade Estadual do Oeste do  
Paraná-UNIOESTE  
Orientador



Prof. Dr. Fábio Orssatto  
Universidade Tecnológica Federal do  
Paraná-UTFPR



Prof. Dr. Márcio Antonio Vilas Boas  
Universidade Estadual do Oeste do  
Paraná-UNIOESTE



Prof. Dr. Ralphe Rinaldo dos Reis  
Universidade Estadual do Oeste do  
Paraná-UNIOESTE

Cascavel - PR  
2018

## BIOGRAFIA RESUMIDA

Leilaine Elisa Romano, natural de Terra Rica, Paraná, Brasil, nascida no dia 01 de março de 1986, formou-se em Ciências Biológicas e em Farmácia na Faculdade Assis Gurgacz, em 2009 e 2011, respectivamente. Possui especialização em Gestão para Qualidade de Alimentos, pela Pontifícia Universidade Católica, *campus* Toledo, no ano de 2015. Ingressou no Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em nível de mestrado em Ciências Farmacêuticas no ano de 2016. Desenvolve projeto experimental de dissertação junto à linha Fármacos e medicamentos, orientada pelo Prof. Dr Helder Lopes Vasconcelos.

O universo sempre nos ajuda a lutar por nossos sonhos. Porque são nossos sonhos,  
e só nós sabemos o quanto nos custa sonhá-los.  
Paulo coelho

Aos meus pais, à minha irmã, ao meu marido e à minha filha,  
por me fazerem acreditar na realização dos meus sonhos, me ajudarem a trabalhar  
na concretização deles, e acima de tudo, pelo imenso amor em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Unioeste e ao PCF, por viabilizarem a realização deste projeto.

Ao meu professor orientador, Dr. Helder Lopes Vasconcelos, não apenas por todos os ensinamentos e orientação, mas pela amizade, paciência e entendimento dos caminhos e das dificuldades encontradas no percurso! Meu muito obrigada Professor!

Aos professores do programa, por todos os ensinamentos fornecidos que contribuíram para minha formação.

Ao laboratório de Engenharia Agrícola, pelos recursos disponibilizados, em especial, Cristiane e Fagner, pela ajuda fundamental no desempenho deste projeto.

Aos colegas que conheci e partilhei esta caminhada, em especial, André, pelas trocas de ideias e toda ajuda, e Gabriela, pelo auxílio nas análises.

A minha amiga-irmã, Camila, que sempre esteve presente em minha vida, me ajudando com sua enorme inteligência e experiência.

Aos meus pais, Ademir e Ana, e minha irmã Laline, que mesmo longe, são essenciais para que eu consiga prosseguir na minha caminhada. Obrigada por toda ajuda e apoio! Amo vocês demais!

Ao meu marido, amigo, companheiro, parceiro, meu eterno agradecimento. Ele acredita mais em mim do que eu mesma. Sempre disposto a encarar os desafios da vida, sempre sábio. Só a gente sabe quanto difícil foi tudo. Mas, juntos conseguimos vencer mais um desafio. Saiba que eu te amo e que você é meu inspirador e meu orgulho.

A minha princesa, Beatriz, por ser a luz da minha vida, por tentar entender, mesmo tão pequenina, que a mamãe estava trabalhando e estudando!

À família Xavier que me acolheu, e me ajudou a segurar as pontas quando foi preciso, em especial a minha sogra Neli, que sempre cuidou de nós e da minha pequena princesa, com muito amor e dedicação.

A Deus, acima de tudo, por ter me dado a oportunidade, me amparar no caminho, e colocar nele estas pessoas para me ajudar a vencer.



## DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Contaminantes emergentes podem ser definidos como compostos químicos presentes em produtos comerciais, que podem ser encontrados em matrizes ambientais e biológicas e que ainda não possuem regulamentação legal quanto ao descarte e à presença no ambiente. Fármacos como contaminantes emergentes têm ganhado destaque entre as pesquisas devido ao impacto que podem causar no meio ambiente e na saúde, a partir, por exemplo, do comprometimento da qualidade das águas superficiais e para consumo. A introdução destas substâncias no ambiente ocorre por uso no tratamento de doenças em humanos e animais, as quais são, então, liberadas por excreção, e também pelo lançamento de efluentes em corpos hídricos. O consumo de fármacos anti-inflamatórios não esteroides pela população é bastante elevado devido também às suas propriedades analgésicas e antipiréticas. Por conseguinte, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença do fármaco anti-inflamatório diclofenaco sódico em águas superficiais de rio na cidade de Cascavel-PR. Foram coletadas amostras de água no rio Cascavel no período de agosto a novembro de 2017. As amostras passaram por ajuste no pH, filtração e extração em fase sólida com cartuchos SPE. Após a eluição, os analitos foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, utilizando coluna C18 e detector UV-VIS. O método passou por estudo de validação, em que foram analisados a linearidade, o limite de detecção e quantificação, a precisão intermediária e a recuperação. Os dados registram que tais parâmetros estão em conformidade com a legislação vigente sobre validação analítica. Os resultados das amostras analisadas pelo método proposto apresentaram variação de 0,70 a 1,06  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . O Capítulo I apresenta o artigo científico contendo a otimização de um método cromatográfico para determinação de diclofenaco sódico em amostras ambientais e os resultados em termos da ocorrência deste nas amostras estudadas.

**Palavras-chave:** fármacos; anti-inflamatórios não esteróides; amostra de água

# DEVELOPMENT OF METHODOLOGY TO DETERMINE DICLOFENAC IN SURFACE WATER

## Abstract

Emerging contaminants can be defined as chemical compounds in commercial products, which can be recorded in environmental and biological matrices, although they do not have legal regulations yet regarding their disposal and presence in the environment. Drugs as emerging pollutants have stood out among researches due to their impact on the environment and health, for example by impairing surface water quality and so its consumption. The presence of these substances into the environment occurs because of their use to treat diseases in human beings and animals. Drugs are, so, released by excretion, and also by effluents into water bodies. The consumption of non-steroidal anti-inflammatory drugs by the population has been quite high due to their analgesic and antipyretic properties. Thus, this study aimed at evaluating the presence of diclofenac sodium as an anti-inflammatory drug in river of Cascavel city, Paraná. Water samples were collected from the Cascavel river, from July to November, 2017. Samples were pH adjusted, filtrated and solid phase extracted with SPE cartridges. After elution, the analytes were analyzed by High Performance Liquid Chromatography, using C18 column and UV-VIS detector. The method underwent a validation study, so that linearity, limit of detection and quantification, intermediate precision and recovery were analyzed. The data show that the studied parameters are in accordance with the current legislation on analytical validation. The samples results, analyzed by the proposed method, showed some ranging from 0.70 to 1.06  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Chapter I introduces the scientific paper containing the chromatographic method optimization to determine diclofenac sodium in environmental samples as well as the results concerning its occurrence in the studied samples.

**Keywords:** drugs; non-steroidal anti-inflammatory; water sample

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xii
1.INTRODUÇÃO.....	1
2.OBJETIVOS.....	2
2.1 Objetivo Geral.....	2
2.1 Objetivos Específicos.....	2
3.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
3.1 Fármacos como contaminantes emergentes.....	3
3.2 Anti-inflamatórios não esteróides.....	6
3.3 Características do Diclofenaco sódico.....	9
3.3.1 Características físico-químicas.....	9
3.3.2 Características gerais de consumo.....	9
3.3.3 Presença no ambiente aquático e legislação.....	10
3.4 Análise de fármacos no meio ambiente por cromatografia.....	12
3.5 Extração em fase sólida.....	13
3.6 Parâmetros de validação.....	16
3.6.1 Linearidade.....	17
3.6.2 Seletividade.....	17
3.6.3 Limite de detecção.....	18
3.6.4 Limite de quantificação.....	18
3.6.5 Precisão.....	18
3.6.6 Tendência/Recuperação.....	19
3.7 Área de estudo: Rio Cascavel.....	19
4.CAPÍTULO I: Ocorrência de diclofenaco sódico em água superficial da cidade de Cascavel-PR (Artigo redigido segundo normas da revista - Analytical and Bioanalytical Chemistry – Qualis A2).....	21
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	33
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
7. ANEXOS .....	35
ANEXO I -Normas da revista: Analytical and Bioanalytical Chemistry.....	35

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
8.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	41
8.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO CAPÍTULO I.....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Exemplos de AINES, suas classes e observações.....	8
Tabela 2 Ocorrência de Diclofenaco sódico em amostras de água.....	11

### Capítulo I

Tabela 1 Condições analíticas testadas para o método de determinação de diclofenaco em amostras de águas superficiais.....	25
Tabela 2 Ocorrência do diclofenaco sódico nas amostras de águas superficiais do rio Cascavel.....	28

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Rotas dos fármacos no meio ambiente.....	4
Figura 2 Mecanismo de ação dos AINEs.....	7
Figura 3 Estrutura química do diclofenaco sódico.....	9
Figura 4 Componentes de um cromatógrafo líquido.....	13
Figura 5 Filtração inicial das amostras para eliminação de interferentes.....	14
Figura 6 Sistema de extração em fase sólida (SPE).....	15
Figura 7 Extração de amostras por SPE.....	16
Figura 8 Localização do rio Cascavel, sendo que P-1 (Nascente do rio Cascavel - trecho da região litorânea do Lago Municipal, P-2 (Área urbana, próximo à Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE), P-3 (Área rural, próximo a SANEPAR).....	20

### Capítulo I

Figura 1 Curva analítica do composto Diclofenaco sódico.....	26
Figura 2 Cromatograma do tempo de retenção do composto diclofenaco sódico.....	27

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AINES – Anti-inflamatórios não esteroides  
COX- Araquidonato cicloxigenase  
ECA – Enzima conversora da angiotensina  
SPE – do inglês Solid Phase Extraction – Extração em fase sólida  
CLAE- Cromatografia Líquida de Alta eficiência  
CG-MS – Cromatografia Gasosa com detector de massas  
LC-UV – Cromatografia Líquida com detector Ultravioleta  
CG-MS<sup>2</sup> - Cromatografia Gasosa com espectrômetro de massa em série  
LC-DAD – Cromatografia Líquida com detector por arranjo de diodos  
LC-MS – Cromatografia Líquida acoplada a espectrometria de massas  
CLAE - Cromatografia Líquida de alta eficiência  
HPLC - High Performance Liquid Chromatography  
CLAE-EM – Cromatografia Líquida de Alta eficiência acoplada à espectrometria de massas  
CLAE-EM/EM – Cromatografia Líquida de Alta eficiência acoplada a dois espectrômetros de massas em série  
UV – VIS – Ultravioleta - visível  
INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia  
LD – Limite de Detecção  
LQ – Limite de Quantificação  
CV – Coeficiente de variação  
MRC – Material de referência certificado  
DPR – Desvio padrão relativo  
DP – Desvio Padrão  
CMD – Concentração média determinada  
HCl – Ácido clorídrico  
ETE- Estação de tratamento de efluente  
pka – Constante de acidez  
logK<sub>ow</sub> - Coeficiente de partição octanol-água  
CONAMA – Conselho Nacional do Meio ambiente  
EC – European Commission  
EMA - European Medicines Agency

## 1. INTRODUÇÃO

O foco dos estudos sobre poluição ambiental ocorre tradicionalmente por poluentes convencionais, como os pesticidas e metais pesados, porém, representam apenas uma parcela dos contaminantes que o meio ambiente pode estar exposto.

Contaminantes emergentes têm ganhado destaque entre as pesquisas atualmente devido ao impacto que podem causar ao meio ambiente e à saúde humana. Dentre os contaminantes emergentes estão os fármacos, os quais possuem características lipofílicas e de baixa biodegradabilidade, logo, se acumulam no meio ambiente com mais facilidade. As principais fontes de contaminação são a liberação por excreção humana e animal e o descarte de medicamentos e efluentes em cursos de água. Com isso, pode haver comprometimento na qualidade da água para consumo, já que os tratamentos convencionais podem não eliminar tais compostos.

Os fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINES) são muito utilizados pela população e suas ações terapêuticas estão relacionadas aos efeitos anti-inflamatórios, analgésicos e antipiréticos. Como exemplos de fármacos desta classe estão o ácido acetilsalicílico, paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno e cetoprofeno.

Estudos mostram que esses compostos podem ser detectados em amostras ambientais através de técnica cromatográfica e pode ser utilizada a Cromatografia líquida de alta eficiência. Dentre as etapas analíticas, a fase de extração é um ponto relevante. O método de extração em fase sólida (SPE) tem sido amplamente utilizado devido às características favoráveis como baixo consumo de solvente e grande capacidade de concentração do analito de interesse.

Faz-se necessária a confirmação da confiabilidade do método a ser utilizado para o desenvolvimento de uma metodologia analítica, a partir de sua validação, e avaliação de parâmetros como linearidade, limite de quantificação, recuperação e precisão. Contudo, o monitoramento destes compostos torna-se relevante, pois representam uma classe de contaminantes que vem chamando a atenção dos pesquisadores nos últimos anos, principalmente por possíveis impactos ambientais na saúde da população e ainda por não fazerem parte de legislações de controle de qualidade das águas. O presente trabalho busca contribuir com o levantamento de dados sobre a qualidade da água superficial e de abastecimento público na cidade de Cascavel-PR e verificar a ocorrência do fármaco diclofenaco sódico.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector UV-VIS para quantificação do fármaco diclofenaco sódico em amostras de águas superficiais.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector UV-VIS, a partir da análise das variáveis fase móvel e comprimento de onda.

- Validar o método desenvolvido de acordo com os parâmetros de linearidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e recuperação.

- Realizar extração em fase sólida nas amostras em estudo, a fim de se concentrar o analito de interesse.

- Avaliar a ocorrência do fármaco diclofenaco sódico a partir da análise das amostras de águas superficiais do Rio Cascavel, localizado na cidade de cidade de Cascavel-PR.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Fármacos como contaminantes emergentes

Contaminantes emergentes são compostos de origem natural ou sintética que estão presentes em produtos consumidos pela população e que chegam aos ecossistemas por efluentes tratados ou não. Embora sejam alvo de estudos recentes, a presença desses compostos no ambiente é antiga (SOUSA; VASCONCELOS, 2005; BARREIRO, 2013).

Segundo Costa Junior e colaboradores (2014), poluentes emergentes são compostos químicos presentes em uma variedade de produtos comerciais e podem ser encontrados em matrizes ambientais e biológicas. Eles não possuem regulamentação legal quanto ao descarte e à presença no ambiente, contudo, apresentam risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente.

Estudos de compostos que manifestam persistência no meio ambiente como os pesticidas, vem sendo realizados e apontam inúmeros contaminantes considerados emergentes em amostras ambientais. Entre os contaminantes destacam-se os compostos farmacológicos, como os usados para consumo humano: analgésicos, anti-inflamatórios e antibióticos (AMÉRICO et al., 2013).

Dentre os contaminantes emergentes, os fármacos representam uma classe que vem sendo estudada por pesquisadores devido ao crescente consumo de medicamentos e às consequências para o meio ambiente que podem causar (PETRIELLO et al., 2014).

Jin e Ming (2013) destacam que os produtos farmacêuticos e de higiene pessoal têm recebido grande atenção devido à ameaça que representam para o ambiente aquático e para saúde humana.

Devido ao fato de suas moléculas serem biologicamente ativas, os fármacos são considerados contaminantes ambientais, e também a maioria dos fármacos apresentam características lipofílicas e baixa biodegradabilidade, o que propiciam elevado potencial para bioacumulação e persistência no ambiente (AMÉRICO et al., 2012).

Segundo Araújo e colaboradores (2010), tais compostos farmacêuticos que chegam ao ambiente são considerados elementos que apresentam danos à saúde

humana e animal porque podem desencadear consequências como problemas genéticos e mutações.

Os fármacos possuem comportamento físico-químico semelhante aos xenobióticos que se acumulam e podem levar à indução de efeitos negativos tanto em organismos aquáticos quanto terrestres (SIRTORI, 2010).

A inserção destas substâncias no ambiente advém do uso para o tratamento de doenças em humanos e animais, liberadas pela excreção, a partir do lançamento por efluentes nos corpos hídricos receptores das águas destinadas ao abastecimento (AMÉRICO et al., 2013).

Para Bila e Dezotti (2003), a principal rota de entrada de resíduos de fármacos no ambiente é o lançamento de esgotos em cursos de água, mas também devem ser considerados efluentes de indústrias farmacêuticas, efluentes hospitalares, efluentes rurais e a destinação incorreta e fármacos após prazo de validade (Figura 1).

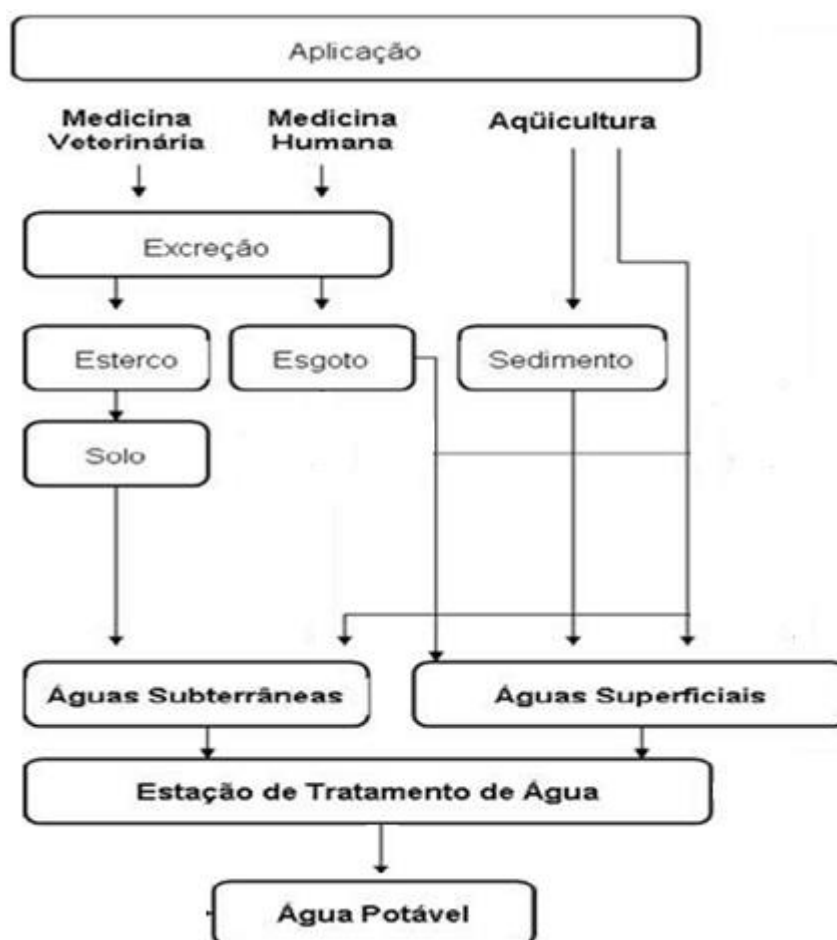


Figura 1 Rotas dos fármacos no meio ambiente. Adaptado de: Bila e Dezoti (2003)

Costa e Costa (2011) ressaltam que as principais causas da contaminação ambiental estão ligadas à prática de que as pessoas não se dão conta de que produtos farmacêuticos são perigosos para o ambiente, por isso, usam os fármacos de forma inadequada, como a automedicação. O Brasil também se enquadra entre os dez maiores consumidores mundiais de medicamentos, com a tendência de aumento do consumo nos próximos anos. Assim, tem-se a ideia de que o consumo excessivo e as variadas formas de eliminação de medicamentos fazem com que estes compostos cheguem ao meio ambiente.

Os primeiros estudos sobre o tema foram publicados na década de 70, como os estudos realizados por Garrison e colaboradores (1976) e Hignite e Azarnoff (1977), os quais verificaram a presença de ácido clorídrico: metabólito dos fármacos antilipêmicos clofibrato e etofibrato, em efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE) nos Estados Unidos (BILA e DEZOTTI, 2003).

Segundo Costa e Costa (2011), dentre os medicamentos mais comumente encontrados no meio ambiente, pode-se destacar o atenolol (usado principalmente em doenças cardiovasculares), ibuprofeno (um fármaco do grupo dos anti-inflamatórios, também analgésico e antipirético, utilizado para o alívio sintomática da dor de cabeça, dor muscular, febre, etc.), o paracetamol (apresenta propriedades analgésicas, mas baixa propriedade anti-inflamatória), a dipirona (analgésico e antitérmico), a sinvastatina (usada no tratamento da dislipidemia, para redução dos níveis de colesterol e lipídios no sangue), fluoxetina (antidepressivo indicado para uso em depressão moderada à grave) e os anticoncepcionais (usados para inibir a fertilidade normal da mulher).

Santos e colaboradores (2013) relataram a presença de paracetamol na concentração de  $0,025 \mu\text{g.L}^{-1}$  em efluente hospitalar em Portugal. Ibanez e colaboradores (2013) obtiveram  $10,6 \mu\text{g.L}^{-1}$  de ibuprofeno,  $2,73 \mu\text{g.L}^{-1}$  de naproxeno,  $1,78 \mu\text{g.L}^{-1}$  de paracetamol em afluentes na Espanha. Yu e Wu (2011) encontraram  $77 \mu\text{g.L}^{-1}$  de paracetamol em amostras de efluente de ETE nos Estados Unidos.

Filippe e colaboradores (2016), em estudo sobre contaminantes emergentes no Rio Barigui localizado em Curitiba-PR, detectaram cafeína como o composto mais presente nas amostras com concentração, cuja variação foi de 0,09 a  $1,59 \mu\text{g.L}^{-1}$ . O ácido acetilsalicílico foi detectado em concentrações entre 0,11 e  $0,38 \mu\text{g.L}^{-1}$  e o estradiol foi o hormônio detectado com concentração até  $0,74 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Segundo Torres e colaboradores (2012), o grande aumento da presença de tais compostos no ambiente representa uma das problemáticas mundiais do comprometimento da qualidade das águas para consumo humano e do impacto causador nos ambientes aquáticos. Destacam ainda que existem poucos estudos no Brasil que abordam a ocorrência de fármacos no ambiente e seus efeitos, cuja maioria é realizada nos países desenvolvidos.

Pesquisas preliminares têm mostrado que alguns desses fármacos não são completamente removidos, uma vez que são desenvolvidos para serem persistentes, portanto, mantêm suas propriedades químicas o bastante para servir a um propósito terapêutico. Assim, tais compostos podem não ser eliminados durante o processo convencional de tratamento dos esgotos, pois as estações são equipadas com unidades focadas na remoção de contaminantes convencionais em níveis de  $\text{mg.L}^{-1}$ . Fármacos, por sua vez, requerem tecnologias capazes de alcançar teores de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a  $\text{ng.L}^{-1}$  e, como resultado, são encontrados em águas superficiais e subterrâneas, bem como nos sedimentos (COSTA JÚNIOR et al., 2014).

Melhorias na área de tratamento de efluentes e a busca por novos métodos para tratamento de águas residuais vêm sendo realizadas. Exemplos são a ozonização e a osmose, cujo objetivo é a remoção dos contaminantes orgânicos de forma mais eficaz (PISARENKO et al., 2012; SHEN et al., 2014; DANG et al., 2014).

No entanto, devido ao alto custo, a maioria das estações de tratamento de efluentes não possuem estes processos na sua rotina e, por consequência, os resíduos destas moléculas orgânicas nocivas podem ser encontrados em água potável (PEDROUZO et al., 2011).

### **3.2 Anti-inflamatórios não esteroides**

Segundo Rang e colaboradores (2001), os agentes anti-inflamatórios não esteroides (AINES) são os agentes terapêuticos mais amplamente utilizados e são frequentemente prescritos para relatos de dores musculoesqueléticas e tomados sem prescrição para dores menores.

A denominação AINES é devido ao fato de constituírem um grupo de compostos denominados ácidos orgânicos (BECKER, 2012). As suas ações farmacológicas podem ser definidas como três: efeitos anti-inflamatórios que

modificam a reação inflamatória; efeito analgésico em certos tipos de dores e efeito antipirético, a fim de que se reduza a elevação da temperatura. Nem todos manifestam os três tipos de ações na mesma intensidade, todavia, normalmente, todos são analgésicos e antipiréticos, com certa variação no que tange ao grau de atividade anti-inflamatória (RANG et al., 2001).

Os referidos efeitos estão relacionados a sua ação primária que é a inibição da araquidonato ciclooxygenase (COX) e assim, inibição da produção de prostaglandinas e tromboxanos, conforme ilustra a Figura 2. Há dois tipos de COX: COX-1 e COX-2. A COX-1 é expressa na maior parte dos tecidos e está envolvida na sinalização entre células e na homeostasia tecidual. A COX-2 é induzida nas células inflamatórias quando são ativadas e é responsável pela produção de mediadores prostanóides da inflamação (RANG et al., 2001).

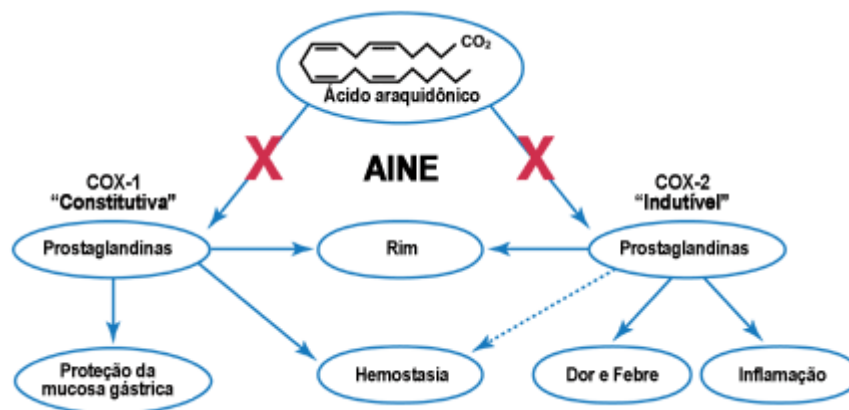


Figura 2 Mecanismo de ação dos AINEs. Fonte: Bécker (2012)

Em relação à farmacocinética, os AINEs são absorvidos rápida e completamente a partir do trato gastrointestinal, com pico entre 1 a 4 horas. A absorção pode ser retardada pela presença de alimentos, mas não afeta a concentração do pico. Os AINEs são muito ligados às proteínas e sofrem metabolismo hepático e excreção renal (BRUNTON et al., 2006).

Os efeitos indesejáveis mais comuns são gastrointestinais, incluindo dispepsia, diarreia, náusea e vômito. Reações cutâneas são relatadas como o segundo efeito indesejável mais comum, além de serem observadas erupções leves, urticária e reações de fotossensibilidade até doenças mais graves e indivíduos mais susceptíveis

podem apresentar reações renais. O consumo crônico de AINES pode causar nefropatia por analgésicos, evidenciada por nefrite crônica e necrose papilar renal (RANG et al., 2001). Segundo Brunton e colaboradores (2006), também podem ser citados efeitos no sistema nervoso central, como cefaleia, vertigem, tonturas, confusão, efeito em plaquetas, que causam a inibição da ativação plaquetária, propensão a equimoses e maior risco de hemorragias, reações de hipersensibilidade como rinite vasomotora, asma, urticária, rubor, hipotensão e choque. Os efeitos manifestam-se nas primeiras semanas de tratamento, enquanto o sangramento e as ulcerações têm início mais demorado.

As interações medicamentosas relatadas abordam o uso concomitante de AINES com ácido acetilsalicílico e podem aumentar a probabilidade de eventos adversos gastrintestinais em comparação ao uso isolado de AINES. A combinação de AINES com inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) pode provocar bradicardia que resulte em síncope, principalmente em idosos. Podem também causar aumento de ulceração gastrintestinal se combinados com corticosteroides e risco de sangramento em pacientes que usem varfarina (BRUNTON et al., 2006). Alguns exemplos de AINES são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Exemplos de AINES, suas classes e observações. Fonte: Brunton et.al (2006)

<b>Fármaco</b>	<b>Classe</b>	<b>Observações</b>
Ácido acetilsalicílico	Salicilatos	Inibe permanentemente a COX-1 plaquetária devido ao grupo acetil
Paracetamol	Derivado do paraminofenol	Efeitos analgésicos e antipiréticos, menor efeito anti-inflamatório
Diclofenaco	Derivado do ácido acético	Maior potência se comparado ao ácido acetilsalicílico
Ibuprofeno	Derivado do ácido propiônico	10-15% dos pacientes interrompem seu uso pelos efeitos adversos
Cetoprofeno	Derivado do ácido propiônico	30% desenvolvem efeitos colaterais gastrintestinais leves

### 3.3 Características do Diclofenaco sódico

#### 3.3.1 Características físico-químicas

Possui fórmula molecular  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ , pka 4,  $\log K_{ow}$  4,51, levemente ácido, ponto de fusão 283-285°C; é levemente solúvel em água, facilmente solúvel em metanol, solúvel em etanol, ligeiramente solúvel em ácido acético, pouco solúvel em acetona, insolúvel em éter, clorofórmio e tolueno (BÉCKER, 2012 e RODRIGUES, 2012). A estrutura química do diclofenaco sódico está representada na Figura 3.

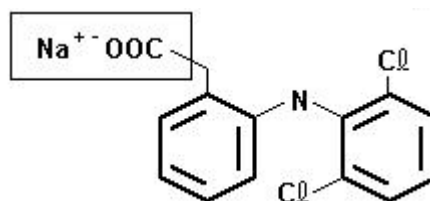


Figura 3 Estrutura química do diclofenaco sódico

O diclofenaco sódico possui ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória. É de rápida absorção, ampla ligação às proteínas e o tempo de meia vida do composto é curto. Há grande efeito de primeira passagem e sua disponibilidade sistêmica é de apenas cerca de 50%. Acumula-se no líquido sinovial após administração oral, por causa disso há a explicação para o efeito terapêutico mais longo que a meia-vida plasmática. É metabolizado no fígado por um membro da subfamília CYP2C em 4-hidroxiclofenaco, principalmente, e após glicuronidação e sulfuração seus metabólitos são excretados em torno de 65% pela urina e 35% na bile. Cerca de 20% dos pacientes sofrem com os efeitos adversos gastrointestinais (BRUNTON et al., 2006).

#### 3.3.2 Características gerais de consumo

O diclofenaco é o AINE mais utilizado na Europa e aprovado nos Estados Unidos para tratamento sintomático a longo prazo da artrite reumatóide e osteoartrite, em dose habitual de 100 a 200 mg, fracionada em várias tomadas. Também se faz útil a curto prazo para tratamento de dor musculoesquelética aguda e dismenorreia



(BRUNTON et al., 2006).

É difícil calcular o consumo global exato de diclofenaco por várias razões. Algumas delas são o uso de diferentes nomes comerciais, uso para fins humanos e veterinários não acompanhados e a facilidade de acesso pela população, pois a droga é consumida sem receita médica. No entanto, há uma estimativa de que cerca de 940 toneladas de diclofenaco são consumidas anualmente em todo o Planeta, em dados baseados do Intercontinental Marketing Services (IMS) (LONAPPAN et al., 2016).

### 3.3.3 Presença no ambiente aquático e legislação

Atualmente, as principais normativas referentes à qualidade das águas não estabelecem limites para ocorrência de fármacos no ambiente aquático. As normativas referem-se ao padrão microbiológico, aos contaminantes orgânicos e inorgânicos, às substâncias como metais, aos derivados de petróleo, agrotóxicos, desinfetantes, dentre outros compostos.

No Brasil, dentre as legislações existentes para controle da qualidade das águas destacam-se as seguintes leis: CONAMA nº357/2005, que classifica os corpos de água, CONAMA nº 430/2011, que dispõe sobre condições para lançamentos de efluentes e a Portaria nº 2914/2011, que trata sobre os procedimentos de controle e de qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

Em 2006, a *European Medicines Agency* (EMA) elaborou um guia denominado *Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medical Products for Human Use*, em que há descrição dos riscos ambientais de produtos utilizados na medicina humana, e as bases para avaliação. O guia está embasado na Diretiva 2001/83/EC (*European Commission*). Nele, os riscos são avaliados em duas fases: a primeira é constituída da estimativa de exposição do composto no ambiente e a segunda compreende a obtenção e avaliação que abrangem o destino e os efeitos do composto (BECKER, 2012).

Em relação à ocorrência de fármacos no ambiente aquático, especificamente o diclofenaco sódico, Lonappan e colaboradores (2016) relatam que, nas águas superficiais, a contaminação por diclofenaco ocorre em rios, estuários (zona alagada, na qual as águas doces de um rio e as águas salgadas do mar se misturam) e lagos. E além disso, existem alguns relatos de detecção em águas subterrâneas e água

potável. A maioria desta detecção é proveniente de países da União Europeia. Quando comparado com a Europa, o consumo de diclofenaco nas Américas do Norte e do Sul é menor, mas existem relatos de detecção de diclofenaco no meio ambiente.

A Tabela 2 apresenta alguns estudos realizados nos últimos anos, os quais constataram a presença de diclofenaco no ambiente.

Tabela 2 Ocorrência de Diclofenaco sódico em amostras de água. Adaptado de Lonappan et al (2016)

<b>Tipos de amostra</b>	<b>Concentração (<math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math>)</b>	<b>Países</b>	<b>Referências</b>
Rio	0,0062	Alemanha	Weigel et al. (2002)
Rio	1,030	Alemanha	Heberer (2002a)
Água de torneira	0,010	Alemanha	Heberer (2002b)
Rio	0,018 – 0,050	Canadá	Metcalfe et al. (2003)
Rio	0,002 – 0,003	Finlândia	Lindqvist et al. (2005)
Rio	0,026 – 0,072	Espanha	Hernando et al. (2006)
Água potável	0,012	Estados Unidos	Benotti et al. (2008)
Rio	0,1 – 0,2	Alemanha	Letzel et al. (2009)
Rio	0,0078 – 0,0648	China	Dai et al. (2015)
Nascente	0,0031	Espanha	Lopez-Serna et al. (2013)
Água de torneira	0,018	Espanha	Carmona et al. (2014)
Rio	0,049	Espanha	Carmona et al. (2014)
Rio	0,034 – 0,145	Argentina	Valdés et al. (2014)
Rio	0,22	Brasil	Lopes et al. (2016)
Rio	0,051	França	Ellis (2016)

Os contaminantes emergentes, contudo, ainda não se encontram em listas regulatórias obrigatórias de poluentes ambientais devido ao fato de que os efeitos que causam ao meio ambiente ainda não estão totalmente esclarecidos (KUSTER, LÓPEZ DE ALDA; BARCELÓ, 2005). Assim, são necessários conhecimentos sobre os efeitos e toxicidade de tais poluentes para o estabelecimento definitivo de legislação e limites de fármacos expostos no ambiente. Esta área tem o crescente interesse dos pesquisadores de todo o planeta (SIRTORI, 2010), haja vista interferir em toda cadeia

biológica.

### 3.4 Análise de fármacos no meio ambiente por cromatografia

Basicamente, a análise de fármacos compreende as etapas de extração e pré-concentração do analito, eliminação de interferentes, separação, detecção e sua quantificação. As técnicas analíticas mais utilizadas para quantificação de fármacos em amostras ambientais estão fundamentadas em técnica cromatográfica. Dentre elas destacam-se a cromatografia gasosa com detector de massas (GC-MS), cromatografia gasosa com espectrômetro de massa em série (CG-MS<sup>2</sup>), cromatografia gasosa com espectrometria de massas de alta resolução, cromatografia líquida com detecção ultravioleta (LC-UV), cromatografia líquida com detector por arranjo de diodos (LC-DAD) e cromatografia líquida com espectrometria de massas (LC-MS) (SOUZA; FALQUETO, 2015).

A seleção da técnica cromatográfica é feita com base nas propriedades do poluente de interesse, e foco na volatilidade, polaridade, hidro e lipossolubilidade. Técnicas baseadas na cromatografia líquida de alta eficiência também se mostram adequadas para uma variedade de compostos orgânicos que apresentam polaridade mais alta e volatilidade mais baixa ou ainda elevada instabilidade térmica (SOUZA; FALQUETO, 2015).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) faz uso de colunas de tamanho reduzido e recheadas com materiais específicos, e uma fase móvel eluída sob altas pressões. Este tipo de técnica cromatográfica realiza separações e análises quantitativas de uma gama de compostos em diversos tipos de amostras, em poucos minutos, e obtém alta resolução, eficiência e sensibilidade (COLLINS, BRAGA & BONATO, 2006).

A Figura 4 ilustra os componentes de um equipamento de CLAE. Basicamente, o solvente (chamado de eluente ou fase móvel) é armazenado em frasco apropriado, e é impulsionado por uma bomba de alta pressão para a coluna. A amostra é então introduzida na fase móvel, através de uma válvula de injeção e é arrastada para a coluna, onde ocorre a separação. O efluente da coluna é direcionado para um detector, que sinaliza a presença dos analitos eluídos da mesma. O sinal gerado pelo detector é captado por um *software*, tratado no computador, e assim é gerado um

cromatograma que demonstra a variação do sinal do detector em função do tempo de análise (LANÇAS, 2009).

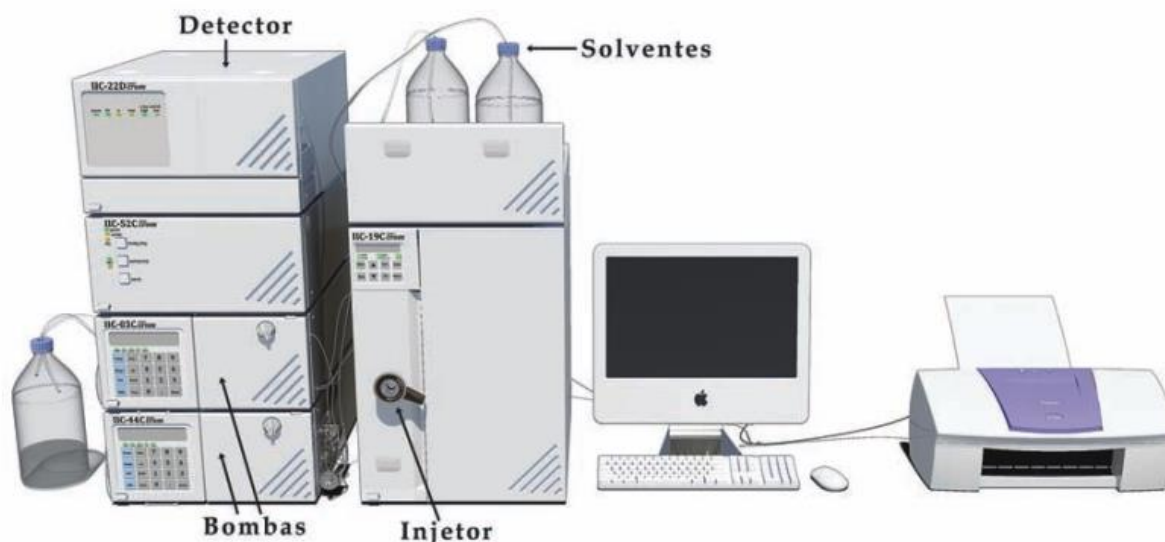


Figura 4 Componentes de um cromatógrafo líquido. Fonte: Lanças (2009)

Em CLAE, o uso de detectores como índice de refração, ultravioleta, espalhamento de luz, fluorescência e outros, aliados a softwares dedicados, permitem a análise quantitativa dos compostos em concentrações extremamente baixas. Apesar de tais características, a utilidade desta técnica de identificação ser bastante limitada. Mesmo com grandes esforços, como o uso de colunas de diferentes polaridades, a análise qualitativa é sujeita a muitos erros devido ao uso dos tempos de retenção para a identificação dos analitos. Apesar do tempo de retenção ser característico de um composto, ele não é único, porém, outros compostos podem ter o mesmo tempo de retenção nas condições cromatográficas empregadas. A maneira encontrada para solucionar este problema foi utilizar um detector fotométrico que opera nas regiões ultravioleta e visível (UV-VIS) do espectro. O desenvolvimento dos detectores UV-VIS de comprimento de onda variável, baseados nos espectrofotômetros ao invés dos fotômetros, permitiu a obtenção dos espectros completos de um pico cromatográfico na região espectral característica de cada composto (LANÇAS, 2009).

### 3.5 Extração em fase sólida

Uma etapa da análise de fármacos muito importante é a preparação das

amostras. O desafio consiste na conversão de uma amostra real em uma amostra adequada para ser aplicada na técnica analítica. Isto é alcançado pela remoção de interferentes, aumento da concentração do analito de interesse, pela conversão do analito em uma forma mais adequada para separação ou detecção, a fim de se alcançar um método o mais reprodutível possível (SMITH, 2003). A Figura 5 ilustra a etapa inicial de filtração da amostra e eliminação de interferentes (sujidades). Nesta etapa, faz-se uso de filtros em níveis de porosidade de  $0,45\ \mu\text{m}$ , em sistemas a vácuo.



Figura 5 Filtração inicial das amostras para eliminação de interferentes. Fonte: Autor (2018)

Após o preparo da amostra, em matrizes ambientais aquosas, há que se superar também o desafio de complexidade da matriz e das baixas concentrações dos compostos de interesse. Um dos procedimentos mais utilizados para este tipo de matriz é a extração em fase sólida (SPE, do *inglês Solid Phase Extraction*), devido às seguintes características: baixo consumo de solvente orgânico, grande capacidade de concentração e disponibilidade de diversos adsorventes o que favorece à aplicação em muitos compostos variados (BISCEGLIA, 2010). O sistema de extração SPE é representado na Figura 6.



Figura 6 Sistema de extração em fase sólida (SPE). Fonte: Autor (2018)

Na extração em fase sólida, conforme ilustrado na Figura 7, é realizada a escolha da fase polimérica ideal, a qual passa o cartucho pela etapa (1) de condicionamento desta fase. O solvente é conduzido através dos grupos funcionais presentes na fase estacionária para assegurar a interação com a amostra. O solvente de condicionamento deve apresentar as características de polaridade semelhante à amostra para retenção do analito desejado. Após, a amostra é percolada pelo cartucho de SPE (2) para retenção do analito. Na etapa seguinte (3), é realizada a lavagem dos interferentes da amostra e eluição do analito (4) com um solvente que possua interação com o mesmo para posterior análise (BAKER e KASPRZYK-HORDERN, 2011).

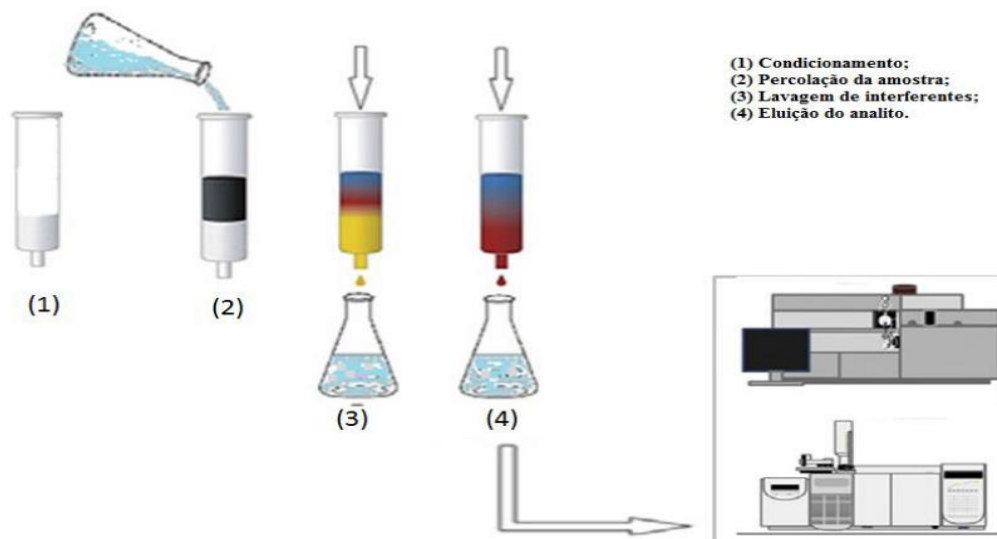


Figura 7 Extração de amostras por SPE. Fonte: Latorre e colaboradores (2013)

Estudos realizados por Bila e Dezotti (2003) e Almeida e Weber (2005) sobre a detecção de baixas concentrações em diferentes grupos de fármacos no ambiente aquático mostraram que a extração em fase sólida é o melhor meio para análise.

Existe urgência por resultados e avanços científicos nos procedimentos de monitoramento ambiental, em especial no desenvolvimento de competências analíticas, equipamentos e métodos com a sensibilidade necessária à investigação nos diferentes focos de contaminação. Técnicas analíticas tornam possível a determinação dessas substâncias em matrizes ambientais e/ou biológicas em concentrações cada vez mais reduzidas. Com isso, a otimização e a proposição de novas técnicas são imprescindíveis antes de quaisquer outras ações. Um diagnóstico preciso e confiável deve ser a base para procedimentos posteriores (COSTA JUNIOR et al., 2014).

### 3.6 Parâmetros de validação

Segundo o documento orientativo do Inmetro DOQ-CGCRE nº008 de 2016 e a Resolução da Anvisa nº166, de 24 de julho de 2017, com o objetivo de confirmar que os métodos são apropriados para o uso pretendido, deve-se realizar a análise de alguns parâmetros, tais como linearidade, sensibilidade, limite de detecção, limite de

quantificação, precisão e tendência/recuperação.

### 3.6.1 Linearidade

Grande parte dos equipamentos de medição estabelece a sua faixa dinâmica linear, entretanto, é necessário verificar até que ponto a faixa de concentração do analito coincide com a referida faixa dinâmica linear, visando assegurar que nenhum outro fenômeno tenha impacto indesejável na resposta. A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real, cuja equação da reta é expressa da seguinte maneira:

$$y = a + bx$$

Em que:

$y$ =resposta medida (como exemplos - absorbância, altura ou área do pico);

$x$ =concentração;

$a$ =interseção com o eixo  $y$ , quando  $x = 0$ ;

$b$ =inclinação da curva analítica = sensibilidade.

Determina-se que um método é mais sensível quando pequenas variações de concentração resultam em maior variação na resposta, isto é, maior inclinação ( $b$ ). A linearidade pode ser observada a partir de um gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito e verificada a partir da equação da reta.

### 3.6.2 Seletividade

É a capacidade que o método possui para medir um composto em presença de outros componentes como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. Em análise cromatográfica, devem-se tomar as precauções necessárias para garantir a pureza dos picos cromatográficos. A seletividade refere-se ao sinal analítico isento de interferências, sua comprovação, conhecendo os componentes da formulação. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a tendência e a precisão poderão ficar comprometidas.



### 3.6.3 Limite de detecção

O Limite de Detecção (LD) se aplica quando se realiza alguma medida em amostra com baixo nível do analito ou em análise de traços. É importante para se conhecer qual o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método. Existem diversas formas de se calcular o limite de detecção, dentre elas: a relação sinal/ruído de 3:1; a partir do método baseado em dados da curva analítica, onde faz-se a relação entre a estimativa do desvio padrão de análises de brancos pelo coeficiente angular da curva analítica, multiplicando-se por 3,3; e pelo método visual, que é utilizado para determinar o limite de detecção através de soluções padrões do analito em concentrações menores que o primeiro ponto da curva de calibração, observando-se a primeira concentração a ser detectada visivelmente (RIBANI et al, 2004).

### 3.6.4 Limite de quantificação

Os mesmos critérios de LD podem ser utilizados para se determinar o Limite de Quantificação (LQ), e então são utilizados os métodos de relação sinal/ruído de 10:1; com base nos dados da curva, multiplicando-se por 10; pelo método visual, ou ainda quando se adota o valor do padrão da curva de calibração de menor concentração, excluindo-se o branco (RIBANI et al, 2004).

### 3.6.5 Precisão

As formas mais comuns de se expressar a precisão são por repetitividade, precisão intermediária e da reprodutibilidade, as quais são, em geral, expressas pelo desvio padrão e coeficiente de variação. O coeficiente de variação (CV, expresso em %), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), é calculado da seguinte forma:

$$CV \% = DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

Onde:

DP=desvio-padrão

CMD=concentração média determinada.

A Repetitividade deve seguir as seguintes condições: mesmo procedimento de medição, mesmo observador, mesmo instrumento usado sob mesmas condições, mesmo local, e repetições no menor espaço de tempo possível.

A Precisão intermediária refere-se à precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando-se o mesmo método, no mesmo laboratório, mas definindo-se exatamente quais as condições a variar (uma ou mais), tais como: diferentes analistas, diferentes equipamentos, diferentes tempos. Representa a variabilidade dos resultados em um laboratório.

### 3.6.6 Tendência/Recuperação

Os processos normalmente utilizados para avaliar a tendência de um método são, entre outros: o uso de materiais de referência certificados (MRC), a participação em comparações interlaboratoriais e a realização de ensaios de recuperação. A tendência, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica em uma combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. A determinação da tendência com relação aos valores de referência apropriados é importante no estabelecimento da rastreabilidade aos padrões reconhecidos. Pode ser expressa como recuperação analítica, definida como:

$$\% \text{ Recuperação analítica} = \frac{\text{Valor observado}}{\text{Valor esperado}} \times 100$$

### 3.7 Área de estudo: Rio Cascavel

O Rio Cascavel (24°32'e 25°17'S; 53°05' e 53°50'W) possui uma vazão total de 973 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>, e desses, 345 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> são captados pela Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR) para o abastecimento do município, em cerca de 70% das residências tanto da área urbana quanto rural (AQUINO et al., 2014).

O primeiro sistema público de abastecimento da cidade foi implantado em 1963, quando dois poços artesianos foram perfurados, com a instalação de redes de distribuição e de reservatório. No ano de 1972, a SANEPAR iniciou os serviços de tratamento da água e esgoto (SANEPAR, 2017).

O tratamento e a distribuição da água são realizados pelo método convencional e abrangem as seguintes etapas: coagulação, floculação, decantação, filtração, desinfecção e fluoretação. Há duas estações de tratamento: a captação superficial nos Rios Cascavel, Peroba e Saltinho e a captação subterrânea em 16 poços (SANEPAR, 2017).

Um ponto próximo à estação de tratamento de água no rio Cascavel foi selecionado como área de estudo para avaliar a qualidade da água disponibilizada para tratamento para a população de Cascavel. A Figura 8 ilustra a localização do Rio Cascavel e dentre os pontos apresentados, destaca-se o ponto P-2, região onde as coletas foram realizadas. Segundo Aquino e colaboradores (2014), neste trecho, o rio apresenta características de riacho, muitos seixos e profundidade reduzida.

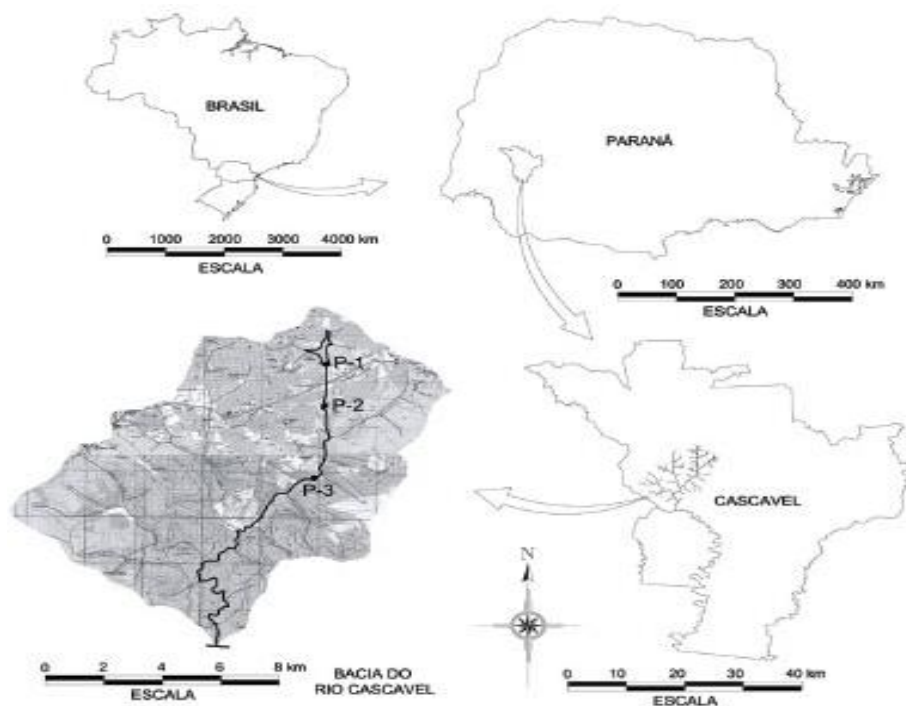


Figura 8 Localização do Rio Cascavel, sendo P-1 a Nascente do rio Cascavel - trecho da região litorânea do Lago Municipal, P-2 a Área urbana, próximo à Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, e P-3 a Área rural, próximo a SANEPAR. Fonte: Aquino e colaboradores (2014).

#### 4. CAPÍTULO I: Ocorrência de diclofenaco sódico em águas superficiais da cidade de Cascavel-PR (Artigo redigido segundo normas da revista - Analytical and Bioanalytical Chemistry – Qualis A2)

Leilaine Elisa Romano<sup>\*</sup>; Cristiane Lurdes Paloschi; Gabriela Záttera; Helder Lopes Vasconcelos

<sup>\*</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná-UNIOESTE, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas  
Rua Universitária, 2069 - Cascavel, Paraná, Brasil. E-mail: leilaine.romano@unioeste.br

##### Resumo

Contaminantes emergentes vêm se destacando em pesquisas devido ao impacto que podem causar ao meio ambiente e à saúde humana. Dentre os contaminantes emergentes estão os fármacos, que possuem características que proporcionam acumulação no ambiente. As principais fontes de contaminação são por liberação de excreções humanas e animais e por descarte de efluentes e medicamentos em corpos hídricos. Assim, o presente estudo teve como objetivos desenvolver um método analítico para determinar diclofenaco sódico, validar a metodologia e quantificar o composto em amostras de água superficial da cidade de Cascavel-PR. Foram coletadas amostras de água no Rio Cascavel, no período de agosto a novembro de 2017. As amostras passaram por ajuste no pH, filtração e extração em fase sólida com cartuchos SPE. Após a eluição, os analitos foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, com detector UV-VIS e coluna C18. O método passou por estudo de validação, cujo coeficiente de correlação foi de 0,9993, limite de detecção e quantificação de 0,04 e 0,1 mg.L<sup>-1</sup> respectivamente, 5,03% para a Repetibilidade, 5,31% para a Precisão intermediária e 82,28% de recuperação analítica. As concentrações encontradas nas amostras reais coletadas no Rio Cascavel variaram entre 0,70 a 1,06 µg.L<sup>-1</sup>. Contudo, o presente trabalho demonstrou a otimização de um método para determinação de diclofenaco sódico em amostras ambientais, e mostrou a presença do composto nas amostras coletadas na localidade do Rio Cascavel.

**Palavras-chave:** contaminantes emergentes; amostras ambientais, cromatografia líquida, validação analítica.

#### DICLOFENAC SODIUM OCCURRENCE IN SURFACE WATER OF CASCAVEL-PR CITY

##### Abstract

Emerging contaminants have been highlighted in several researches due to their impact on the environment and human health. Drugs are among the emerging contaminants whose features are to provide accumulation in the environment. The main sources of contamination come from human and animal excretions that are released and by effluents and drugs disposal into water resources. Thus, this study aimed at developing an analytical method to determine diclofenac sodium, at validating the methodology and quantifying the compound in surface water samples

from Cascavel city in Paraná. Water samples were collected in the Cascavel river from august to november 2017. Samples were pH adjusted, filtrated and solid phase extracted with SPE cartridges. After elution, the analytes were analyzed by High Performance Liquid Chromatography, with UV-VIS detector and C18 column. The method underwent a validation study, whose correlation coefficient was 0.9999, its limits of detection and quantification were 0.04 and 0.1 mg.L<sup>-1</sup>, respectively, Repeatability was 5.03%, intermediate accuracy was 5.31% and analytical recovery was 82.28%. The concentrations obtained in the actual samples collected in Cascavel river ranged from 0.70 to 1.06 µg.L<sup>-1</sup>. However, this study has shown this method optimization to determine diclofenac sodium in environmental samples, and recorded the presence of this compound in samples collected in Cascavel river.

**Keywords:** emerging contaminants; environmental samples, liquid chromatography, analytical validation.

## Introdução

Contaminantes emergentes são definidos como compostos de origem natural ou sintética, presentes em produtos consumidos pela população e que chegam aos ecossistemas por meio de efluentes tratados ou não. Embora sejam alvo de estudos recentes, a presença destes compostos no ambiente vem de longa data [1,2]. Além dos estudos que abrangem compostos persistentes no meio ambiente como os pesticidas, destacam-se os compostos farmacológicos, considerados contaminantes emergentes em amostras ambientais [3].

Os fármacos são considerados contaminantes ambientais, pois suas moléculas são biologicamente ativas e grande parte deles apresentam características lipofílicas e baixa biodegradabilidade, ou seja, apresentam elevado potencial para bioacumulação e persistência no ambiente [4]. A inserção destas substâncias no ambiente advém do seu uso no tratamento de doenças em humanos e animais, liberadas pela excreção, a partir do lançamento por efluentes nos corpos hídricos receptores das águas destinadas ao abastecimento [3].

Os agentes anti-inflamatórios não esteroides (AINES) são os agentes terapêuticos mais amplamente utilizados. São frequentemente prescritos para relatos de dores musculoesqueléticas e tomados sem prescrição para dores menores. Como exemplos de fármacos desta classe estão o ácido acetilsalicílico, paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno e cetoprofeno [5].

O diclofenaco sódico é um medicamento anti-inflamatório muito utilizado mundialmente, e nas últimas décadas, vem sendo estudado em diversos tipos de

amostras ambientais, uma vez que sua ocorrência no meio ambiente e possível toxicidade em relação a vários organismos, como peixe e mexilhões, o fazem um contaminante ambiental emergente. A principal remoção do diclofenaco sódico ocorre pelo sistema de tratamento convencional de água - cerca de 30-70%. Contudo, uma vez no ambiente, pode interagir com outros contaminantes inorgânicos, particularmente nas plantas de tratamento de águas residuais, como metais, contaminantes orgânicos e até mesmo com os próprios metabólitos [6].

Estudos mostram que tais compostos podem ser detectados em amostras ambientais a partir da técnica cromatográfica e pode ser utilizada a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Dentre as etapas analíticas, a fase de extração é um ponto relevante. O método de extração em fase sólida (SPE) tem sido amplamente utilizado devido às características favoráveis como baixo consumo de solvente e grande capacidade de concentração do analito de interesse [7,8].

Contudo, o monitoramento destes contaminantes torna-se relevante, uma vez que ainda não fazem parte de legislações referentes ao controle de qualidade das águas. Portanto, o presente estudo busca desenvolver e validar um método para determinar o diclofenaco sódico, bem como a presença do composto em amostras de águas superficial, e assim contribuir com o levantamento de indicadores sobre a qualidade da água destinada ao tratamento para consumo da população da cidade de Cascavel-PR.

## **Material e métodos**

### **Área de estudo**

O Rio Cascavel (24°32'e 25°17'S; 53°05' e ou 53°50'W) está localizado na cidade de Cascavel-PR, possui vazão total de 973 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>, porém, 345 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup> deste total são captados pela Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR) para o abastecimento em cerca de 70% das residências tanto da área urbana quanto rural do município [9].

## Coleta e Preparação das amostras

Foram coletados 2 L de amostra, em um ponto à montante da Estação de Tratamento de Água, localizado na zona sul da cidade, durante os meses de agosto a novembro de 2017. Após a coleta das amostras, ajustou-se o pH das mesmas para 3,0 com adição de HCl 6 mol.L<sup>-1</sup> e realizou-se filtração através de membrana de nitrato de celulose de 0,45 µm (Sartorius Stedim®) em sistema de vácuo para remoção de material particulado em suspensão. As amostras filtradas foram armazenadas em frasco de vidro âmbar e mantidas sob refrigeração (4°C) para posterior análise.

## Extração e quantificação dos analitos

As amostras passaram por um processo de extração em fase sólida utilizando-se cartuchos SPE em polipropileno Chromabond® C18 (6 mL/500 mg) e equipamento Manifold a vácuo. Para o condicionamento dos cartuchos, foram utilizados 5 mL de metanol seguidos de 5 mL de água ultrapurificada. Em seguida, cada amostra foi percolada através dos cartuchos com fluxo ajustado para 6 mL.min<sup>-1</sup>. Após percolar toda a amostra, os cartuchos foram secos em temperatura ambiente por 24 horas. Após a secagem, os analitos foram eluídos com 5 mL de metanol, concentrados em equipamento rotaevaporador e transferidos para frascos vials para posterior análise cromatográfica.

Para a determinação das concentrações de diclofenaco sódico nas amostras de águas, foi desenvolvido um método cromatográfico utilizando soluções padrões conhecidas do composto diclofenaco sódico (Diclofenac sodium salt -USP, PHR1144-1G - Sigma Aldrich®) nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mg.L<sup>-1</sup>. As soluções padrões foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando-se um equipamento da marca Shimadzu® com detector UV-VIS (SPD-20A) e coluna C18 (Akzo Nobel®, Kromasil®, 4,6 mm x 150 mm x 5 µm). Foram testadas cinco condições analíticas, conforme demonstra a Tabela 1.

**Tabela 1** Condições analíticas testadas para o método de determinação de diclofenaco em amostras de águas superficiais.

Parâmetros	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5
<b>Fase móvel</b>	Metanol: Água acidificada 0,1% com ácido fórmico (75:25 v/v)	Metanol: Água acidificada 0,1% com ácido fórmico (75:25 v/v)	Metanol	Água acidificada 0,1% com ácido fórmico	Metanol: Água acidificada 0,1% com ácido fórmico (50:50 v/v)
<b>Temperatura</b>	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C
<b>Fluxo</b>	1 mL.min <sup>-1</sup>	1 mL.min <sup>-1</sup>	1 mL.min <sup>-1</sup>	1 mL.min <sup>-1</sup>	1 mL.min <sup>-1</sup>
<b>Volume de injeção</b>	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL
<b>Comprimento de onda</b>	280 nm	300 nm	280 nm	280 nm	280 nm

Após otimização das condições cromatográficas, foi realizada a validação do método a partir dos parâmetros de linearidade, seletividade, limite de detecção e quantificação, precisão e recuperação, os quais foram encaminhados para os vials para análise de quantificação dos compostos de interesse nas amostras de água coletadas.

## Resultados

### Otimização das condições cromatográficas

As condições cromatográficas que apresentaram os melhores resultados para a quantificação e validação do método de determinação do diclofenaco sódico foram as do método 1: Fase móvel composta de metanol:água acidificada a 0,1% com ácido fórmico (75:25), isocrática, temperatura de acondicionamento de 25 °C, fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup>, volume de injeção 20 µL, com tempo de retenção de 10 minutos.

### Validação do método

Segundo o documento orientativo do Inmetro DOQ-CGCRE nº008/2016 [10] e a Resolução da ANVISA nº 166/2017 [11], com o objetivo de confirmar que os métodos são apropriados para o uso pretendido, deve-se realizar análise de alguns parâmetros,



tais como linearidade, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e tendência/recuperação.

### Linearidade

A avaliação da linearidade do método levou em consideração as regressões lineares quadradas das retas das curvas analíticas em solvente, considerando-se a área dos picos e as respectivas concentrações das soluções padrões de Diclofenaco sódico (0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mg.L<sup>-1</sup>). Com auxílio do software Excel®, a equação de regressão linear encontrada foi  $y = 46524x + 817,13$ , a qual apresentou coeficiente de determinação ( $R^2$ ) igual a 0,9993, e coeficiente de correlação ( $r$ ) de 0,9997 (Fig.1).

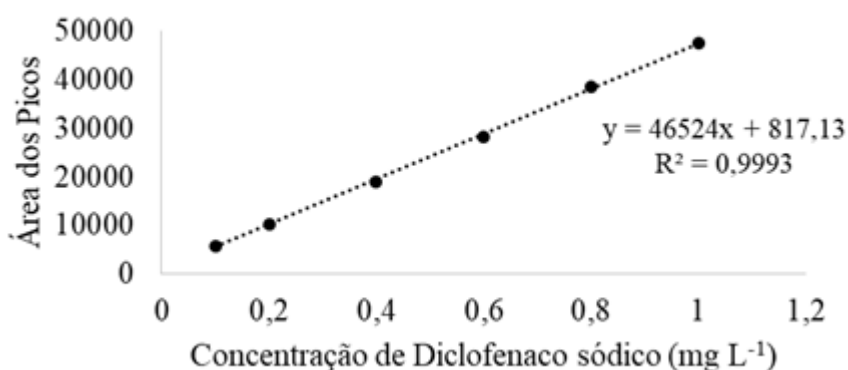
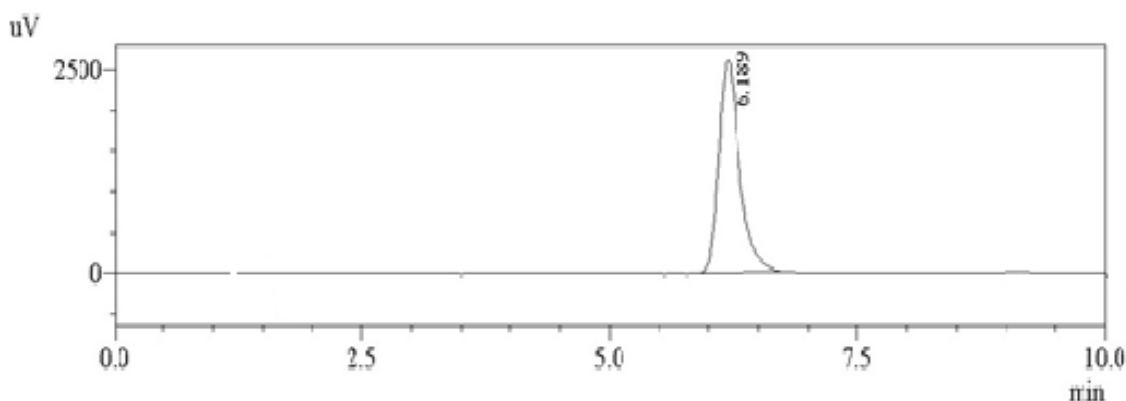


Fig. 1 Curva analítica do composto diclofenaco sódico

### Seletividade

A seletividade foi realizada pela comparação de uma matriz com adição do analito e uma matriz sem a adição do analito em estudo, conforme metodologia determinada. O resultado destas medições foi avaliado considerando-se os tempos característicos de retenção dos picos. Assim, observou-se que não houve sinal analito na matriz sem adição do composto Diclofenaco sódico, uma vez que o composto de interesse do estudo apresenta tempo de retenção de aproximadamente 6,189 minutos (Fig.2).



**Fig. 2** Cromatograma do tempo de retenção do composto diclofenaco sódico

### **Limite de detecção e Limite de Quantificação**

O método visual foi utilizado para o limite de detecção, e testadas concentrações que variaram de 0,001 a 0,05 mg.L<sup>-1</sup>. Em seguida, foram verificadas as respostas da área de pico referente ao Diclofenaco sódico. Observou-se que a menor concentração detectada nas condições do método para o diclofenaco sódico foi 0,04 mg.L<sup>-1</sup>, uma vez que em concentração abaixo dessa não houve resposta do sinal de pico cromatográfico. O primeiro ponto da curva analítica foi considerado para o limite de quantificação, excluindo-se o ponto zero, o qual foi 0,1 mg.L<sup>-1</sup>.

### **Precisão**

A precisão foi determinada com relação à repetibilidade e à precisão intermediária da solução padrão de diclofenaco sódico na concentração de 0,1mg.L<sup>-1</sup>. A repetibilidade foi avaliada pelo mesmo analista e no mesmo dia, e a precisão intermediária foi obtida a partir da análise da solução padrão em dias diferentes e por um analista diferente. No presente estudo, encontrou-se uma variação de 5,03% para a repetibilidade e 5,31% para a precisão intermediária.

### **Recuperação**

O ensaio de recuperação foi realizado pela comparação entre os resultados analíticos da solução padrão de diclofenaco sódico de menor concentração da curva analítica, submetidas ao processo de extração em fase sólida e os resultados obtidos

com as mesmas soluções padrão não extraídas. Foram encontrados 82,28% de recuperação analítica para o composto diclofenaco sódico nas condições do método proposto.

**Tabela 2** Ocorrência do diclofenaco sódico nas amostras de águas superficiais do rio Cascavel.

Coletas	Tempo de retenção médio (min.)	Área Média ( $\mu V$ )	Resultados ( $\mu g.L^{-1}$ )
1	6,23	19.634,5	1,01 $\pm$ 0,025
2	6,18	50.041	1,06 $\pm$ 0,012
3	6,23	33.608	0,70 $\pm$ 0,005

### **Análise das amostras de águas superficiais**

Os resultados encontrados para as amostras analisadas de águas superficiais do Rio Cascavel bem como o tempo de retenção, a área do pico cromatográfico e os dados estatísticos estão apresentados na Tabela 2.

### **Discussão**

#### **Linearidade**

Segundo a Resolução nº 166/2017 [11], a linearidade de um método deve ser demonstrada por sua capacidade em obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra e que o coeficiente de correlação deve estar acima de 0,990 e o coeficiente angular deve ser significativamente diferente de zero. Para a linearidade, os resultados foram considerados satisfatórios, pois atenderam à legislação citada, uma vez que o coeficiente de correlação encontrado foi de 0,999 e o coeficiente angular de 46.524.

#### **Seletividade**

A seletividade é a capacidade que o método tem para medir um composto em presença de outros componentes como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz [10]. Na análise cromatográfica, devem-se tomar as precauções necessárias para que se garanta a pureza dos picos cromatográficos. A seletividade refere-se ao sinal analítico isento de interferências, sua comprovação, conhecendo os componentes da formulação [11]. Para a seletividade, a média do tempo de retenção da amostra com adição da solução padrão de diclofenaco sódico foi de 6,189 minutos e não foi identificado pico cromatográfico na amostra sem a adição do analito, e foi mantida a linha de base. Isto demonstra que nas condições do método proposto, o composto de interesse é identificado em amostra conhecida em seu tempo de retenção característico.

### **Limite de Detecção e Quantificação**

O Limite de Detecção (LD) se aplica quando se realiza alguma medida em amostra com baixo nível do analito ou em análise de traços. É importante para se conhecer qual o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectado pelo método. Existem diversas formas de se calcular o limite de detecção, que é em geral avaliado pela razão sinal/ruído com valor 3 ou testando-se soluções padrões do analito em concentrações menores que o primeiro ponto da curva de calibração, observando-se a primeira concentração a ser detectado (método visual). Já o Limite de Quantificação (LQ) trata normalmente do padrão da curva de calibração de menor concentração, excluindo-se o branco, o qual pode ser calculado também pela razão sinal/ruído com valor 10, e pelo método visual [10,11,12].

Observou-se que a menor concentração detectada nas condições do método para o diclofenaco sódico foi  $0,04 \text{ mg.L}^{-1}$ , uma vez que em concentração inferior à citada não houve resposta do sinal de pico cromatográfico, e considerou-se, para o limite de quantificação, o primeiro ponto da curva analítica, no valor de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ . Os limites de detecção e de quantificação são essenciais para o estabelecimento da capacidade analítica na determinação de traços de substâncias químicas, e que para a validação destes parâmetros certo número de amostras fortificadas com os compostos de interesse deve ser analisado próximo ao nível de concentração

desejado (geralmente próximo ao menor ponto da curva de calibração) em que será possível detectar e/ou quantificar os analitos [13].

### **Precisão**

Os resultados encontrados para o estudo de precisão foram 5,03 e 5,31%, para repetibilidade e precisão intermediária, respectivamente, os quais estão em conformidade com o preconizado pelas legislações citadas, que é de até 20%, e demonstram que a maior variação ocorreu devido à execução da análise por diferentes analistas e em dias diferentes.

### **Recuperação**

Os processos normalmente utilizados para avaliar a tendência de um método são, dentre outros, a partir do uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em comparações interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação. A tendência implica uma combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. A determinação da tendência com relação aos valores de referência apropriados é importante no estabelecimento da rastreabilidade aos padrões reconhecidos [10,11]. Foram encontrados 82,28% de recuperação analítica para o composto diclofenaco sódico. Vale também ressaltar que porcentagens de recuperação do analito próximas a 100% são desejáveis, porém, admitem-se valores menores, assim, o valor obtido neste estudo foi considerado satisfatório.

### **Análise das amostras de águas superficiais**

Em relação aos resultados encontrados para as amostras analisadas, houve uma variação de 0,70 a 1,06  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , com desvio padrão de 0,16, ou seja, houve baixa dispersão dos dados encontrados.

Estudos também relatam a presença de fármacos como contaminantes em amostras de rio, como em estudo realizado na Espanha em 2011 [14] cujo segundo medicamento mais detectado em rio foi o diclofenaco, com concentração mínima de 0,212  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , e também na concentração de 0,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$  em 2013 [15]. No ano de 2016,

análises com resultados de  $0,22 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $0,051 \mu\text{g.L}^{-1}$  foram constatadas [16,17]. Os dados confirmam não somente a ocorrência de fármacos como contaminantes nas águas receptoras urbanas, mas que este fato geralmente acompanha níveis de traço e condições de baixo fluxo. Já em 2017, foi detectado diclofenaco em cursos de água, na bacia Elba na República Tcheca na concentração de  $1,08 \mu\text{g.L}^{-1}$  [18].

O tratamento e a distribuição da água no município estudado são realizados pelo método convencional, o qual abrange as etapas de coagulação, floculação, decantação, filtração, desinfecção e fluoretação. O sistema de tratamento convencional, incluindo as plantas de tratamento de águas residuais, demonstram eficiência de degradação considerada entre moderada e alta de diclofenaco, cuja média varia entre 30 e 70% [6].

A presença destes compostos no ambiente representa uma das problemáticas mundiais quanto ao comprometimento com a qualidade da água e o impacto causador nos ambientes aquáticos. Existem poucos estudos no Brasil que abordam a ocorrência de fármacos no ambiente e seus efeitos, e a maioria deles foi realizado em países desenvolvidos [19].

Melhorias na área de tratamento de águas residuais e a busca por novos métodos para tratamento vêm sendo realizadas, tais como a ozonização e osmose, a fim de se remover os contaminantes orgânicos de forma eficaz [20,21,22].

No entanto, devido ao alto custo, a maioria das estações de tratamento não possuem estes processos em sua rotina, e por consequência, podem ser encontrados os resíduos destas moléculas orgânicas nocivas [23].

## **Conclusões**

O método proposto para determinação de diclofenaco sódico foi validado e atendeu às legislações citadas no trabalho para análises em níveis de traços.

O processo SPE demonstrou-se adequado para o composto em estudo e apresentou taxa de recuperação satisfatória.

A análise, segundo o método proposto, das amostras de águas coletadas no Rio Cascavel demonstrou a presença do composto diclofenaco sódico.

**Agradecimentos**

Ao Laboratório de Engenharia Agrícola da UNIOESTE.

**Conflito de interesse**

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Neste trabalho foram realizados o desenvolvimento e a validação de uma metodologia para quantificar o diclofenaco sódico, considerado como possível contaminante emergente em amostras ambientais.

O método proposto foi satisfatório, passou por estudo de validação, e apresentou-se de acordo com as normativas citadas para fins de validação analítica.

O processo de extração SPE alcançou taxas de recuperação satisfatórias, mostrando-se adequado para a extração do composto em estudo.

A análise das amostras reais mostrou a ocorrência de diclofenaco sódico nas amostras coletadas no ponto de Rio Cascavel. Por conseguinte, estabeleceu a presença deste contaminante na área de estudo proposta, e ressaltou a preocupação em se conhecer os níveis de ocorrência e possíveis efeitos que este composto pode vir a causar para o ambiente e a saúde humana.



## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho busca contribuir com o levantamento de dados indicadores da qualidade da água na cidade de Cascavel-PR, considerando-se o composto farmacológico diclofenaco sódico como um possível contaminante emergente.

Atualmente, fármacos como contaminantes representam um tema em destaque entre as pesquisas devido ao impacto que podem vir a causar ao meio ambiente e à saúde humana, uma vez que são muito utilizados pela população.

Estes compostos também não se encontram estabelecidos como parâmetro a ser monitorado pelas legislações vigentes referentes à qualidade das águas, e não possuem limites estabelecidos para ocorrência no meio ambiente.

Para isto, o conhecimento da ocorrência de outros fármacos da classe estudada e de outras classes farmacológicas utilizadas pela população se faz relevante bem como o estudo dos possíveis efeitos, não apenas no ambiente e seus organismos, mas também na saúde humana.

Assim, os estudos referentes ao tema podem ser prosseguidos com a ampliação de uma gama de compostos e objetivando-se melhorias no nível de detecção e com a utilização de técnicas de detecção mais sensíveis, como a espectrometria de massas.

## 7. ANEXOS

### **ANEXO I - Normas da revista científica: Analytical and Bioanalytical Chemistry – Qualis A2**

Os manuscritos devem ser redigidos em inglês. Somente serão aceitos novos resultados previamente não publicados, dados de forma concisa. Fatos conhecidos só devem ser mencionados brevemente, com citações de literatura apropriadas. Os autores são convidados a enviar cópias de qualquer documento relacionado atualmente em consideração por outro jornal.

O manuscrito deve ser acompanhado de uma carta de apresentação. A Carta de apresentação deve ter de 400 a 600 palavras e conter os seguintes itens:

- Importância do trabalho
- Novidade do trabalho
- Contribuição para o campo

Com a submissão, os autores são encorajados a sugerir potenciais revisores pelo seu trabalho.

#### Submissão de manuscrito

A apresentação de um manuscrito implica: que o trabalho descrito não tenha sido publicado anteriormente; que não está em consideração para publicação em qualquer outro lugar; que a sua publicação tenha sido aprovada por todos os co-autores, se for o caso, bem como pelas autoridades responsáveis - tacitamente ou explicitamente - no instituto onde o trabalho foi realizado. A editora não será legalmente responsável se houver qualquer pedido de indenização.

#### Folha de rosto

A página de título deve incluir:

O (s) nome (s) do (s) autor (es)

Um título conciso e informativo

A (s) afiliação (s) e endereço (s) do (s) autor (es)

O endereço de e-mail e o (s) número (s) de telefone do autor correspondente

Se disponível, a ORCID de 16 dígitos do (s) autor (es)

### Abstract

Forneça um resumo de 150 a 250 palavras. O resumo não deve conter nenhuma abreviatura indefinida ou referências não especificadas.

### Palavras-chave

Forneça 4 a 6 palavras-chave que possam ser usadas para fins de indexação.

### Texto

Formatação de texto

Manuscritos devem ser enviados no Word.

O texto de um trabalho de pesquisa deve ser dividido em Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos, Conflitos de Interesse e Referências.

Materiais e Métodos devem incluir declaração dos Direitos Humanos e dos Animais.

Use uma fonte normal e simples (por exemplo, Times Roman de 10 pontos) para texto.

Use itálico para dar ênfase.

Use a função de numeração automática de páginas para numerar as páginas.

Não use funções de campo.

Use paradas de tabulação ou outros comandos para recuo, não a barra de espaço.

Use a função de tabela, não planilhas, para fazer tabelas.

Use o editor de equações ou MathType para equações.

Salve seu arquivo no formato docx (Word 2007 ou superior) ou no formato do documento (versões anteriores do Word).

Cabeçalhos: Não use mais do que três níveis de títulos exibidos.

Abreviaturas: As abreviaturas devem ser definidas na primeira menção e usadas de forma consistente depois disso.

Notas de rodapé: As notas de rodapé podem ser usadas para fornecer informações adicionais, que podem incluir a citação de uma referência incluída na lista de referência. Eles não devem consistir apenas em uma citação de referência, e eles

nunca devem incluir os detalhes bibliográficos de uma referência. Eles também não devem conter figuras ou tabelas.

As notas de rodapé para o texto são numeradas consecutivamente; aqueles para tabelas devem ser indicados por letras minúsculas de inscrição (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos). Notas de rodapé para o título ou os autores do artigo não são dados símbolos de referência.

Use sempre notas de rodapé em vez de notas finais.

#### Agradecimentos e Informações de Financiamento

Reconhecimentos de pessoas, bolsas, fundos, etc. devem ser colocados em uma seção separada na página de título. O nome das organizações de financiamento deve ser escrito na íntegra. Além disso, forneça as informações de financiamento em uma etapa separada do processo de submissão no sistema de revisão pelos pares.

#### Estilo científico

Use sempre sinais e símbolos internacionalmente aceitos para unidades (unidades SI).

Nomenclatura: na medida do possível, os autores devem utilizar nomes sistemáticos semelhantes aos utilizados pelo Chemical Abstract Service ou pela IUPAC.

Os nomes de gênero e espécie devem estar em itálico.

Os nomes genéricos de drogas e pesticidas são preferidos; Se os nomes comerciais forem usados, o nome genérico deve ser dado na primeira menção.

Use a notação matemática padrão para fórmulas, símbolos, etc.:

Itálico para letras únicas que denotam constantes matemáticas, variáveis e quantidades desconhecidas

Romano / vertical para números, operadores e pontuação, e funções ou abreviaturas comumente definidas, por exemplo, cos, det, e ou exp, lim, log, max, min, sin, tan, d (para derivada)

Negrito para vetores, tensores e matrizes

#### Referências

Citação: As citações de referência no texto devem ser identificadas por números entre colchetes. Alguns exemplos:

1. A pesquisa de negociação abrange muitas disciplinas [3].
2. Este resultado foi posteriormente contraditado por Becker e Seligman [5].
3. Este efeito foi amplamente estudado [1-3, 7].

Lista de referência: A lista de referências deve incluir apenas obras citadas no texto e que foram publicadas ou aceitas para publicação. Comunicações pessoais e trabalhos não publicados devem ser mencionados apenas no texto. Não use notas de rodapé ou notas finais como um substituto de uma lista de referência.

As entradas na lista devem ser numeradas consecutivamente.

Exemplos:

Artigo de jornal: Smith JJ. O mundo das ciências. Am J Sci. 1999; 36: 234-5.

Artigo por DOI: Slifka MK, Whitton JL. Implicações clínicas da produção de citocinas desreguladas. J Mol Med. 2000; <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

Livro: Blenkinsopp A, Paxton P. Sintomas na farmácia: um guia para o tratamento de doenças comuns. 3ª ed. Oxford: Blackwell Science; 1998.

Capítulo de livro: Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. A morte celular: o significado da apoptose. Em: Bourne GH, Danielli JF, Jeon KW, editores. Revisão internacional de citologia. Londres: Acadêmico; 1980. pp. 251-306.

Documento em linha: Doe J. Título do documento subordinado. Em: O dicionário de substâncias e seus efeitos. Royal Society of Chemistry. 1999. <http://www.rsc.org/dose/title of subordinate document>. Acessado em 15 de janeiro de 1999.

Use sempre a abreviatura padrão do nome de um periódico de acordo com a Lista ISSN das abreviaturas de palavras de título. Se você não tiver certeza, use o título completo do periódico.

### Tabelas

Todas as tabelas devem ser numeradas usando algarismos arábicos.

As tabelas devem sempre ser citadas no texto em ordem numérica consecutiva.

Para cada tabela, forneça uma legenda de tabela (título) explicando os componentes da tabela.

Identifique qualquer material publicado anteriormente, fornecendo a fonte original sob a forma de uma referência no final da legenda da tabela.

As notas de rodapé para as tabelas devem ser indicadas por letras minúsculas do sobrescrito (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos) e incluídas abaixo do corpo da tabela.

#### Rotulação de figuras

Para adicionar letras, é melhor usar Helvetica ou Arial (fontes sem serif).

Mantenha as letras consistentemente dimensionadas ao longo de suas obras de arte de tamanho final, geralmente cerca de 2-3 mm (8-12 pt).

A variância do tamanho do tipo dentro de uma ilustração deve ser mínima, por exemplo, não use o tipo 8-pt em um eixo e o tipo de 20 pts para a etiqueta do eixo.

Evite efeitos como o sombreamento, cartas de contorno, etc.

Não inclua títulos ou legendas dentro de suas ilustrações.

#### Numeração de figura

Todas as figuras devem ser numeradas usando algarismos arábicos.

Os números devem sempre ser citados no texto em ordem numérica consecutiva.

As partes da figura devem ser denotadas por letras minúsculas (a, b, c, etc.).

Se um apêndice aparecer no seu artigo e contiver um ou mais números, continue a numeração consecutiva do texto principal. Não numerar os números do apêndice, "A1, A2, A3, etc." Os números nos apêndices on-line (Material Suplementar Eletrônico) devem, contudo, ser numerados separadamente.

#### Legendas da figura

Cada figura deve ter uma legenda concisa descrevendo com precisão o que a figura retrata. Inclua as legendas no arquivo de texto do manuscrito, não no arquivo figurativo.

As legendas das figuras começam com o termo Fig. Em negrito, seguido do número da figura, também em negrito.

Nenhuma pontuação deve ser incluída após o número, nem qualquer pontuação a ser colocada no final da legenda.

Identifique todos os elementos encontrados na figura na legenda da figura; e use caixas, círculos, etc., como pontos de coordenadas em gráficos.

Identifique material previamente publicado fornecendo a fonte original sob a forma de uma citação de referência no final da legenda da figura.

Colocação da figura e tamanho: Os números devem ser apresentados separadamente do texto, se possível.

Ao preparar suas figuras, figuras de tamanho para caber na largura da coluna.

Para a maioria dos periódicos, as figuras devem ter 39 mm, 84 mm, 129 mm ou 174 mm de largura e não superior a 234 mm.

Para livros e revistas de tamanho de livro, os números devem ter 80 mm ou 122 mm de largura e não maiores que 198 mm.

### Permissões

Se você incluir figuras que já foram publicadas em outro lugar, você deve obter permissão do proprietário dos direitos autorais para o formato impresso e on-line. Lembre-se de que alguns editores não concedem direitos eletrônicos de graça e que a Springer não poderá reembolsar os custos que possam ter ocorrido para receber essas permissões. Nesses casos, o material de outras fontes deve ser usado.

### Divulgação de potenciais conflitos de interesse

Pesquisa envolvendo participantes humanos e / ou animais

Consentimento informado: Por favor, note que os padrões podem variar ligeiramente por diário dependente de suas políticas de revisão pelos pares (ou seja, revisão de pares simples ou dupla cegos), bem como por disciplina de assunto de jornal. Antes de enviar seu artigo, verifique as instruções seguindo esta seção com atenção.

O autor correspondente deve estar preparado para coletar documentação de conformidade com padrões éticos e enviar, se solicitado durante a revisão pelos pares ou após a publicação.

Os Editores reservam-se o direito de rejeitar manuscritos que não cumprem as diretrizes acima mencionadas. O autor será responsável por falsas declarações ou por não cumprir as diretrizes acima mencionadas.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### 8.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

ALMEIDA, G.A.; WEBER, R.R. Fármacos na represa Billings. **Revista Saúde e Ambiente**, São Paulo, v. 6, n.2, p. 7-13, 2005.

AMÉRICO, J.H.P.; ISIQUE, W.D.; MINILLO, A.; CARVALHO, S.L.; TORRES, N.H. Fármacos em uma estação de tratamento de esgoto na região centro-oeste do Brasil e os riscos aos recursos hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, Porto Alegre, v.17, n.3, p.61-67, 2012.

AMÉRICO, J.H.P.; TORRES, N.H.; AMÉRICO, G.H.P.; CARVALHO, S.L. Ocorrência, destino e potenciais impactos dos fármacos no ambiente. SaBios: **Revista Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v.8, n.2, p.59-72, 2013.

ANVISA. Resolução nº 166, de 24 de julho de 2017. **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**.

AQUINO, C.A.N.; BUENO, N.C.; MENEZES, V.C. **Desmidioflórula (Zygnemaphyceae, Desmidiales) do Rio Cascavel, Oeste do estado do Paraná, Brasil**. Hoehnea, São Paulo, v.41, n.3, Jul./Set. 2014.

ARAÚJO, K.; NEVES, M. SÁ. M.; SILVA, L.; BRITO, N. **Fármacos residuais: um problema de caráter ambiental**. V Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica Maceió, Alagoas, 2010.

BARREIRO, E.J.; PINTO, A.C. Oportunidades e desafios para a inovação em fármacos: agora ou nunca!. **Revista Virtual de Química**, n.5, p.1059, 2013.

BAKER, D.R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, n.1218, p.8036-8059, 2011.

BÉCKER, R.W. **Determinação de anti-inflamatórios em efluente urbano na região de Porto Alegre-RS por SPE, Derivatização e CG-MS**. 2012. 184f. Tese (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BENOTTI, M.J.; TRENHOLM, R.A.; VANDERFORD, B.J.; HOLADY, J.C.; STANFORD, B.D.; SNYDER, S.A. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. **Environmental Science & Technology**, v.43, p.597-603, 2008.

BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, São Paulo,



v.26, n.4, p.523-530, 2003.

BISCEGLIA, K.J. Quantification of drugs of abuse in municipal wastewater via SPE and direct injection liquid chromatography mass spectrometry. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n. 6, p. 2701-2712, 2010.

BRASIL. **MINISTÉRIO DA SAÚDE**. Portaria nº 2914, 12 de dezembro de 2011.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. **Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica**. 11ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006.

CARMONA, E.; ANDREU, V.; PICÓ, Y. Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water. **Science of the Total Environment**, v.484, p.53-63, 2014.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA. **Resolução nº 430**, de 13 de maio de 2011.

COSTA, A.S; COSTA, M.S. **Poluentes farmacêuticos: a poluição silenciosa**. Jornal eletrônico: Faculdades Integradas Vianna Júnior, v.1, 2011.

COSTA JUNIOR, I.L.; PLETSCH, A.L.; TORRES, Y.R. Ocorrência de Fármacos Antidepressivos no Meio Ambiente. **Revista Virtual de Química**. v.6, n.5, Set/Out., 2014.

DAI, G.; WANG, B.; HUANG, J.; DONG, R.; DENG, S.; YU, G. Occurrence and source apportionment of pharmaceuticals and personal care products in the Beiyun River of Beijing, China. **Chemosphere**, v.119, p.1033–1039, 2015.

DANG, H.Q.; NGHIEM, L.D.; PRICE, W.E.; Factors governing the rejection of trace organic contaminants by nanofiltration and reverse osmosis membranes. **Desalination and Water Treatment**, v. 52, p.4-6, 2014.

ELLIS, J.B. Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving Waters. **Environmental Pollution**, v.144, p.184-189, 2016.

FILIPPE, T.C.; BREHM, F.A.; MIZUKAWA, A.; AZEVEDO, J.C.R Contaminantes emergentes no rio Barigui – Curitiba (PR). **10º Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental: Regulação ambiental, desenvolvimento e inovação**. Porto Alegre, out. 2016.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic

environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v.131, p.5–17, 2002a.

HEBERER, T. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. **Journal of Hydrology**, v.266, p. 175-189, 2002b.

HERNANDO, M.D.; MEZCUA, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.; BARCELÓ, D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. **Talanta**, v.69, p.334–342, 2006.

IBÁÑEZ, M.; GRACIA-LOR, E.; BIJLSMA, L.; MORALES, E.; PASTOR, L.; HERNÁNDEZ, F. Removal of emerging contaminants in sewage water subjected to advanced oxidation with ozone. **Journal of Hazardous Materials**, v.260, p. 389-398, 2013.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE-008 – **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Revisão 04 – agosto/2016.

JIN, L.L.; MING, H.W. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs): A review on environmental contamination in China. **Environment International**, v.59, p.208, 2013.

KUSTER, M.; LÓPEZ DE ALDA, M.J; BARCELÓ, D. Estrogens and Progestogens in Waste Water, Sludge, Sediments and Soil. **The Handbook of Environmental Chemistry: Water Pollution: Emerging Organic Pollution in Waste Waters and Sludge**, Springer-verlag Heidelberg, Berlín, Alemanha, v. 50, p.1-24, 2005.

LANÇAS, F.M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente "compatíveis"? **Scientia Chromatographica**, v.1, n.2, 2009.

LATORRE, C.H.; GARCÍA, J.B.; MARTÍN, S.G.; CRECENTE, R.M.P. Solid phase extraction for the speciation and preconcentration of inorganic selenium in water samples: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 804, p. 37-49, 2013.

LETZEL, M.; METZNER, G.; LETZEL, T. Exposure assessment of the pharmaceutical diclofenac based on long-term measurements of the aquatic input. **Environment International**, v.35, p.363–368, 2009.

LINDQVIST, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. **Water Res.**, v.39, p. 2219–2228, 2005.

LONAPPAN, L.; BRAR, S.K.; DAS, R.K.; VERMA, M.; SURAMPALLI, R.Y. Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. **Environment International**, v. 96, p.127–138, 2016.

LOPES, V.S.A.; RIENTE, R.R.; SILVA, A.A.; TORQUILHO, D.F.; CARREIRA, R.S.; MARQUES, M.R.C. Development of a solid-phase extraction system modified for

preconcentration of emerging contaminants in large sample volumes from rivers of the lagoon system in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v.110, p.572–577,2016.

LOPEZ-SERNA, R.; JURADO, A.; VAZQUEZ-SUNE, E.; CARRERA, J.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain. **Environmental Pollution**, v.174, p.305–315, 2013.

METCALFE, C.D.; MIAO, X.-S.; KOENIG, B.G.; STRUGER, J. Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower great lakes, Canada. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, p.2881–2889, 2003.

PEDROUZO M.; BORRUL F.; POCURULL E.; MARCE M. R.; Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal de Separation Science**, v. 34, p.1091–1101, 2011.

PETRIELLO, M.C.;NEWSOME,B.J.DZIUBLA,T.D.;HILT,J.Z.;BHATTACHARYYA,D.;HENNING,B.M odulation of persistent organic pollutant toxicity through nutritional intervention: Emerging opportunities in biomedicine and environmental remediation. **Science of the Total Environment**, 2014, v.491-492, p.11–16.

PISARENKO, A.N.; STANFORD, B.D.; YAN, D.; GERRITY, D.; SNYDER, S.A.; Effects of ozone and ozone/peroxide on trace organic contaminants and NDMA in drinking water and water reuse applications. **Water Research**, v. 46,p. 316 -326, 2012.

RANG,H.P;DALE,M.M;RITTER,J.M. **Farmacologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,2001.

RIBANI, M. BOTTOLI, C.B.G.;COLLINS,C.H.;JARDIM, I.C.S.F.;MELO,L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforeticos. **Química Nova**, v.27,n.5, p.771-780, 2004.

RODRIGUES, K.L.T.**Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação simultânea de microcontaminantes emergentes em águas superficiais por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas e Pós-graduação em Recursos Hídricos. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Ouro Preto-MG.

SANEPAR. **Companhia de Saneamento do Paraná**. <http://site.sanepar.com.br/noticias/estacao-de-tratamento-de-agua-de-cascavel-completa-40-anos>>Acesso em 11 de set. 2017.

SANTOS, L.H.M.L.M.; GROS, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; DELERUE-MATOS, C.; PENA, A.;BARCELÓ, D.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M.; Contribution of hospital

effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. **Science of the Total Environment**, v.461,p. 302–316, 2013.

SHEN, J.; HUANG, J.; RUAN, H.; WANG, J.; VAN DER BRUGGEN, B.; Techno-economic analysis of resource recovery of glyphosate liquor by membrane technology. **Desalination**, 2014, 342:118–125.

SIRTORI, C. **Evaluación analítica de procesos de transformación biológica, fotoquímica y fotocatalítica de fármacos en agua**. 2010. 304 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química Analítica, Departamento de Hidrogeología y Química Analítica, Universidad de Almería, Almería, 2010.

SOUSA, M. V.N.; VASCONCELOS, T.A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**, v. 28, p. 678, 2005.

SOUZA, C.P.F.A.; FALQUETO, E. Descarte de Medicamentos no Meio Ambiente no Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.96, n.2, p.1142–1158, 2015.

SMITH, R. M. **Journal of Chromatography**. v. 1000. n. 1-2, p. 3-27, 2003.

TORRES, N.H.; AMÉRICO, J.H.P.; FERREIRA, L.F.R.F.; NAZATO, C. MARANHO, L.A.; VILCA, F.Z.V.; TORNISIELO, V.L. Fármacos no ambiente-revisão. **Revista de Estudos ambientais**, v.14, n.4, p.67-75, 2012.

VALDÉS, M.E.; AMÉ, M.V.; BISTONI, M.D.I.A.; WUNDERLIN, D.A. Occurrence and bioaccumulation of pharmaceuticals in a fish species inhabiting the Suquía River basin (Córdoba, Argentina). **Science of the Total Environment**, v.472, p.389–396, 2014.

WEIGEL, S.; KUHLMANN, J.; HÜHNERFUSS, H. Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. **Science of the Total Environment**, v.295, p.131–141, 2002.

YU Y.; WU L.; Comparison of four extraction methods for the analysis of pharmaceuticals in wastewater. **Journal of Chromatography**, v.1218, p. 2483-2489, 2011.

## 8.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO CAPÍTULO I

1. SOUSA, M. V.N.; VASCONCELOS, T.A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. *Química Nova*. 2005; 28: 678.

2. BARREIRO, E.J.; PINTO, A.C. Oportunidades e desafios para a inovação em fármacos: agora ou nunca!. *Revista Virtual de Química*. 2013; 5: 1059.

3. AMÉRICO, J.H.P.; TORRES, N.H.; AMÉRICO, G.H.P.; CARVALHO, S.L. Ocorrência, destino e potenciais impactos dos fármacos no ambiente. *SaBios: Revista Saúde e Biologia*. 2013; 8: 59-72.

4. AMÉRICO, J.H.P.; ISIQUE, W.D.; MINILLO, A.; CARVALHO, S.L.; TORRES, N.H. Fármacos em uma estação de tratamento de esgoto na região centro-oeste do Brasil e os riscos aos recursos hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**. 2012; 17:61-67.

5. RANG, H.P; DALE, M.M; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

6. LONAPPAN, L.; BRAR, S.K.; DAS, R.K.; VERMA, M.; SURAMPALLI, R.Y. Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. **Environment International**. 2016; 96: 127–138.

7. SOUZA, C.P.F.A.; FALQUETO, E. Descarte de Medicamentos no Meio Ambiente no Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**. 2015; 96: 1142–1158.

8. BISCEGLIA, K.J. Quantification of drugs of abuse in municipal wastewater via SPE and direct injection liquid chromatography mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 2010; 398: 2701-2712.

9. AQUINO, C. A. N.; BUENO, N.C.; MENEZES, V.C. Desmidioflórula (Zygnemaphyceae, Desmidiales) do Rio Cascavel, Oeste do estado do Paraná, Brasil. *Hoehnea*. 2014; 41.

10. INMETRO. **Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia**. DOQ-CGCRE-008 – Orientação sobre validação de métodos analíticos. Revisão 04 – agosto/2016.

11. ANVISA. Resolução nº 166, de 24 de julho de 2017. **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**.

12. RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforeticos. **Química Nova**. 2004; 27: 771-780.

13. IMOTO, M.N.; FREITAS, R.J.S. Determinação dos limites de detecção e quantificação em análise de resíduos de pesticidas organohalogenados por cromatografia em fase gasosa. Pesticidas: **Revista Ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba .2008; 18: 35-44.

14. VALCÁRCEL, Y.; GONZÁLEZ; ALONSO, S.; RODRÍGUEZ-GIL, J.L.; ROMO MAROTO, R.; GIL, A.; CATALÁ, M. Analysis of the presence of cardiovascular and

analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking-water of the Madrid Region in Spain. **Chemosphere**. 2011; 82: 1062-1071.

15. IBÁÑEZ, M.; GRACIA-LOR, E.; BIJLSMA, L.; MORALES, E.; PASTOR, L.; HERNÁNDEZ, F. Removal of emerging contaminants in sewage water subjected to advanced oxidation with ozone. **Journal of Hazardous Materials**. 2013; 260: 389–398.

16. LOPES, V.S.A. RIENTE, R.R.; SILVA, A.A.; TORQUILHO, D.F.; CARREIRA, R.S.; MARQUES, M.R.C. Development of a solid-phase extraction system modified for preconcentration of emerging contaminants in large sample volumes from rivers of the lagoon system in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. 2016; 110: 572–577.

17. ELLIS, J. B. Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving Waters. **Environmental Pollution**. 2016; 144: 184-189.

18. MARSIK, P.; REZEK, J.; ZIDKOV, M.; KRAMULOVA, B.; TAUCHEN, J.; VANEK, T. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the watercourses of Elbe basin in Czech Republic. **Chemosphere**. 2017; 171: 97-105.

19. TORRES, N.H.; AMÉRICO, J.H.P.; FERREIRA, L.F.R.F.; NAZATO, C. MARANHO, L.A; VILCA, F.Z.V.; TORNISIELO, V.L. Fármacos no ambiente-revisão. **Revista de Estudos ambientais**. 2012; 14: 67-75.

20. PISARENKO, A.N.; STANFORD, B.D.; YAN, D.; GERRITY, D.; SNYDER, S.A.; Effects of ozone and ozone/peroxide on trace organic contaminants and NDMA in drinking water and water reuse applications. **Water Research**. 2012; 46: 316-326.

21. SHEN, J.; HUANG, J.; RUAN, H.; WANG, J.; VAN DER BRUGGEN, B. Techno-economic analysis of resource recovery of glyphosate liquor by membrane technology. **Desalination and Water Treatment**. 2014; 342:118–125.

22. DANG, H.Q.; NGHIEM, L.D.; PRICE, W.E.; Factors governing the rejection of trace organic contaminants by nanofiltration and reverse osmosis membranes. **Desalination and Water Treatment**. 2014; 52:4-6.

23. PEDROUZO M.; BORRUL F.; POCURULL E.; MARCE M. R. Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal de Separation Science**. 2011; 34:1091–1101.