



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ENGENHARIA CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

MONITORAMENTO DO DICLOFENACO E DE INDICADORES DA QUALIDADE
DA ÁGUA NA ZONA RURAL DE ILHA SOLTEIRA-SP

INGRID CAMARGO DOS REIS

ILHA SOLTEIRA – SP

Outubro/2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**MONITORAMENTO DO DICLOFENADO E DE INDICADORES DA
QUALIDADE DA ÁGUA NA ZONA RURAL DE ILHA SOLTEIRA-SP**

INGRID CAMARGO DOS REIS

Trabalho de conclusão de curso
apresentada à Faculdade de Engenharia –
UNESP – Campus de Ilha Solteira, para
obtenção do título de graduação em Ciência
Biológicas.

Prof. Dr. Maurício Augusto Leite
Orientador

Prof. Dr. William Deodato Isique
Coorientador

ILHA SOLTEIRA-SP

Outubro/2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais
e minhas irmãs por serem meu
alicerce nessa vitória.

AGRADECIMENTOS

Meus mais sinceros agradecimentos...

A Deus, por permitir essa conquista em minha vida.

Aos meus pais e minhas irmãs que são meu alicerce, presentes mesmo que longe me trazendo força e incentivo.

Ao professor Maurício Augusto Leite, pela orientação e paciência.

Minha gratidão e admiração ao professor William Deodato Isique, pela forma como me recebeu e compartilhou seu conhecimento comigo, ajudando-me a construir esse trabalho, sempre ouvindo as minhas ideias e me motivando.

As minhas amigas de graduação, Julia e Mariane que estiveram ao meu lado durante esses 5 anos, sempre me dando força e alegrando os meus dias se tornando uma família para mim.

As minhas amigas Ana Luísa e Maria Laura, que foram um verdadeiro presente na minha vida nesse último ano de graduação e vão sempre ter um lugar no meu coração.

RESUMO

A água é um elemento indispensável para a sobrevivência de qualquer ser vivo na terra, por isso é de extrema importância saber sua qualidade, principalmente em áreas onde não há saneamento básico. Essa situação é ainda mais preocupante em áreas rurais que utilizam águas de lagoas para dessedentação de animais e irrigação, prejudicando a saúde dos mesmos e podendo difundir a contaminação presente nessas lagoas. Devido à falta de informação sobre a qualidade da água. Na área rural do Município de Ilha Solteira, é preciso chamar a atenção para a contaminação de resíduos farmacológicos do diclofenaco que, devido ao aumento do consumo desse composto indiscriminadamente pela população, pode haver contaminação da água. Além disso, há inúmeros estudos na literatura sobre os impactos que resíduos do diclofenaco podem causar no ambiente e na fauna, afetando toda a cadeia trófica. Devido aos diversos uso da água presente em algumas lagoas na zona rural de Ilha Solteira, sem o conhecimento devido de suas características, a presente proposta busca determinar essas informações para garantir da qualidade da água para a população. O objetivo do trabalho foi realizar a quantificação de indicadores de qualidade da água e a presença do diclofenaco na água de área rural de Ilha Solteira. Para tanto, foram realizadas coletas em seis pontos, sendo três deles no assentamento Estrela da Ilha; dois no Cinturão Verde e um no Bairro do Ipê e depois utilizado o método de microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). Os resultados evidenciaram a contaminação por diclofenaco em todos os meses coletados, mas principalmente nas coletas realizadas em novembro onde foi possível detectar sua presença em todos os pontos de coleta, podendo estar relacionado ao aumento da precipitação e o escoando desses resíduos até as lagoas. Além disso, variáveis como pH e condutividade mostraram estar correlacionado com a detecção do diclofenaco nas lagoas coletadas.

Palavras chaves: Saneamento, contaminação e assentamento.

ABSTRACT

Water is an indispensable element for any living being on Earth and that is why it is so important to know about water quality specially on areas where there is no basic water treatment. This situation is even more concerning on rural areas where untreated water is being collected from lagoons and used for animal feeding and field irrigation which naturally ends up in increasing disease contamination and spreading risks. Due to the lack of available information about water quality in Ilha Solteira we must draw attention to the contamination risk that comes from diclofenaco's pharmacological waste and because there isn't an effective water treatment in place the chances of contaminated water being used by general population are bigger in this case. Several international studies have been made about the environment and fauna impacts caused by Diclofenaco's waste which might eventually affect all types of living organisms in the food chain. Due to the different types of water usage currently present in some lagoons around the rural area of Ilha Solteira and because the consumer don't actually know it's characteristics the present proposal seeks to improve and contribute with additional information about the water quality being used by general population. The purpose of this work is to make the quantification of water quality indicators and the presence of diclofenaco in rural area of Ilha Solteira. In order to achieve that several collections were carried out in six locations being three in the Estrela da Ilha settlement, two in the Cinturão Verde settlements and one of them in Bairro do Ipê. Those samples were tested by using the dispersive liquid-liquid microextraction method (DLLME). The results shows the contamination by diclofenaco in all samples collected during the research months and those contaminations are even more evident in the last ones where was possible to detect its presence in all the collection points. This could be related to precipitation increase and therefore drainage of these residues to the lagoons. In addition, variables such as pH and conductivity showed to be correlated with the detection of diclofenaco in the collected samples.

Key words: Sanitation, contamination and rural settlement.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Coordenadas geográfica dos pontos amostrados.....	25
Tabela 2. Gradientes de eluição para o fármaco e para cafeína.....	33
Tabela 3. Média e desvio padrão do diclofenaco presente nos pontos de coleta.....	53
Tabela 4 Teores de cafeína presentes nas amostras coletadas para os pontos de coleta P3 e P6.....	38
Tabela 5. Série temporal do diclofenaco.....	39
Tabela 6. Valores do pH em todos os pontos e datas de coleta.....	44
Tabela 8. Determinação da condutividade elétrica em todos pontos e em todas as datas.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Demonstração das rotas de contaminação dos recursos hídricos.....	17
Figura 2. Fórmula estrutural do diclofenaco.....	21
Figura 3. Demonstração do município de Ilha Solteira dentro do estado de São Paulo.....	24
Figura 4. Regiões em Ilha Solteira onde foram realizadas as coletas das amostras.....	26
Figura 5. Pontos de coletas das águas estudadas no município de Ilha Solteira.....	27
Figura 6. Imagem da Estação de Tratamento de Ilha Solteira.....	27
Figura 7. Método para coletar as amostras de água.....	28
Figura 8. Amostras armazenadas em frasco do tipo âmbar.....	29
Figura 9. (a) e (b) demonstram os tubos de ensaios utilizados para a extração das amostras de fármacos utilizando o método DLLME.....	31
Figura 10. Cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado nas análises de fármacos.....	32
Figura 11. Curva analítica do diclofenaco nas concentrações 15,6; 31,3; 65,6; 125 e 250 $\mu\text{g L}^{-1}$	34
Figura 12. Curva analítica do cafeína nas concentrações 6,5; 12,5; 25,5; 50 e 100 mg L^{-1}	34
Figura 13. Perfil cromatográfico e espectrofotométrico do diclofenaco.....	37
Figura 14. Perfil cromatográfico e espectrofotométrico.....	37
Figura 15. Ponto 1.....	37
Figura 16. Ponto 2.....	38
Figura 17. Ponto 3.....	38

Figura 18. Ponto 4.....	39
Figura 19. Ponto 5.....	40
Figura 20. Ponto 6.....	40
Figura 21. Volume da precipitação durante os meses de coleta.....	42
Figura 22. Gráficos box-plot demonstrando a presença do diclofenaco nos pontos de coleta de água superficiais no município de Ilha Solteira-SP. Pontos 1,2 e 4 (Assentamento Estrela da Ilha, P3 (Bairro do Ipê) e P5 e P6 (Cinturão verde).....	42
Figura 23. Correlação entre o diclofenaco e o pH nas datas coletadas.....	48
Figura 24. Gráfico de escores e “loadings” (carga) para as amostras com as variáveis diclofenaco e condutividade elétrica.....	51
Figura 25. Correlação entre condutividade elétrica e diclofenaco para os diferentes pontos de coleta (P1, P2, P3, P4, P5 e P6).....	54

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVO	16
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Parâmetros Indicadores da Qualidade da água.....	19
3.2	pH.....	19
3.3	Condutividade Elétrica	20
3.4	A origem dos fármacos e sua ocorrência em água	20
3.5	O diclofenaco	21
3.6	Utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para identificação do diclofenaco	23
3.7	Impactos causados pela presença do diclofenaco no ambiente.....	23
4.	MATERIAIS E MÉTODO	25
4.1	Área de estudo:.....	25
4.2	Realização das coletas	29
4.3	Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).....	30
4.4	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	32
4.5	Uso eluição gradiente	33
4.6	Curvas analíticas	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1	Caracterização dos pontos de coleta.....	38
5.2	Resultados das análises com cafeína	42
5.3	Volume da precipitação durante os meses de coleta.	43
5.4	Resultados das análises de diclofenaco nos diferentes pontos de coleta....	44
5.5	Determinação de pH e condutividade elétrica nas amostras	49
5.5.1	Dados do pH	49

	5.5.3	Condutividade elétrica.....	52
	5.5.4	Correlação entre concentração do diclofenaco e a condutividade elétrica .	52
6		CONCLUSÃO	57
7		APÊNDICE	58
8		REFERÊNCIAS	60

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma grande quantidade de água doce presente no seu território, porém pode ser considerada escassa para o consumo humano. Pois, para chegar ao consumidor, pode ocorrer inúmeras formas de contaminação como: presença de patógenos; protozoários; substâncias tóxicas e metais pesados, tornando-se um incômodo para a sociedade (RIBEIRO, 2013; SANTOS, 2017).

Outro problema presente em várias regiões no nosso país é a ausência de saneamento básico que é previsto na Lei nº. 11.445/2007 que garante à população água encanada, coleta e tratamento de esgoto. No entanto, a maioria da população rural não pode contar com esse tal benefício e para solucionar os problemas com o abastecimento, muitas vezes recorrem às águas de procedência duvidosa, podendo ser mais suscetível à contaminação.

Nesse caso, a maioria da população que não dispõe do saneamento básico recorrem à perfuração de poços, mas por falta de recursos, fazem isso clandestinamente sem nenhum conhecimento sobre a qualidade da água naquele local (FIALHO, 2016).

Desse modo, esse desconhecimento pode trazer graves riscos à saúde humana e de animais, já que principalmente a população rural acredita que as águas retiradas de poços são de boa qualidade por sua coloração e odor estarem em boas condições (FIALHO, 2016), porém não sabem da existência de contaminantes que podem estar presentes no solo, ou até mesmo na água subterrânea, causados por compostos lançados em águas superficiais.

No Brasil existe o Índice de Qualidade das Águas (IQA) que em 1975 passou a ser utilizado para estabelecer padrões de qualidade das águas superficiais para diversos fins, incluindo parâmetros como pH e condutividade elétrica que podem evidenciar a qualidade duvidosa da água (FIALHO, 2016).

Embora o trabalho não tenha enfoque em águas para consumo humano, as lagoas determinadas para coleta podem ser utilizadas para dessedentação de animais e irrigação, que mesmo assim não deve haver contaminação que

possa prejudicar a saúde desses animais ou difundir a contaminação através da irrigação.

Embora a resolução do CONAMA 357/2005 não estabeleça um limite para a condutividade elétrica da qualidade da água para essas funções, foi encontrado na literatura que a condutividade elétrica poder ser de até 250 $\mu\text{S cm}^2$ a 25 °C para a irrigação, e, para dessedentação animal deve ser de até 500 $\mu\text{S cm}^2$ a 25 °C. Um aumento na condutividade pode gerar uma diminuição no consumo de água, pelos animais, gerando alterações na alimentação nos organismos fazendo com que eles bebem menos água e também uma possível diarreia. (NETO; ARAÚJO e TÁVORA, 2016)

Alguns compostos que causam a contaminação de águas superficiais são resíduos de fármacos bastante utilizados pela população. Esse tipo de contaminação começou a ser estudado na década de 70 e continua chamando a atenção de pesquisadores, pois é de extrema importância ter conhecimento sobre esses tipos de contaminantes no meio aquático para que possam ser inseridos nas futuras legislações que regulamentam a qualidade da água (HERNÁNDEZ et al., 2007).

A contaminação de resíduos de fármacos se dá pelo consumo elevado desses medicamentos que com a sua fórmula ainda ativa são liberados na água através das excretas. Também pode ocorrer através de descarte inapropriado após o vencimento dos fármacos e pelo tratamento ineficiente das águas (BILA; DEZOTTI, 2003).

Outra via de contaminação significativa é a eliminação de resíduos de antibióticos, hormônios e anti-inflamatórios usados na medicina veterinária por meio dos dejetos dos animais e a utilização do esterco como fertilizante, contribuindo para contaminar águas superficiais e subterrâneas, além do solo (FLAHERTY; DODSON, 2005).

Para a escolha do diclofenaco levou-se em consideração a não necessidade de receita médica e o preço acessível. Além disso, segundo Geller (2012) o diclofenaco é o 8º medicamento mais prescrito no mundo por possuir funções como analgésico, anti-inflamatório, também apresenta propriedades antipiréticas e em cuidados paliativos sendo utilizado em todo o mundo (NAMBIRAJAN et al., 2017).

Devido ao seu alto consumo pode causar efeitos ambientais como: Toxicidade aquática, desenvolvimento de resistência em bactérias patogênicas e desregulação endócrina de humanos e outros animais (TAMBOSI, 2008) e problemas na cadeia trófica (NAMBIJARAN et al., 2017).

2. OBJETIVO

Diagnosticar a presença do diclofenaco e quantificar os parâmetros de pH e condutividade elétrica, que são parâmetros de qualidade da água, na zona rural de Ilha Solteira.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os fármacos são considerados contaminantes por serem moléculas biologicamente ativas e possuírem índices baixos de biodegradação, gerando um acúmulo e persistência deles no ambiente Américo, (2010), entretanto essa persistência vai depender de fatores como temperatura, umidade e atividades microbiana (Loke et al., 2000).

O ápice desse problema é o aumento do consumo dos fármacos, ocorrendo assim sua dispersão no ambiente. Por isso, pesquisadores estão chamando atenção para a presença desses resíduos em pesquisas no ambiente aquático Bila; Dezotti, (2003).

Um estudo realizado por Mulroy, (2001) ficou definido que até 90% de uma dosagem de um fármaco pode ser excretada inalterada Américo, (2010).

A contaminação no solo pode ocorrer por continuar com as suas fórmulas ainda ativa mesmo depois da sua eliminação por fezes e por urina, e ao serem levadas pelos cursos d'água, contaminam solos, águas superficiais e subterrâneas Bila; Dezotti, (2003).

Apesar das concentrações serem encontradas baixas, na medida de $\mu\text{g L}^{-1}$, podem intervir na fisiologia, no metabolismo e no comportamento das espécies (BELISÁRIO et al., 2009).

Silva; Silva, (2012) relata que os compostos atuam diretamente na inibição nas enzimas ciclooxigenase (COX 1 e 2), bloqueando a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas que possuem funções importantes funções no nosso organismo como: reprodução, regulação osmótica e transporte de água.

Bila; Dezotti, (2003) descreve que as contaminações podem ser divididas em três problemas ambientais:

(1) A própria contaminação da água sendo ela um bem utilizado por todos os organismos vivos.

(2) A alteração na biologia de seres presente no nosso planeta, como por exemplo, a feminização de peixes que eram machos que passam a ser fêmeas

devido a presença de hormônios como estrogênio nas águas Remédios, (2014), além do desenvolvimento de resistências de microrganismos que sofrem alterações no seu material genético, adquirindo resistência aos fármacos.

(3) Problemas referentes aos humanos que utilizam a água para consumo, pois os níveis de antidepressivos presentes na água são capazes de até modificar o metabolismo de alguns hormônios que fazem sinapses incluindo a dopamina e a serotonina.

Esses problemas podem ter como origem as possíveis rotas de contaminação por: humanos (população), via veterinária, industrial e agricultura, como demonstrado na Figura 1.

Figura 1: Demonstração das rotas de contaminação dos recursos hídricos



Fonte: Fármacos no meio ambiente, (Bila et al.,2003). (Adaptado pelo autor)

Como relatado anteriormente os humanos fazem um consumo alto de medicamentos que não conseguem ser totalmente metabolizados e são liberados ao ambiente via fezes e urinas, sendo transportados pelos rios para as

Estações de Tratamento (ETE) onde serão realizados processos para transformar essa água em água potável Bila; Dezotti, (2003).

Da mesma forma ocorre com medicamentos que são de uso veterinário, no qual são utilizados em bovinos e são liberados nos dejetos sobre o solo fazendo com que seus resíduos cheguem às águas subterrâneas, sendo transportados para lagoas, rios até as Estações de tratamento Bila; Dezotti, (2003).

Segundo Américo, 2010 calcula-se que até 80% dos medicamentos de uso veterinários são lançadas no ambiente.

3.1 Parâmetros Indicadores da Qualidade da água

Os índices de qualidade das águas surgiram em 1970 nos Estados Unidos da América, sendo depois utilizado na maioria dos estados brasileiros. Esses índices têm por finalidade avaliar a qualidade da água bruta para averiguar qualquer tipo de contaminação por esgotos domésticos (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2018).

Os parâmetros estipulados podem variar de acordo com a finalidade da água. Portanto, devido o presente trabalho não ser voltado para água do consumo humano, optou-se somente por averiguar dois parâmetros como o pH e a condutividade elétrica, nas águas da área rural de Ilha Solteira.

3.2 pH

De acordo com (VON SPERLING, 1995) o pH é responsável por medir a concentração de íons de hidrogênio H^+ e OH^- para identificar o meio ácido, neutro ou alcalino.

O pH pode ser alterado por fatores antropogênicos como despejo de lançamento de efluentes domésticos ou por motivos naturais como: dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica. Fialho, (2016).

Exemplo disso seria as águas naturais que podem ter o seu pH aumentado ou diminuído pelas características do solo e fotossíntese Libânio, (2005).

Segundo O Ministério da Saúde, 2011, o pH da água deve estar na faixa de até 7,0 para dessedentação de animais e 6,0 a 9,5 para o consumo humano. (BRASIL, 2011).

3.3 Condutividade Elétrica

Fialho, (2016) descreve a condutividade elétrica (CE) como capacidade que a água tem de transmitir corrente elétrica, sendo que essa capacidade está relacionada com a concentração iônica.

Ela pode ser uma boa indicadora de alteração na composição química da água, quando ocorre uma alteração entre o solo e a água, a condutividade tende a aumentar Libânio, (2005); Fialho, (2016) CETESB, (2013).

A CE pode ser alterada de acordo com períodos chuvosos que por consequência aumenta o fato de diluição dos íons. (Esteves, 2011; Piroto et al 2017).

A condutividade é representada segundo o Sistema Internacional em unidades: miliSiemens por cm^2 (mS/cm^2) ou microSiemens por cm^2 (uS/cm^2). Villas; Banderl, (2018).

De acordo com estudos citados por Villas; Banderl, (2018) que demonstraram valor entre $10 \text{ uS}/\text{cm}^2$ a $30 \text{ uS}/\text{cm}^2$ na Floresta Amazônica mostrando ser águas com baixa condutividade, diferentemente de rios do Nordeste e Sul do Brasil atingiram valores de $400 \text{ uS}/\text{cm}^2$.

3.4 A origem dos fármacos e sua ocorrência em água

Os fármacos são compostos químicos que foram desenvolvidos inicialmente para melhorar dor e inflamação, e começou a ser descoberto em 1839 com o isolamento da salicilina, mas devido a diversos efeitos colaterais foi preciso sintetizar novas substâncias (Monteiro et al, S.N.T).

A partir disso, criou-se um longo caminho até chegar na produção de fármacos com maior eficiência e menos efeitos indesejáveis, principalmente gastrointestinal chegando assim nos anti-inflamatórios atuais que são chamados de AINEs (Monteiro et al, S.N.T).

Os AINEs são descritos como grupo de compostos que possuem um ou mais anéis aromáticos ligados a um grupo funcional e que atuam em tecidos inflamados.

A primeira publicação sobre a ocorrência de fármacos no ambiente aconteceu nos Estados Unidos em 1976 por Keith, (1981) onde acabou iniciando o surgimento de novas técnicas analíticas para detectar a presença dos fármacos (Fent et al., 2006).

Posteriormente, foram surgindo outros exemplos, como: encontrado concentrações de compostos como diclofenaco, ibuprofeno e resíduos de fenazona em efluentes de ETE na Alemanha Ternes, (1998).

Pesquisas realizadas no Rio Tiber comparando com a ETE que lança seus efluentes nele revelou que o rio apresenta concentrações de ácido acetilsalicílico, diclofenaco, ibuprofeno e naproxeno maiores do que o efluente da ETE (Marchese et al, 2003).

No Brasil, ainda há poucas informações sobre resíduos de anti-inflamatórios no ambiente, porém já registrado o diclofenaco no Rio de Janeiro e também no reservatório Billings, no estado de São Paulo (AMERICO, 2010).

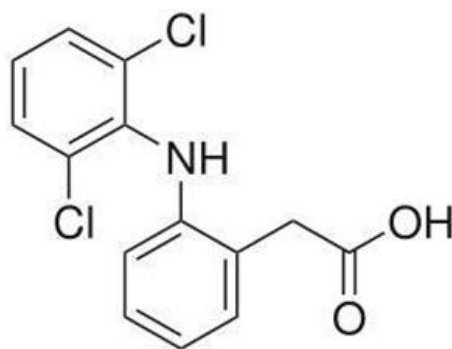
3.5 O diclofenaco

O diclofenaco ($C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$) conhecido como diclofenaco sódico é um fármaco não esteroide, amplamente comercializado, utilizado para alívio de inflamação e dores Anjos, (2017).

Possui um período de tempo curto após ingerido (aproximadamente 2 horas), porém 65 % da dose ingerida é excretada pela urina ou na forma inalterada de metabólitos conhecido como: 3 hidroxi-diclofenaco; 4-5-

diidroxicloro-diclofenaco (ZHANG et al., 2008). Na Figura 2, segue a fórmula estrutural do diclofenaco

Figura 2: Fórmula estrutural do diclofenaco.



Fonte: Wikipédia

De acordo com (Vieno et al., 2007; Zhang et al., 2008) o mesmo apresenta massa molar de 318 g mol^{-1} e possui $\text{pH} \leq 4,0$ considerado ácido fraco, sendo mais solúvel na faixa de $\text{pH } 7,0$.

Devida a falta de pesquisa sobre a toxicidade do diclofenaco, o nível tóxico da mistura de fármacos pode ser imprevisível, gerando um desconhecimento sobre a toxicidade desses compostos à saúde humana, tendo como consequência a não existência de regulamentação para o controle desses resíduos, Anjos, (2017).

De acordo com a Anvisa seu mecanismo de ação inibe a síntese de prostaglandina que são responsáveis por desempenhar o papel de dor e da febre.

Entretanto, o seu enorme consumo, mais a sua ótima solubilidade e incompleta remoção do esgoto gera uma grande contaminação no ambiente aquático (BUSER et al., 1998).

3.6 Utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para identificação do diclofenaco

Para a identificação do diclofenaco foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC que é uma das técnicas mais utilizadas na análise de separação, por utilizar métodos com alta seletividade e sensibilidade de micropoluentes (Anjos, 2010).

No início de 1940 pesquisadores sugeriram que quando utilizada altas pressões com partículas pequenas, a separação era melhorada, dando-se a origem da técnica HPLC (SCOTT, 1998) citado por (Anjos, 2010).

A potencialização de uma separação de misturas de compostos químicos por cromatografia líquida, realizadas através de alterações nos parâmetros cromatográficos que são o fator de retenção (k), fator de separação (α) e em últimos dos casos pode-se alterar o número de pratos teóricos (n) que corresponde ao equilíbrio do soluto entre duas fases.

A eluição gradiente é utilizada na separação cromatográfica com a função de aumentar a força da fase móvel, principalmente quando dois solutos possuem variedade de fatores de retenção (k) (Cass; Degani, 2001).

3.7 Impactos causados pela presença do diclofenaco no ambiente

Estudos de monitoramento de fármacos no ambiente são de extrema importância para destacar os principais impactos causados por esse tipo de contaminação, pois os fármacos podem causar efeitos colaterais em humanos, animais e também no ambiente (Fent et al., 2006).

Os efeitos causados pelo consumo dos fármacos desordenado podem ser organizados desde uma célula até populações e ecossistemas inteiros, Américo, (2010).

Um estudo realizado por (Haap; Triebkorn; Kohler, 2008) em cultura de *Daphnia magna* verificou-se efeitos tóxicos de diclofenaco em intervalo de concentração de 1 a 80 mg L⁻¹, mas que podem ser influenciados pela espécie testada, tempo de exposição e efeito analisado.

De acordo com (Petrovic et al., 2005) esses compostos podem prejudicar a fisiologia, o metabolismo e o comportamento das espécies, além de impedir a defesa do sistema imunológico dos organismos ficando mais propícios a parasitas e doenças.

Foi desenvolvida uma pesquisa na Alemanha com truta marrom que foram expostas a concentrações de diclofenaco e foram observadas alterações no fígado e nas brânquias desses animais, (Hoeger et al. 2005)

Estudos sobre efeitos tóxicos em relação aos resíduos demonstraram que pode haver a inibição do crescimento de algas e mortalidade de embriões de peixes que foram expostos a diferentes concentrações de diclofenaco (Ferrari et al., 2003)

Pode haver alterações na capacidade de regulação osmótica em caranguejos nas concentrações entre 10 a 100 ng L⁻¹, aumento da degradação oxidativa dos lipídios de uma espécie de mexilhões na concentração de 1 µg L⁻¹ e quando expostos por 90 minutos a uma concentração de 0,03 µ L⁻¹, a mesma degradação lipídica ocorre em embriões de peixe (*Danio rerio*) (Eades, Waring, 2011; Quinn et al., 2011; Valcárcel, Catalá 2012).

Pensando nisso, surge uma preocupação gradativa em relação a saúde humana, pois pode ocorrer acúmulo desses compostos no organismo desses animais aquáticos expandindo uma contaminação de forma indireta para os humanos através da alimentação (Ghiselli, 2006).

Além disso, tem-se a preocupação com os impactos que ocorrem no organismo humano devido ao consumo desenfreado do diclofenaco.

Existem alguns tipos de câncer ligados à exposição inadequada e/ou prolongada por diversos resíduos farmacológicos. Isso porque há um aumento da proliferação celular em consequência da indução de estrogênios, aumentando assim a probabilidade de ocorrer mutações durante a síntese de DNA, (Bila, Dezotti, 2007).

Dias, 2014 retrata que “o diclofenaco já causou o desaparecimento de 99% dos abutres no sul da Ásia”, devido ele ser extremamente tóxico e causar falência renal dessas aves.

Um exemplo citado por (Nambijaran et al., 2017) seria as várias espécies de abutres que estão indo a óbito por insuficiência renal devido a intoxicação com diclofenaco na Índia, por se alimentarem de carcaças contaminadas com esses compostos, causando um grande problema na cadeia trófica, pois esses animais são responsáveis na limpeza do ambiente para que não haja acúmulo de carcaças no habitat e também a propagação de doenças.

Esse problema está espalhando-se pela Europa e causando mortes de pelo menos 4 espécies de abutres gerando assim uma queda na importante função sanitária nos ecossistemas, Dias (2014).

O resultado dessa situação seria o grande volume liberado de efluentes domésticos sem tratamento proveniente da urbanização do seu entorno (Almeida; Weber, 2005).

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Área de estudo:

O estudo foi realizado no município de Ilha Solteira que está localizado no noroeste do Estado de São Paulo coordenadas geográficas 20° 25' 24,4" de Latitude Sul e 51° 21' 13,1" de Longitude Oeste, possuindo 26.540 habitantes presente numa área da unidade territorial de 652,641 km² e fazendo divisa com o estado do Mato Grosso do Sul, (Instituto brasileiro de geografia e estatística- IBGE, 2017). Na Figura 3, pode-se observar a localização do município de Ilha Solteira dentro do estado do São Paulo.

Figura 3. Demonstração do município de Ilha Solteira dentro do estado de São Paulo.



Fonte: UNESP: Câmpus de Ilha Solteira – Faculdade de Engenharia

O clima no município é definido como tropical úmido com a presença de estação chuvosa no verão e seca no inverno, sendo que no ano de 2017 apresentou uma temperatura média de 24,5°C e a precipitação anual foi de 1.232 mm (Pinholi et al., 2017).

As coletas foram realizadas nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro de 2017, assim conseguindo coletar tanto na estação seca quanto na chuvosa.

Foram realizadas amostragens da água superficial em seis pontos no município de Ilha Solteira, sendo três no Assentamento Estrela da Ilha, dois no Cinturão Verde e um no Bairro do Ipê, Figura 4.

Segundo (Rosato et al., 2019) o Cinturão verde é composto por pequenas propriedades em uma área total de 661,39 ha, onde muitas delas vivem de produção agropecuária.

O assentamento Estrela da Ilha é o mais próximo da área urbana, 6 km, e foi criado em 2005. Existem 206 famílias que estão distribuídas em 180 lotes com áreas de 14 ha e 26 lotes de 5 há, (Balcao et al., 2009)

O bairro do Ipê está localizado na área periférica urbana no limite do município no perímetro rural e é composto por chácaras (Lima; Silva; Altimare, 2004).

Figura 4: Regiões em Ilha Solteira onde foram realizadas as coletas das amostras.



Fonte: Google Earth (Adaptada pelo autor)

Tabela 1: Coordenadas geográficas dos pontos amostrados, dentre as áreas de coleta no município de Ilha Solteira-SP.

Pontos de Coleta	Latitude (S)	Longitude (O)	Área
P1	20°26'24,12"	51°19'23.26"	A. Estrela da Ilha
P2	20°26'43.85"	51°19'17.50"	A. Estrela da Ilha
P3	20°26'.55.9"	51°20'06.8"	Bairro do Ipê
P4	20°25'31.83"	51°18'04.51"	A. Estrela da Ilha
P5	20°24'40.63"	51°31'23.73"	Cinturão Verde
P6	20°24'34.12"	51°22'13.06"	Cinturão Verde

Fonte: Google Earth.

Figura 5: Pontos de coletas dentro das águas estudadas no município de Ilha Solteira.



Fonte: Google Earth (Adaptada pelo autor)

A ETE fica localizado próximo ao ponto 6 (Porto), com coordenadas $20^{\circ}25'12.51''\text{S}$ e $52^{\circ}21'32.16''\text{O}$, e acordo com (ANJOS 2017), o esgoto doméstico é trado na ETE que contém duas lagoas com 458 m de comprimento, 105 m de largura e 1,50 m de profundidade, sendo que essas lagoas recebem uma vazão de $147,50\text{ L s}^{-1}$ com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 18,5 dias.

Figura 6: Imagem da Estação de Tratamento de Ilha Solteira.



Fonte: Google Earth. (Adaptada pelo autor)

4.2 Realização das coletas

As amostras foram coletadas utilizando um balde previamente ambientado com a própria amostra a ser coletada e uma corda, Figura 7; exceto para o ponto (6) onde a coleta foi direta sem a utilização do balde e da corda.

Figura 7. Método para coletar as amostras de água.



(a) Coleta realizada no ponto 3.



(b) Balde preso à uma corda utilizada para as coletas.

Fonte: Imagem por Leite, (2017).

Depois de coletado 1L de água de cada ponto, foram transferidas para frascos do tipo âmbar, Figura 8, devidamente lavados com água e detergente neutro, etiquetados e posteriormente mantidas em uma caixa isotérmicas até o transporte para o Laboratório de Saneamento da FEIS-Unesp.

Figura 8: Amostras armazenadas em frasco do tipo âmbar



Fonte: Própria autora.

No laboratório inicialmente foram mensurados os parâmetros de pH e condutividade elétrica e depois as amostras foram acidificadas com 1,0 mL de ácido sulfúrico. Essa acidificação foi feita para permitir a ionização (íon H^+) de todos os compostos presentes, bem como também preservar as amostras de qualquer tipo de contaminação. (kasper et al., 2014).

Após a primeira coleta de amostras realizada no período de agosto, decidiu-se por uma análise cromatográfica qualitativa de cafeína, com objetivo de se confirmar a presença ou não da mesma, para confirmar ou descartar qualquer tipo de contaminação antrópica nos referidos pontos de coleta. Com exceção do ponto 6, onde não foi realizada essa análise por estar estaria próximo da saída do efluente proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) de Ilha Solteira-SP.

4.3 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

A parte mais crítica de um processo analítico, seria a preparação das amostras, pois qualquer erro impede a obtenção de resultados adequados. Para evitar qualquer tipo de problema é importante seguir métodos proposto na literatura, por exemplo a Microextração líquido-líquido dispersiva (Anjos, 2010).

A técnica utilizada escolhida apresenta vantagens como: 1) simplicidade de operação, 2) baixo custo, 3) rapidez e 4) alta eficiência de extração (Martins et al., 2012).

O processo de DLLME foi realizado de acordo com o método proposto por (Martins et al.,2012) seguindo diferentes etapas na preparação das amostras:

Para a preparação das amostras:

1) Em tubos de ensaio do tipo cônico etiquetados de 1 a 6 contendo 25,0 mg de NaCl, foram adicionados 5,0 mL de amostra de água provenientes dos pontos de coleta para averiguação de cafeína e fármacos, Figura 9a;

2) Os tubos foram submetidos a agitação por vortex durante 3 minutos para a diluição do NaCl;

3) Posteriormente foram adicionados aos tubos 500 μ l de acetonitrila agindo como agente dispersor; e 500 μ l de n-hexano atuando como agente extrator para extração dos fármacos;

4) Novamente os tubos foram submetidos ao vortex por 3 minutos;

5) A seguir, foi realizada a centrifugação dos tubos cônicos por 3,0 minutos, a 3.500.g RPM.

6) Com o auxílio de uma micro-seringa de 100 μ l foram transferidos a fração orgânica contendo os fármacos para tubos de ensaio devidamente etiquetados, Figura 9b;

7) Os tubos com as amostras foram transferidos para secagem (50 °C) em bloco digestor por até 15 minutos e depois;

8) Após a secagem ressuspendidas em 300 μ l de metanol;

9) Por fim, foi realizada a presença de fármacos em cromatografia líquida de alta eficiência com a injeção (25,0 μ l) no cromatógrafo líquido.

Para as análises de cafeína foram realizadas utilizando o mesmo método de DLLME descrito anteriormente para fármacos nesse mesmo item, sendo que as fases dispersoras e extratoras foram substituídas por acetona e diclorometano, respectivamente. As injeções cromatográficas foram as mesmas como descritas anteriormente para os fármacos.

As Figuras 9 (a) e (b) demonstram os tubos de ensaios utilizados para a extração das amostras de fármacos utilizando o método DLLME.



Figura 9 a. Tubos de ensaio tipo cônico acrescidos de NaCl (25 mg).



Figura 9 b. Tubos de ensaio contendo a fração orgânica final das amostras de coleta dos pontos

1 a 6

Fonte: Própria autora

4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Para a identificação do diclofenaco foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC Shimadzu), munido de duas bombas LC-20AT e LC-20AD; CBM-20A (Prominence Communications Bus Module; Injetor Rheodyne (Rohnert Park, CA, USA) equipado com válvula do tipo loop de 20 µL. Detector SPD-M20A (Prominence Diode Array Detector), utilizando comprimentos de onda de 220, 240, 260, 280 e 310 nm e empregando software LCsolution (AMERICO, 2010) ACOPLADO COM UMA COLUNA: Column Zorbax ODS C18 (150 mm x 4.6 mm ID, partículas de 5,0 µm, Figura 10).

Figura 10. Cromatógrafo líquido de alta eficiência utilizado nas análises de fármacos.



Fonte: Própria autora.

As detecções dos picos cromatográficos foram utilizadas os comprimentos de onda em 220, 260 e 280 nm e todas as amostras foram efetuadas em duplicata objetivando a confirmação de atividade antropogênica nos pontos de coleta, principalmente no ponto (3) referente a lagoa do Bairro do Ipê foi realizado a análise para cafeína, já que o mesmo é considerado como sendo um biomarcador e indicativo da presença do homem (Senta et al.,2015).

A fase líquida do cromatógrafo para eluição dos compostos em análise, foi constituída de fase A composta por metanol e a fase B composto por água contendo 0,1% de ácido de ácido trifluoracético (TFA). Essas fases foram suficientes para que ocorresse a separação de todos os picos cromatográficos no mínimo de tempo da análise (Silva; Collins, 2011).

4.5 Uso eluição gradiente

Para a análise do diclofenaco foi feita a eluição com os gradientes demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2. Gradientes de eluição para o fármaco e para cafeína.

Gradiente	Cafeína	Diclofenaco
-----------	---------	-------------

	Tempo (min.)	Fase móvel	Tempo (min.)	Fase móvel
MeOH	0,01	10	0,01	10
H ₂ O Milli-Q	0,01	90	0,01	90
MeOH	8	90	10	10
H ₂ O Milli-Q	8	10	10	90
MeOH	9	90	11	80
H ₂ O Milli-Q	9	10	11	20
MeOH	10	10	17	95
H ₂ O Milli-Q	10	90	17	5
MeOH	11	Finalização	20	95
H ₂ O Milli-Q			20	5
MeOH			21	80
H ₂ O Milli-Q			21	20
MeOH			22	10
H ₂ O Milli-Q			22	90
			28	Finalização

H₂O Milli-Q acidificada com ácido trifluoracético (0,01 % v/v), MeOH: Metanol.

Fonte: Própria autora.

O método para elaborar as curvas analíticas foram através da junção entre os Limites de detecção (LD) e os limites de quantificação (LQ) em ($\mu\text{g mL}^{-1}$) (Américo,2010).

4.6 Curvas analíticas

As curvas analíticas do fármaco e da cafeína foram realizadas através de uma solução contendo $250 \mu\text{g L}^{-1}$, e partir a desta foi diluída na proporção de 1:1 obtendo-se as concentrações desejadas de 125, 65,5, 31,3 e $15,6 \mu\text{g L}^{-1}$. A curva analítica de cafeína foi efetuada através de uma solução contendo 100 mg L^{-1} , e partir desta foi diluída na proporção de 1:1 obtendo-se as concentrações desejadas de 50, 25, 12,5 e $6,5 \text{ mg L}^{-1}$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como forma de avaliação dos resultados fez-se necessário a construção das curvas analíticas para a cafeína, Figura 11, e para o diclofenaco, Figura 12, cujas as regressões serão utilizadas para estimar a concentração desses componentes nas amostras.

Figura 11 . Curva analítica do diclofenaco nas concentrações de 15,6; 31,3; 65,5; 125 e 250 $\mu\text{g L}^{-1}$.

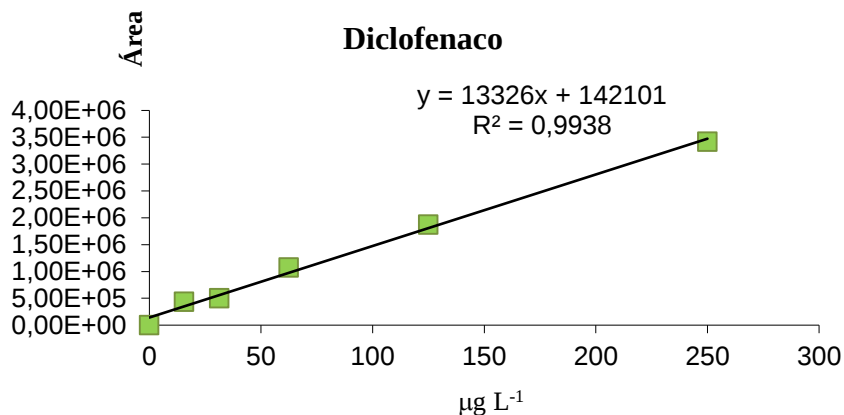
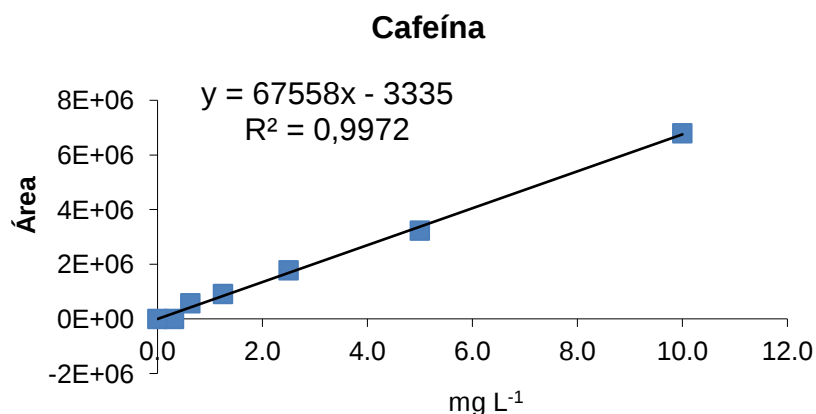


Figura 12. Curva analítica de cafeína com concentrações de 6,5; 12,5; 25; 50 e 100 mg L^{-1} .



Fonte: Própria autor

Para elaborar o limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) é preciso levar em consideração os parâmetros da curva analítica para apresentar maior confiabilidade estatística, pois a mesma deve acrescentar o intervalo de confiança de regressão (Ribeiro; Ferreira, 2007).

Com isso, o LD é definido como a concentração mínima de uma substância que pode ser detectada pela técnica utilizada e o LQ sendo a mais baixa concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão em procedimento (Ribeiro; Ferreira, 2007).

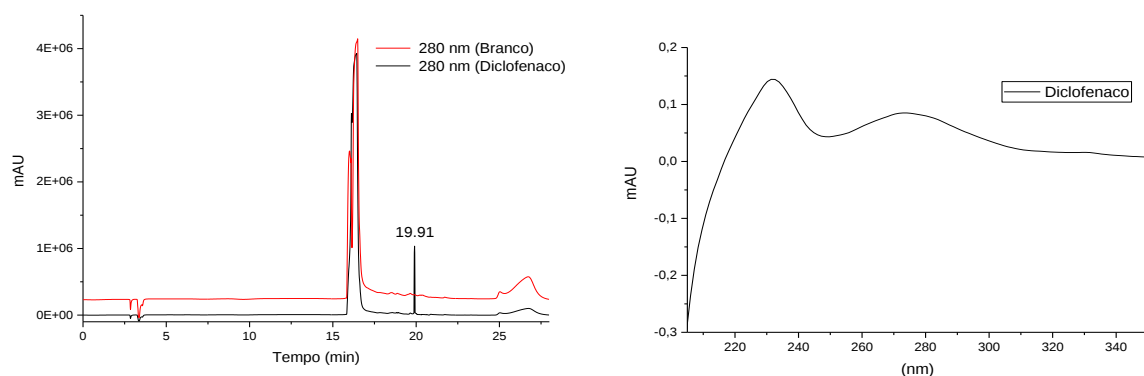
Segundo (Ribani et al., 2004) o LD é determinado a partir de equações lineares e calculado entre o desvio padrão do coeficiente linear e o coeficiente angular da reta multiplicado pela altura do ruído da linha de base sendo 3,3 (SODRÉ et al., 2007), enquanto o LQ deve ser calculado pela relação entre a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e a inclinação da curva analítica multiplicado por 100 na proporção de 100:1.

Com isso, o limite de detecção (LD) e o limite de detecção (LQ) do diclofenaco foram respectivamente 0,023 e 0,069 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Os perfis cromatográficos constituem os resultados da análise cromatográfica, cujo pode-se fazer a identificação e a quantificação dos picos cromatográficos (fármacos, cafeína e outros compostos orgânicos ou não) os quais estão presentes nas amostras. A confirmação dos compostos orgânicos além do seu T_r , embora diferentes compostos podem apresentar o mesmo T_r e, somente podem ser confirmados através dos seus perfis espectrofotométrico, como por exemplo o do diclofenaco, Figura 13.

Segue abaixo o perfil cromatográfico, Figura 13, e espectrofotométricos referente ao diclofenaco, sendo que seu fator de retenção (T_r) foi 19,91.

Figura 13. Perfil cromatográfico e espectrofotométrico do diclofenaco.



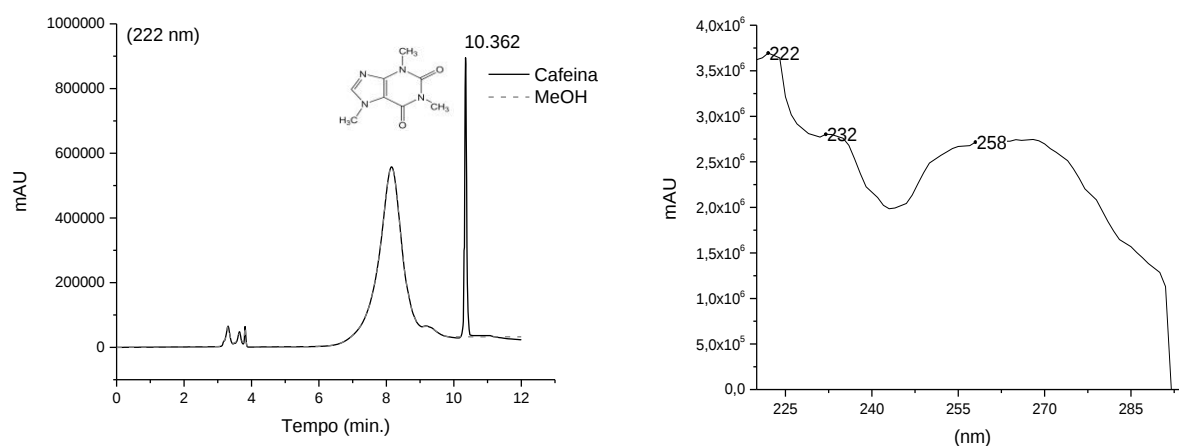
a) Perfil cromatográfico

b) Perfil espectrofotométrico

Fonte: Próprio autor.

O perfil cromatográfico e espectrofotométrico para a cafeína realizado através da cromatografia qualitativa em amostras de água do Porto (P6) encontra-se na (Figuras 14), respectivamente.

Figura 14. (a) Perfil cromatográfico e (b) espectrofotométrico de cafeína.



Fonte: Próprio autor

Na Tabela 3 demonstrada no apêndice encontram-se os dados referentes aos teores de diclofenaco em $\mu\text{g L}^{-1}$. Já na tabela 4 também

encontrada no apêndice podemos obter o desvio padrão dos mesmos entre os pontos de coletas.

5.1 Caracterização dos pontos de coleta

Todos os pontos demonstrados eram próximos a pastagens, indicando a presença de gado, dessa forma, poderia haver alguma contaminação do diclofenaco pelo seu uso veterinário (Bila; Dezotti, 2003).

O ponto 1, foi o que apresentou uma maior dificuldade de acesso para realizar análise da água, Figura 15, devido as condições irregulares do seu relevo, vegetação alta e pouca vazão. Diferentemente do ponto 2, Figuras 16a e 16b, que apresentava relevo regular que facilitava o acesso ao local de coleta, com vegetação rasteira.

Figura 15. Ponto 1, Assentamento Estrela da Ilha.



Fonte: Próprio autor.

Figura 16 . Ponto 2, Assentamento Estrela da Ilha

16 a)



16 b)



Fonte: Próprio autor.

O ponto 3, Figuras 17a e 17b, no qual, localizava-se no Bairro do Ipê, possuía a presença da pecuária extensiva, e também significativa urbanização próximo as suas margens, isto seria indicativo da contaminação através do lançamento de esgoto involuntário, principalmente através de fossa séptica não esgotada ou até mesmo por falta de manutenção. Essa hipótese de contaminação pode ser confirmada pela presença de cafeína nesse ponto, por ser um grande indicador da presença de esgoto lançado em água.

Figura 17. Ponte 3. Bairro do Ipê.

17a



17b

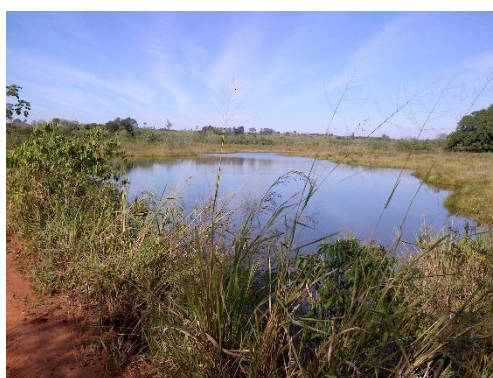


Fonte: Próprio autor.

Já para o ponto 4, também foi preciso utilizar o balde e uma corda para ter acesso a represa devido à dificuldade do terreno. Um detalhe importante a ressaltar seria a formação de mini represa, Figura 18a e 18b, nos meses em que a precipitação de chuva era maior, isso provavelmente possibilitou que o gado adentrasse nessa pequena lagoa, podendo de certa forma ter um maior grau de contaminação através das suas excretas.

Figura 18. Ponto (4). Assentamento Estrela da Ilha.

18 a)



18 b)



Fonte: Próprio autor.

O ponto 5, Figuras 19a, 19b e 19c, localiza -se dentro de uma propriedade com atividade agropecuária com criação de bovinos, caprinos e cultivo de hortaliças, cujas hortaliças são encaminhadas para a comercialização na zona urbana de Ilha Solteira. Contudo, as hortaliças que não eram consumidas eram destinadas ao zoológico municipal (CENTRO DE CONSERVAÇÃO DA FAUNA SILVESTRE) e usado como alimento aos animais silvestres.

Figuras 19. Ponto (5). Cinturão Verde.

19 a)



19 b)



19c)



Fonte: Leite, (2017).

O ponto 6, Figura 20a e 20b, como sendo o porto, foi escolhido como grupo controle, pois bem próximo ao mesmo encontra-se saída do esgoto tratado proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) de Ilha Solteira-SP. Outro fato a ser considerado é a presença de diversas residências que liberam o esgoto *in natura* diretamente no rio Paraná, o que evidencia que sua contaminação seja mais por ação antrópica do que por origem veterinária.

Figuras 20. Ponto 6. Foto da própria autora e (LEITE, 2017).

20a)

20b)



5.2 Resultados das análises com cafeína

A Tabela 4 apresentam os resultados dos teores (mg L^{-1}) para cafeína.

Tabela 4. Teores de cafeína presentes nas amostras coletadas para os pontos de coleta P3 e P6.

Ponto de coleta		mg L^{-1}	Média	Desvpad
	Tr			
P1	n.d	0	0	0
P1D	n.d	0	0	0
P2	n.d	0	0	0
P2D	n.d	0	0	0
P3	9,71	15,15	0	0
P3D	9,69	15,33	15,24	0,13
P4	n.d	0	0	0
P4D	n.d	0	0	0
P5	n.d	0	0	0
P5D	n.d	0	0	0
P6	9,89	3,05	0	0
P6D	9,94	3,00	3,02	0,04

n.d: Não detectável. D: duplicata.

Fonte: Próprio autor.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 5, pode-se observar que a concentração de cafeína foi mais elevada no Ponto 3 em comparação ao Ponto 6. Isso pode estar diretamente relacionado com a urbanização das

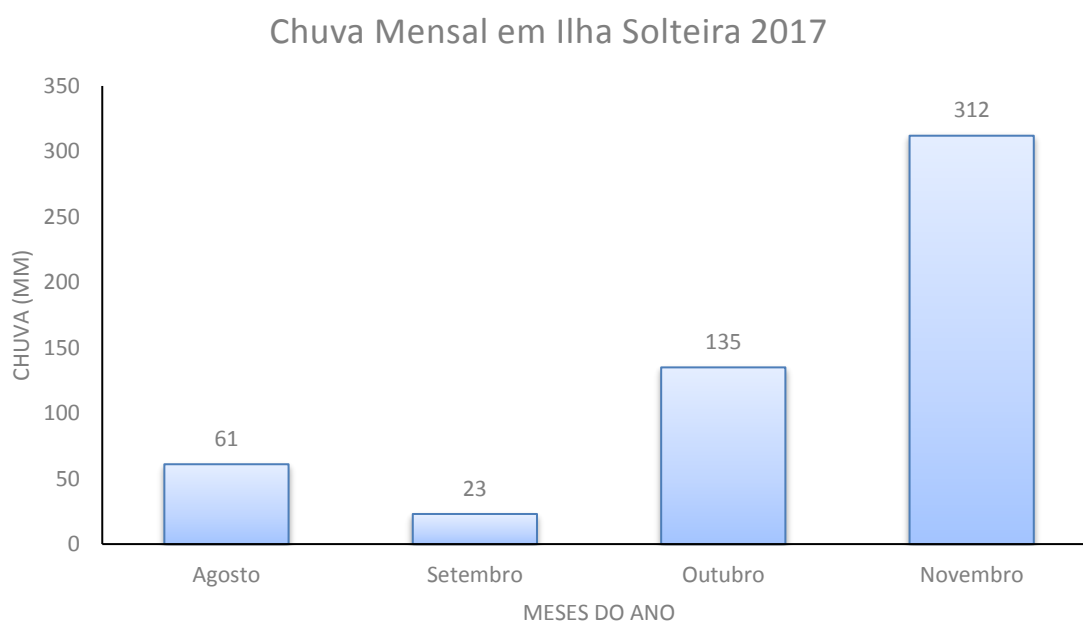
margens da represa do Bairro Ipê que provavelmente causam alterações na qualidade da água, devido a presença de esgotos domésticos.

Além disso, no ponto 3 o efluente bruto resultante das residências não é enviado para a ETE de Ilha Solteira, diferentemente no ponto 6, Porto, onde o mesmo como mencionado anteriormente foi resultante de efluente tratado proveniente da ETE.

5.3 Volume da precipitação durante os meses de coleta.

Como já mencionado anteriormente, o período de coleta possibilitou a coleta de dados durando a transição entre a estação seca para a chuvosa como mostra a Figura 21. Esse fator pode ter influenciado nos dados obtidos, principalmente em novembro, onde foi possível a detecção do diclofenaco em todos os pontos definidos para amostragem. Além disso, o aumento das chuvas pode escorar mais os resíduos do diclofenaco presente no solo, alterar o pH do meio e também aumentar o efeito de diluição do fármaco na água.

Figura 21. Volume da precipitação durante os meses de coleta.



Fonte: Canal Clima da UNESP (adaptado pelo autor).

5.4 Resultados das análises de diclofenaco nos diferentes pontos de coleta.

Os teores mínimo e máximo do diclofenaco ($\mu\text{g L}^{-1}$) referente as séries temporais dos pontos de coleta (P1 a P6) está demonstrado através da Tabela 5.

Tabela 5. Série temporal do diclofenaco

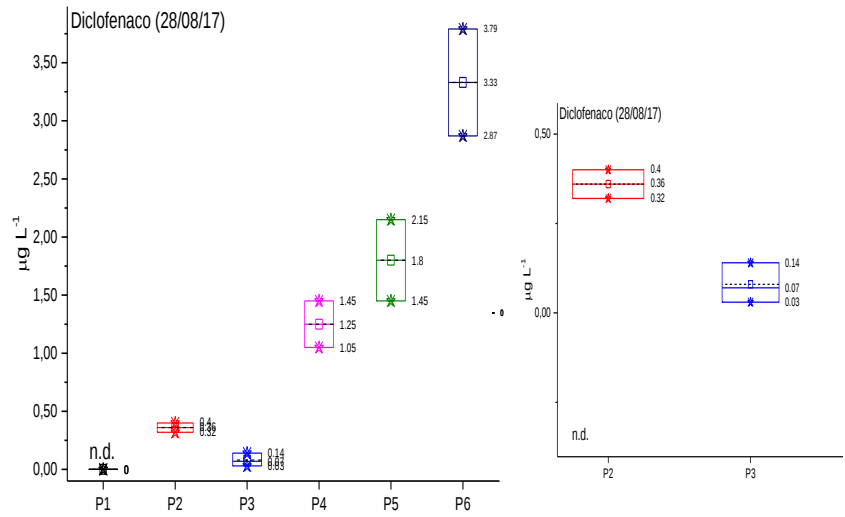
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
	Mínimo	nd	0,32	0,03	1,05	1,45	2,87
28/08/2017	Média	nd	0,36	0,07	1,25	1,8	3,33
	Máximo	nd	0,4	0,14	1,45	2,15	3,79
	Mínimo	nd	nd	2,65	4,77	3,66	0,21
18/09/2017	Média	nd	nd	3,11	4,96	4,26	0,39
	Máximo	nd	nd	3,57	5,15	4,86	0,57
	Mínimo	nd	1,97	3,46	0,92	0,26	4,93
23/10/2017	Média	nd	2,83	3,8	1,05	0,48	5,4
	Máximo	nd	3,69	4,18	1,18	0,7	5,87
	Mínimo	2,7	2,04	1,86	0,2	0,13	8,18
10/11/2017	Média	3,25	2,59	2,3	0,38	0,63	8,71
	Máximo	3,8	3,14	2,74	0,56	1,13	9,24
	Mínimo	1,23	0,46	1,2	0,01	0,18	4
22/11/2017	Média	1,38	0,64	1,3	0,3	0,24	4,66
	Mínimo	1,53	0,82	1,4	0,59	0,3	5,32

n.d = Não detectável. Fonte: Próprio autor.

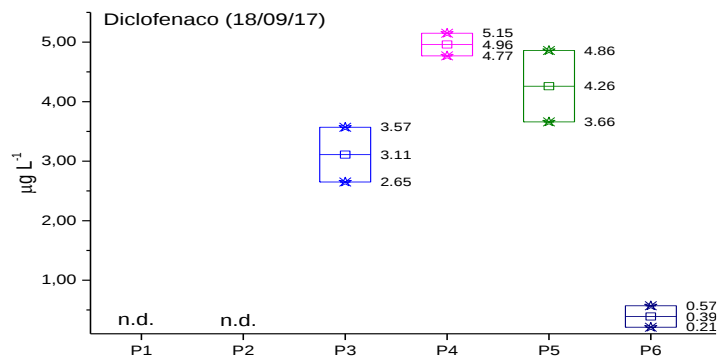
A Figuras 22 representa o diclofenaco encontrado em todos os pontos durante os meses de coleta. A média é representada pelo quadrado na linha horizontal do meio; as linhas nas extremidades das caixas em horizontal correspondem aos valores máximos e mínimos do composto encontrados.

Figura 22. Gráficos box-Plot demonstrando a presença de diclofenaco nos pontos de coleta de água superficial no município de Ilha Solteira-SP. Pontos 1,2 e 4 (Estrela da Ilha), P3 (Bairro do Ipê), P5 e P6 (Cinturão Verde).

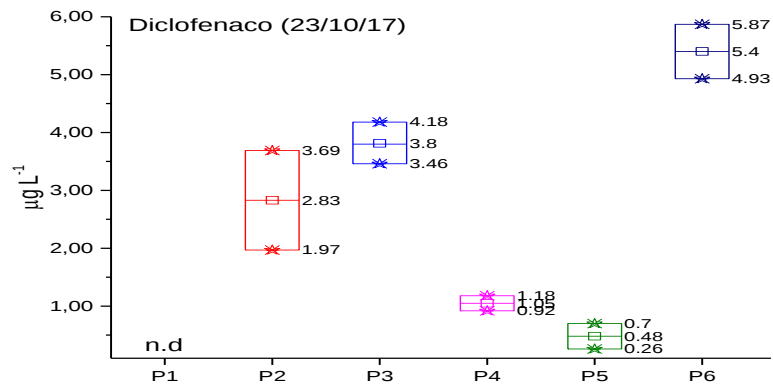
a) Coleta em 28/08/2017, com ampliação dos pontos 2 e 3



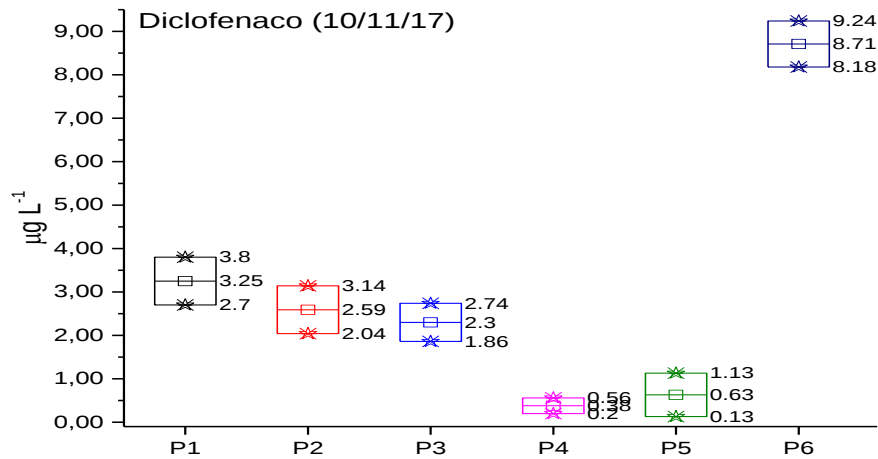
b) Coleta realizada em 18/09/2017



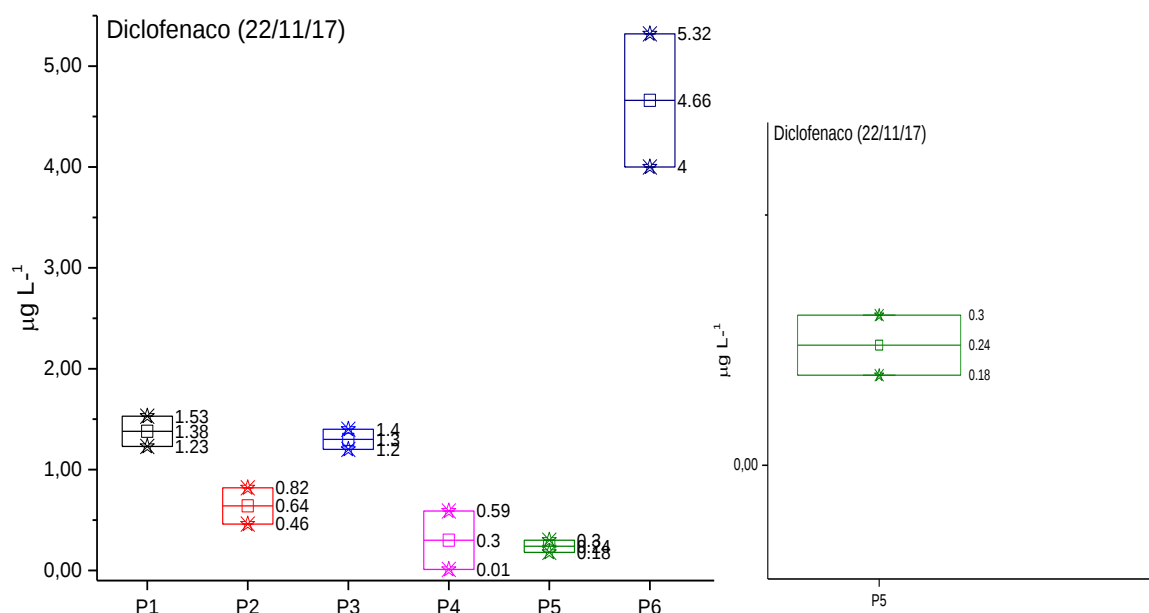
c) Coleta em 23/10/2017



d) Coleta em 10/11/2017



e) Coleta em 22/11/2017, com ampliação no ponto 5



O diclofenaco foi detectado principalmente nos pontos 3, 4, 5 e 6, chamando atenção para o ponto 4 (mês de setembro), no qual foi obtido a maior concentração 4,96 µg L⁻¹, exceto para o ponto 6 (Porto), devido estar próximo da ETE o efluente de esgoto tratado foi utilizado como referência, pois a mesma proveniente da ETE é lançada no Rio Paraná, precisando ser melhor avaliado o tratamento que é utilizado.

Na Figura 22a observa-se que a concentração mais alta do diclofenaco foi registrado no ponto 6 e a menor no ponto 3, sendo que no ponto 1 não foi possível a detecção devido a concentração estar abaixo do limite de detecção. O fato da não detecção no ponto 1 pode ser explicado pelo clima, com temperaturas elevadas e poucas chuvas.

Essa hipótese pode ser sustentada através de estudos realizados por (Buser, Poiger; Muller, 1998) onde comprovou que a pouca chuva dificulta o transporte dos resíduos dos fármacos para as represas e também com o aumento da incidência de luz pode-se ocorrer a sua fotodegradação.

Já na Figura 22b podemos observar, o não aparecimento do diclofenaco nos pontos 1 e 2 devido a sua concentração mais baixa do que seu limite de detecção, e os pontos 3, 4, e 5 foram os que mais se sobressaíram em todos os

meses de coletas, devido ao mês com menor pluviosidade, causando a ausência do transporte e do efeito de diluição no período chuvoso (Sodré et al.,2007).

Em contraste vê-se que o ponto 6 (Porto) apresentou a menor concentração. Isso coincide com o mês de setembro que teve a menor pluviosidade em todas as coletas.

O aumento da concentração do diclofenaco no ponto 3 (Bairro do Ipê) pode estar correlacionado com a contaminação desse ponto por esgoto doméstico, como mencionado anteriormente.

Nos pontos 4 e 5 a contaminação possivelmente indica ser resultante de medicamentos de uso veterinário com o diclofenaco presente na sua composição. Um dos medicamentos mais usado nos assentamentos seria um anti-inflamatório a base oxitetraciclina associado com diclofenaco sódico (1.0 g) podendo estar presente nessa contaminação, já que o rebanho de bovino principalmente o de gado utilizam essas represas para a dessedentação e, assim ocorreria uma maior contaminação através das suas excretas.

Na figura 22c, observou-se que o ponto 1 não apresentou o diclofenaco devido sua concentração estar abaixo do LD e ao contrário do ponto 2 e 3, que demonstrou ser superior ao LD. Em contrapartida, os outros pontos, 4 e 5 foram os que tiveram uma diminuição significativa da sua concentração em relação de setembro, indicando que em outubro o início da estação chuvosa poderia influenciar nas suas baixas concentrações devido ao efeito de diluição citado por (Sodré et al.,2007).

Somente na quarta coleta demonstrada na figura 22d é que foi possível confirmar presença do diclofenaco em todos os pontos de coleta mencionados anteriormente. Com o avanço do período chuvoso, a maioria dos compostos farmacológicos que foram liberados provavelmente no solo por excretas de via veterinária poderiam então serem escoados pela chuva até as lagoas mais próximas, permitindo o registro do diclofenaco em todos os pontos. Além disso, houve uma diminuição nas concentrações nos outros pontos que pode ser justificção devido a temperatura, força iônica, pH que por sua vez podem contribuir com a dessorção dos compostos (Stelato et al., 2016).

Por fim, na Figura 22e constatou-se que na última coleta a presença do diclofenaco manteve-se constante, porém com concentrações mais baixas.

5.5 Determinação de pH e condutividade elétrica nas amostras

Após a chegada no laboratório foi primeiramente realizada a determinação do pH e da condutividade elétrica de cada amostra.

5.5.1 Dados do pH

Observando a Tabela 6, é possível notar que os valores apresentam uma diminuição no pH que coincidem com os meses de maior precipitação (outubro e novembro). Isso pode ocorrer devido a entrada de matéria orgânica via a precipitação fazendo com que esses valores diminuíssem (ANJOS, 2010).

Tabela 6: Valores do pH em todos os pontos de estudo nos períodos de realização da coleta.

Pontos	28/08/2017	18/09/2017	23/10/2017	10/11/2017	22/11/2017
P1	6,84	6,49	6,32	6,16	6,09
P2	7,16	6,92	6,24	6,18	6,15
P3	7,07	6,95	7,00	6,37	6,21
P4	6,98	7,17	6,73	6,25	6,19
P5	6,70	7,08	6,77	6,46	6,28
P6	7,25	7,09	7,18	7,01	6,67

P1, P2 e P4 (Estrela da Ilha), P3 (Bairro do Ipê), P5 e P6 (Cinturão verde).

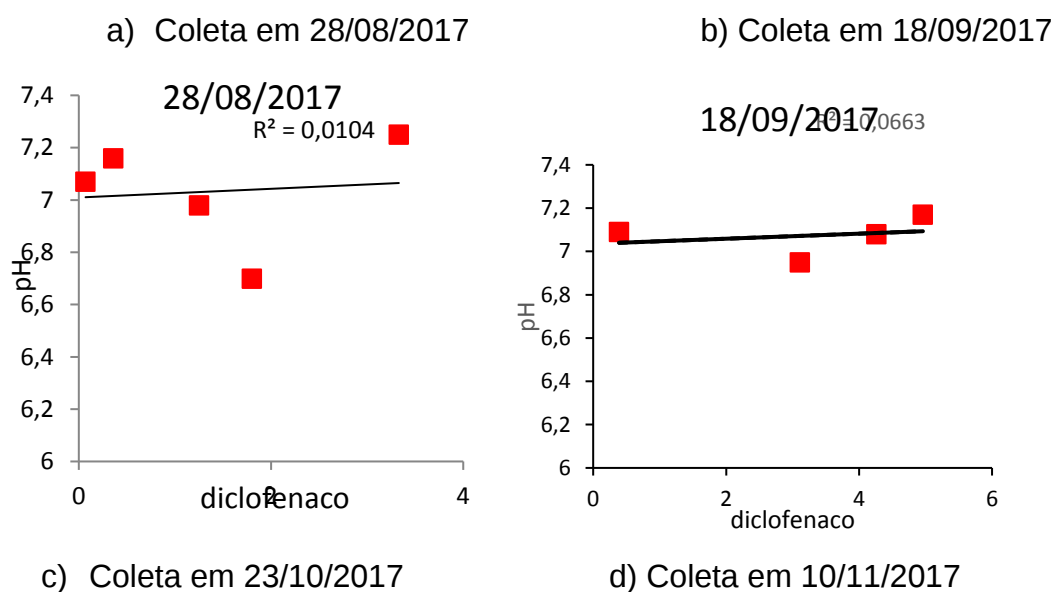
Fonte: Próprio autor.

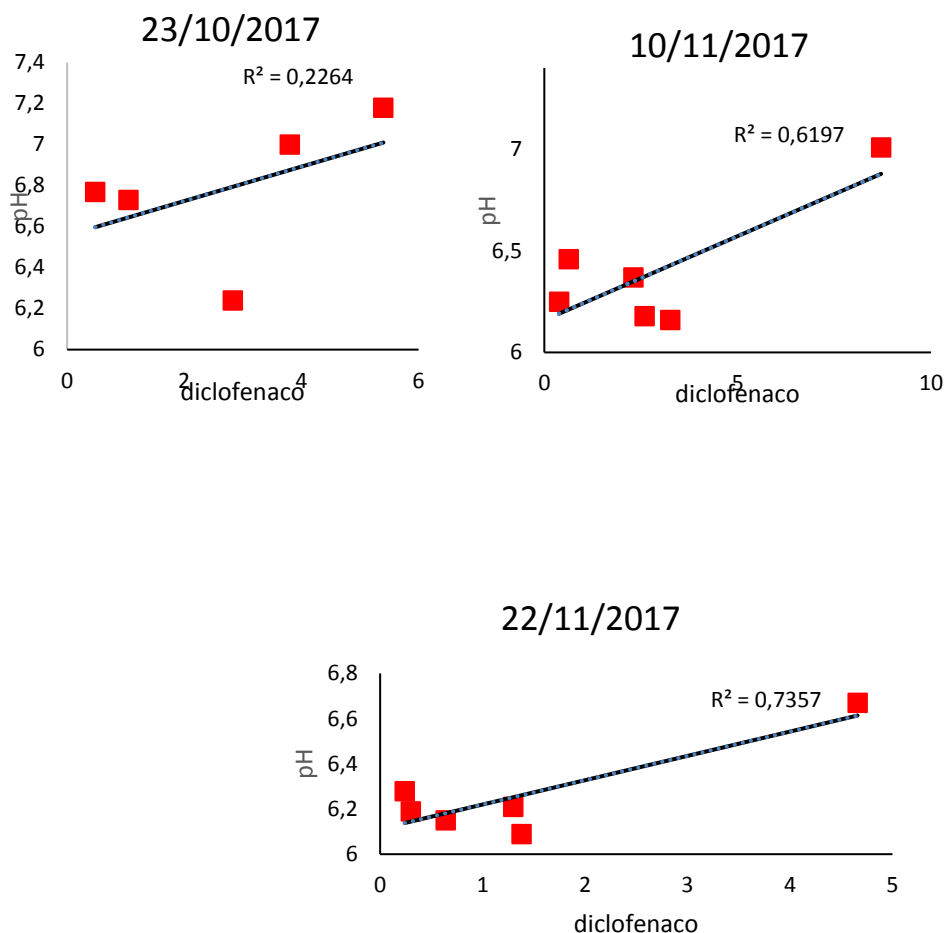
Observando o Tabela 6, pode-se notar que houve uma diminuição no pH da água coletada no mês de novembro, deixando o meio um pouco mais ácido, dificultando a solubilidade do diclofenaco na água, fazendo com que seja mais fácil a sua detecção nesse mês.

5.5.2 Correlação entre a concentração do diclofenaco e o pH

Através dos dados obtidos de pH foi possível correlacionar as variáveis, diclofenaco e pH, para descobrir se houve alguma influência do pH sobre os dados obtidos do diclofenaco.

Figura 23. Correlação entre o diclofenaco e o pH nas datas coletadas.





Fonte: Própria autor.

De acordo com Aguiar, (2009) o diclofenaco tem propriedades ácidas como mencionado anteriormente e sua solubilidade vai depender do pH encontrado no meio.

Num estudo realizado Aguiar, (2009), foi possível observar que em pH próximo a 7,00 o diclofenaco obteve uma dissolução de 100%, enquanto quando exposto ao pH de 4,5 a porcentagem dissolvida foi de apenas 4%, sendo que essas diferenças na solubilidade são devido a estrutura cristalina do diclofenaco.

Observando a Tabela 7, pode-se concluir que os pontos que mais sofreram influência do pH foram os pontos 3, 4 e 6, onde a média do pH para esses pontos foram respectivamente 6,72; 6,66 e 7,04, obtendo uma média de concentração do diclofenaco de 2,11; 1,59; 4,50.

Em relação aos meses coletados, o mês que obteve uma maior influência do pH foi o mês de novembro.

5.5.3 Condutividade elétrica

Tabela 7: Determinação da condutividade elétrica em todos pontos e em todas as datas.

Pontos	28/08/2017	18/09/2017	23/10/2017	10/11/2017	22/11/2017
P1	28,40	33,14	30,63	29,17	28,1
P2	48,04	51,48	58,95	30,78	36,49
P3	56,12	59,91	65,98	42,59	47,15
P4	29,29	30,65	23,73	29,10	27,71
P5	116,05	128,70	95,01	80,86	97,2
P6	47,35	46,98	67,32	53,87	57,88

Unidade de medida: uS/cm² a 25°C

5.5.4 Correlação entre concentração do diclofenaco e a condutividade elétrica

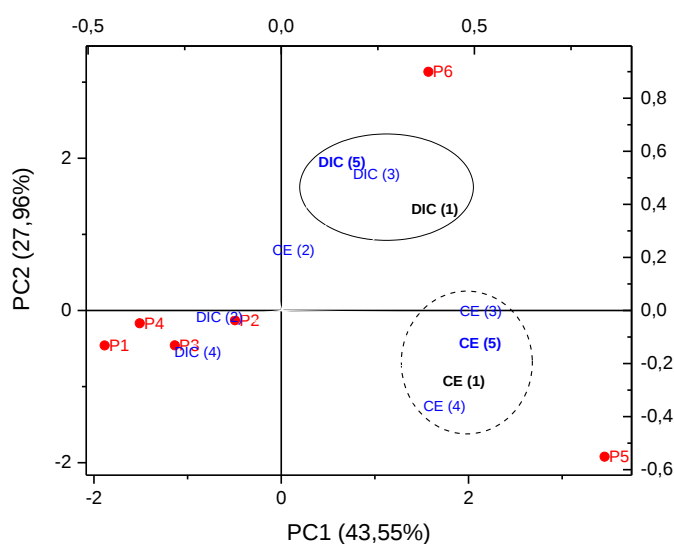
A CE (condutividade elétrica) bem como outros parâmetros tais como oxigênio dissolvido e carbono orgânico total, são parâmetros extremamente importantes na análise de qualidade da água (de Souza et al., 2014). A CE, de fato, um indicador indireto de poluição, pois apresenta estreita relação com o teor de sal (íons) dissolvido presente na coluna de água dos corpos hídricos continentais, muitas vezes associada à descarga de esgoto e, portanto, um parâmetro bem estabelecido de qualidade da água (Chalupová et al., 2012; Thompson et al., 2012).

Os altos valores de CE podem geralmente estar associados à presença de esgoto doméstico devido a um aumento na concentração de íons cloreto, a maioria proveniente da dieta humana, pois cada pessoa consome uma média de 6 g de cloreto por dia (Who, 2003). Este aumento resulta em concentrações de cloreto que excedem 15 mg L^{-1} no esgoto bruto (Souza et al., 2014).

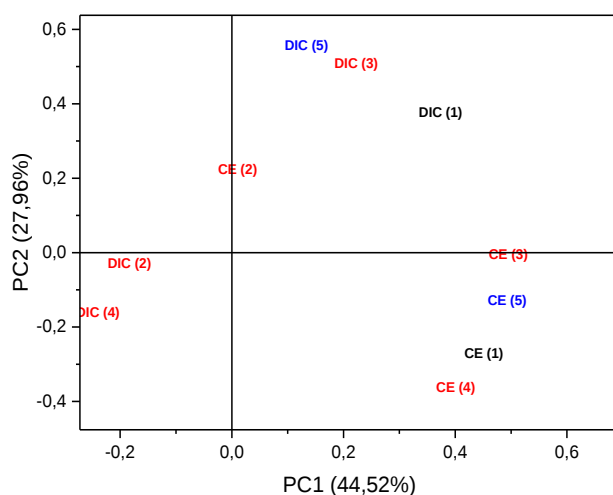
A figura 24 abaixo demonstra a comparação entre a concentração do diclofenaco e a condutividade elétrica em todos os meses de coleta.

Figura 24. (a) Gráfico de escores e (b) “loadings” (carga) para as amostras com as variáveis diclofenaco e condutividade elétrica.

a)



b)



A técnica escolhida para esse tipo de análise foi a Análise de componente principal (PCA) que é um método multivariado utilizado na identificação de correlação entre variáveis estudadas. Nos primeiros fatores concentram-se informações dos dados, sendo que esses fatores podem ser excluídos sem perda significativa de dados (SOUSA et al., 2014).

O loadings do PCA demonstra como essas variáveis estão ou não correlacionadas, sendo possível o entendimento a partir da distância entre eles na área de carregamento, indicando que quando mais próximos mais relacionados estão (SOUSA et al., 2014).

Como primeira abordagem, a PCA foi aplicada usando as amostras dos conjuntos de pontos de coleta versus parâmetros físico-químicos (diclofenaco e condutividade), o que resultou em uma matriz de 6×2 (amostras x variáveis). Os resultados da PCA mostraram que 98,1% da variância dos dados originais podem ser explicados para as quatro componentes principais (PC4). A figura 24a apresenta os escores e cargas ("loadings") referente as variáveis físico-químicas (diclofenaco e condutividade elétrica). A PC1 representa 43,55% da variabilidade dos dados e, a variável mais influente nesta primeira componente é a condutividade elétrica. A PC2 explica 27,96% da variância, onde a influência predominante é do diclofenaco. Ele também foi o mais importante fator para a PC3, qual explica 15,4%. A análise de PCA demonstra nitidamente que a condutividade e diclofenaco estão altamente correlacionadas Figura 23b.

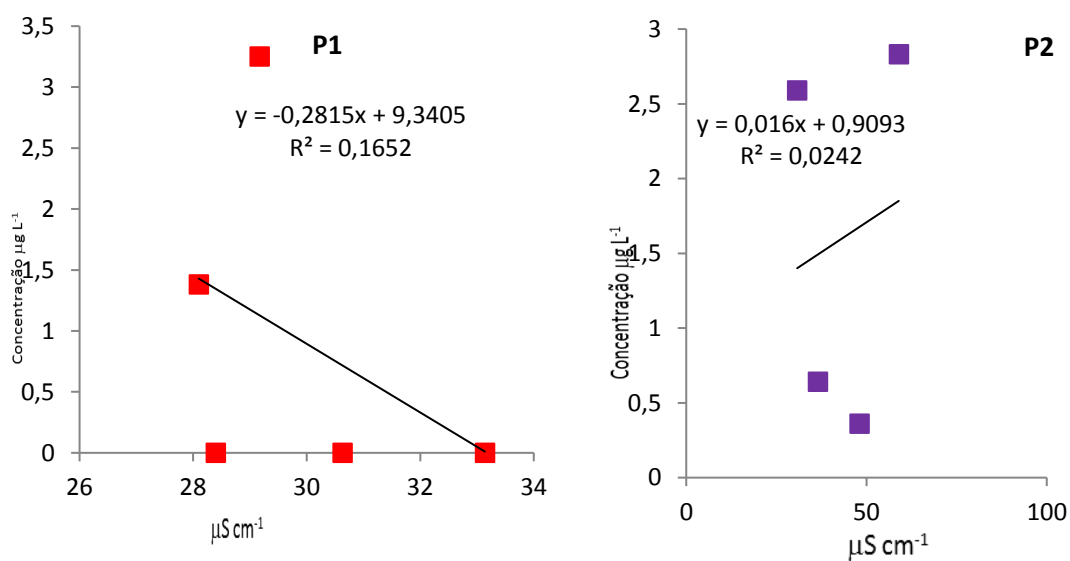
O gráfico de escores Figura 23a apresenta a separação dos pontos de coleta (P1, P2, P3, P4, P5 e P6) em 2 grupos distintos, sendo o maior constituído por P1, P2, P3 e P4 e o menor por P5 e P6.

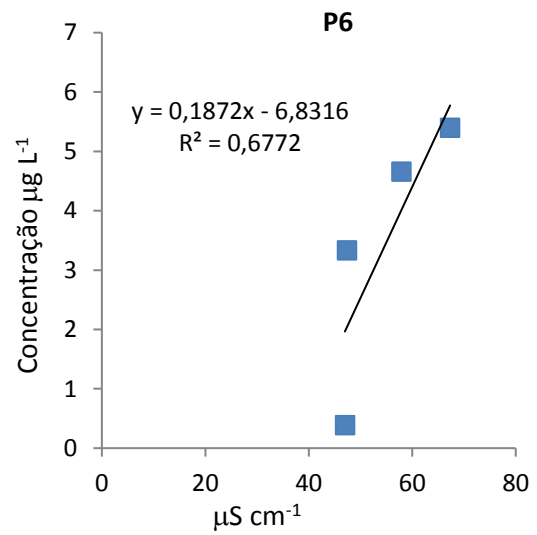
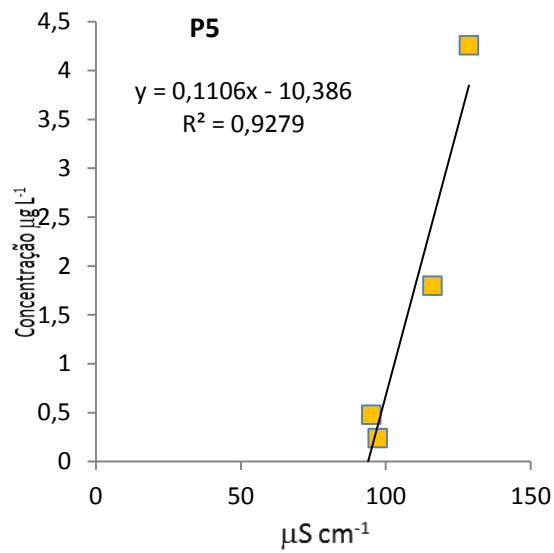
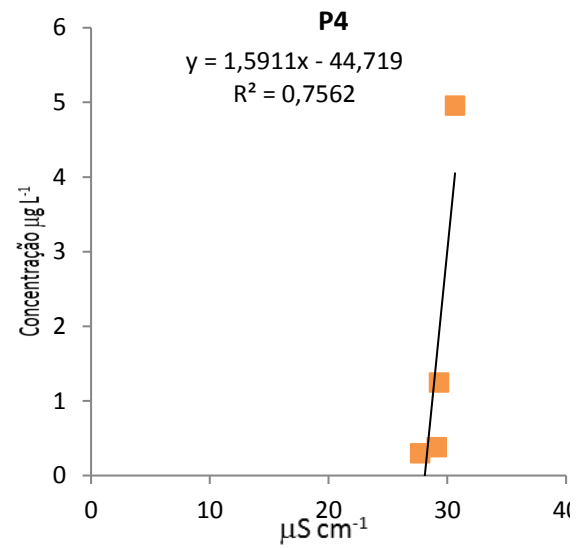
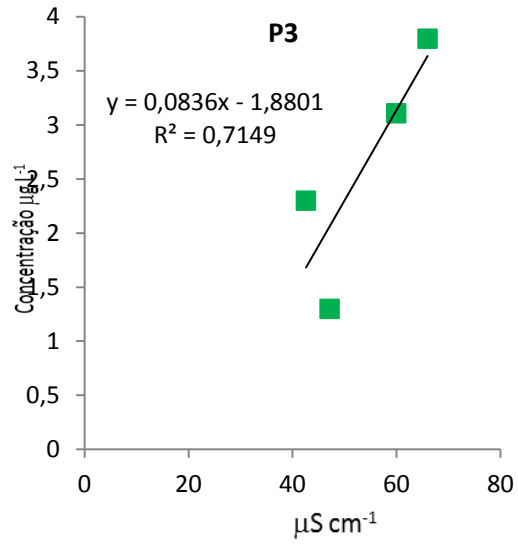
As amostras P1, P2, P3 e P4 apresentaram valores com mínimo de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $27,71 \mu\text{S cm}^{-1}$ máximo de $4,96 \mu\text{g L}^{-1}$ e $65,98 \mu\text{S cm}^{-1}$ para diclofenaco e condutividade elétrica, respectivamente. Neste grupo em questão, postula-se que poderia haver influencia sazonal menos intensa sobre os teores de diclofenaco encontrado em comparação aos pontos P5 e P6. O diclofenaco foi o que apresentou valores baixos nas amostras dos pontos P1, P2, P3 e P4, essas amostras apresentaram escore negativo (Figura 24a) em relação a PC2. A interpretação inversa pode ser observada para o P6 cujos os escores foram positivos para PC2.

O gráfico de cargas (Figura 24b) permite observar que o diclofenaco mostrou alta correlação entre si e individualmente em relação a condutividade elétrica.

A Figura 25 demonstra que com outro método de correlação, sendo a curva analítica, a correlação entre a condutividade elétrica mostra-se ser mais presentes nos pontos 3,4,5 e 6, apresentando os quatro melhores coeficientes de correlação significativos para o diclofenaco ($r = 0,6772$ para P6, $r = 0,7149$ para P3, $r = 0,7562$ para P4 e $r = 0,9279$ para P5) em relação ao CE.

Figura 24. Correlação entre a condutividade elétrica e diclofenaco.





6 CONCLUSÃO

Após realizar a quantificação da condutividade elétrica a correlação com o diclofenaco mostrou-se presente nos pontos 5 e 6. Entretanto, as águas que foram coletadas estão com os valores dentro do previsto na legislação, sendo possível a sua utilização para irrigação e para dessedentação animal sem que haja prejuízo na saúde do animal.

Porém ao realizar a análise de cafeína, foi possível detectá-la no ponto 3 evidenciando o lançamento de esgoto doméstico nessa lagoa, podendo difundir a contaminação no solo e em águas subterrâneas. Além desse ponto, foi possível detectá-la no ponto 6 onde há o lançamento de efluente da ETE no Rio Paraná, sendo que o valor no ponto 3 foi muito maior do que no ponto 6, isso deve-se ao não tratamento da água no ponto 3, enquanto no ponto 6 a água coletada já passou pela ETE.

O diclofenaco mostrou-se presente desde a primeira coleta, porém não em todos os pontos, entretanto seu registro foi aumentando de acordo com o período chuvoso, devido a precipitação possibilitar o transporte dos compostos em direção as lagoas.

A presença do diclofenaco nos pontos amostrados podem ser de origem veterinária devido a presença de gado próximo as lagoas, excluído o ponto 3, onde foi detectado cafeína evidenciando a contaminação por esgoto como mencionado anteriormente, no ponto 6 (Porto) demonstrando que a ETE não foi eficiente na remoção do resíduo fármaco estudado.

Por tanto, o presente trabalho busca trazer um alerta a população e as autoridades mostrando que deveriam ser tomadas medidas cabíveis para melhorar e adequar o tratamento nas lagoas mencionadas nesses estudos e na ETE para mitigar a degradação dos ecossistemas aquáticos.

7 APÊNDICE

Os teores de diclofenaco ($\mu\text{g L}^{-1}$) referentes aos diferentes pontos de coleta (P1 a P6) estão demonstrados na Tabela (4)

Tabela 4. Média e desvio padrão do DIC presente nos pontos de coleta DIC presente nos pontos de coleta.

a)	Diclofenaco	
1	28/08/2017	n.d
2		X: 0,36 (δ : 0,04)
3		X: 0,07 (δ : 0,04)
4		X: 1,25 (δ : 0,20)
5		X: 1,80 (δ : 0,35)
P6		X: 3,33 (δ : 0,46)

X= Média dos teores ($\mu\text{g L}^{-1}$), δ : Desvio padrão e n.d: não detectado.

b)	Diclofenaco	
1	18/09/2017	n.d
2		n.d
3		X:3,11 (δ : 0,46)
4		X: 4,96 (δ : 0,19)
5		X: 4,26 (δ : 0,60)
6		X: 0,39 (δ : 0,18)

X= Média dos teores ($\mu\text{g L}^{-1}$), δ : Desvio padrão e n.d: não detectado.

c)	Diclofenaco	
1	23/10/2017	n.d
2		X:2,83 (δ : 0,86)

3		X: 3,80 (δ : 0,36)
4		X:1,05 (δ : 0,13)
5		X:0,48 (δ : 0,22)
6		X: 5,40 (δ : 0,47)

X= Média dos teores ($\mu\text{g L}^{-1}$), δ : Desvio padrão e n.d: não detectado.

d)	Diclofenaco	
1	10/11/2017	X:3,25 (δ : 0,55)
2		X:2,59 (δ : 0,55)
3		X:2,30 (δ : 0,44)
4		X:0,38 (δ : 0,18)
5		X:0,63 (δ : 0,50)
6		X:8,71 (δ : 0,53)

X= Média dos teores ($\mu\text{g L}^{-1}$), δ : Desvio padrão e n.d: não detectado.

e)	Diclofenaco	
1	22/11/2017	X: 1,38 (δ : 0,15)
2		X: 0,64 (δ : 0,18)
3		X:1,30 (δ : 0,10)
4		X:0,30 (δ : 0,29)
5		X: 0,24 (δ : 0,06)
6		X:4,66 (δ : 0,66)

X= Média dos teores ($\mu\text{g L}^{-1}$), δ : Desvio padrão e n.d: não detectado.

8 REFERÊNCIAS

AGUIAR, F. A. **Caracterização das propriedades do estado sólido do diclofenaco de sódio e avaliação destas propriedades no perfil in vitro de dissolução e no efeito farmacológico.** Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-13052009-133219/pt-br.php>>. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicamentos e Cosméticos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009. Acesso: 07 jun. 2018

ALMEIDA, G. A.; WEBER, R. R. Fármacos na represa Billings. Disponível em: <<https://pt.scribd.com/document/223782238/Farmacos-Na-Represa-Billings>>. **Revista Saúde e Ambiente**, Joinville, v.6, n.2, p.7-13, 2005. Acesso em 25 maio 2018.

ALMEIDA, O. A. **Qualidade da água parra irrigação.** Bahia: [s.n.], 2010. p. 234. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfmadadm/https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/875385/1/livroqualidadeagua.pdf>>. Acesso em: 12 abr. 2018.

AMÉRICO, J. H. P. et al. Ocorrência de diclofenaco e naproxeno em água superficial no município de três lagoas e a temperatura da água na detecção desses anti-inflamatórios. **Engenharia Sanitária Ambiental**. v. 22, n.3, maio/jun 2017 | 429-435. Acesso em 20 mar 2018.

AMÉRICO, J. H. P. **Ocorrência de Compostos Farmacológicos no córrego da onça, Município de Três Lagoas.** 2010. 101 p. Dissertação (Mestre em Engenharia Civil) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010. Disponível em: <http://chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfmadadm/https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/98044/americo_jhp_me_ilha.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 30 mar. 2018.

ANA – AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. **Indicadores de qualidade -índice de qualidade das águas (IQA)**. Disponível em: <<http://portalpnqa.ana.gov.br/indicadores-indice-aguas.aspx>>. Acesso em 16 jun. 2018.

ANVISA- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. Diclofenaco sódico: Comprimidos revestidos. Disponível em: <http://chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbdmfmadadm/http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=18188592016&pIdAnexo=3525035>. Acesso em: 15 maio 2018.

ANJOS, M. L. D. **Avaliação do processo de remoção de fármacos e parabenos de esgoto doméstico em sistema de tratamento baseado em lagoas de lemnas**. 2017. 131 p. Dissertação (Mestre em Engenharia Civil) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2017. Disponível em: <http://chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbdmfmadadm/https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/148998/anjos_ml_me_ilha.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. Acesso em: 15 maio 2018.

BALCÃO, L. F. et al. Caracterização da pecuária leiteira no assentamento Estrela da Ilha, Ilha Solteira – SP. In: ZOOTECA, 2009, Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos...** Águas de Lindóia: Associação Brasileira de Zootecnistas, 2009. p. 1-9. Disponível em: <http://http://www.abz.org.br/files.php?file=documentos/CARACTERIZA_O_DA_PECURIA_LEITEIRA_NO_ASSENTAMENTO_ESTRELA_DA_ILHA__ILHA_SOLTEIRA__SP__903452039.pdf>. Acesso em: 01 jun 2018.

BARANOWSKA, I.; KOWALSKI, B. **A Rapid UHPLC Method for the Simultaneous Determination of Drugs from Different Therapeutic Groups in Surface Water and Wastewater**. [S.l.: s.n.], 2012. 8-14 p. v. 89. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-012-0634-7>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências**. Disponível: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-

40422007000300027 >. Química Nova, São Paulo, v.30, n.3, p.651-666,2007. Acesso: 27 fev. 2018.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. **Fármacos no meio ambiente**. Rio de Janeiro: [s.n.], 2003. p. 4, v. 46. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000400015>. Acesso em: 27 jan. 2017.

BRANDÃO, F. C. et al. **Avaliação da Qualidade e Caracterização Físico-química de Piroxicam - Matéria-Prima**. [S.l.: s.n.], 2008. 560-567 p. Disponível em: <http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://latamjpharm.org/trabajos/27/4/LAJOP_27_4_1_12_5N7R7V9ZZK.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2017.

BRASIL. Lei 11.445/07- Lei do saneamento. Disponível em: <http://www.tratabrasil.org.br/lei-do-saneamento>. Brasília-DF, 2007. Acesso: 14 ago 2017.

BUSER, H. R., POIGER, T.; MÜLLER, M. D. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. Disponível em:< <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es980301x>>. **Environmental Science & Technology, Easton**. v.32, n.22, p.3449-3456,1998. Acesso: 17 mar. 2018.

CASS, Q. B. Desenvolvimento de métodos por HPLC fundamentos, estratégias e validação série apontamentos. In: **Q. B. Cass, Validação de métodos analíticos**. p. 77. São Carlos: EdUFSCar. 28 nov. 2017

COLAÇO, R. **DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM MATRIZES AQUOSAS POR EFS-CLAE-UV**. 2013. p.12, Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2013. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/30492/R%20-%20D%20-%20ROSANGELA%20COLACO.pdf?sequence=1&isAllowed=>>>. Acesso em: 20 fev. 2018.

DIAS, C. **Medicamento veterinário para bovinos está a dizimar os abutres**. Disponível em: <

<https://www.publico.pt/2014/09/06/sociedade/noticia/medicamento-veterinario-para-bovinos-esta-a-dizimar-os-abutres-1668862/amp> >. Acesso em: 13 set. 2017.

ESTAÇÃO Meteorológica do IAG/USP: Seção Técnica de Serviços Meteorológicos. Disponível em: <<http://www.estacao.iag.usp.br/seasons/index.php>>. Acesso em: 26 fev. 2018.

FENT, K., WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X05003267>>. **Aquatic Toxicology, Amsterdam**. v.76, n.2, p.122-159, 2006. Acesso em: 5 maio 2018

FIALHO, J. M. **AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA CONSUMIDA NUMA ÁREA RURAL DE ILHA SOLTEIRA, ESTADO DE SÃO PAULO**. 2016. 93 p. Dissertação (Mestre em Agronomia)- Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2016. Disponível em: <<http://200.145.6.238/handle/11449/143895>>. Acesso em: 08 fev. 2018.

FILHO, R. W. R. et al. Fármacos, ETEs e corpos hídricos. **Revista Ambiente e ÁGUA**. s.n.], 2007. p.54-61, v. 2. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/928/92820307/>>. Acesso em: 21 maio 2018.

GELLER, M. Utilização do diclofenaco na prática clínica: revisão das evidências terapêuticas e ações farmacológicas. Disponível em: <<http://www.periodicos.unc.br/index.php/sma/article/view/841/648>>. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, 2012.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. Interferentes endócrinos no ambiente. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000300032>. **Química Nova**. São Paulo. v. 30. n. 3. p. 695-706. 2007. Acesso em: 18 nov. 2017.

GIRELI, T. Z.; VENDRANE, R. F. **Aprofundamento do Porto de Santos: Uma análise Crítica**. [S.l.: s.n.], 2012. p. 49-59. v. 17. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfmadadm/https://abrh.s3-sa-east->

1.amazonaws.com/Sumarios/94/791bbe0afb9b0487d19265d872fe365f_e707e071558ccbeea39b95061a57feb8.pdf >. Acesso em: 21 mar. 2018.

GUEDES, C. D.; PAGANINI, W. da S. A. **Remoção do fármaco paracetamol dos esgotos comparando três processos de tratamento biológico em nível secundário**. São Paulo: [s.n.] 2017. p. 6, v. 1. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbdm/adm/https://www.tratamentodeagua.com.br/wp-content/uploads/2017/10/II-284.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2018.

HAAP, T.; TRIEBSKORN, R.; KÖHLER, H. R. **Acute effects of diclofenac and DMSO to *Daphnia magna*: immobilisation and hsp70-induction**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18649920>>. Chemosphere v. 73, n. 3, p. 353-359, 2008. Acesso em: 23 abr. 2018.

HERNÁNDEZ, F. et al. **Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993607000295>> Trends in Analytical Chemistry, v. 26, n. 6, p. 466-485. Data de acesso: 20/11/2017

HERNÁNDEZ, F. et al. **Tratament of micropollutants in water and wastewater**. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?id=oPT2yNZiC8oC&pg=PA87&lpg=PA87&dq=HERN%C3%81NDEZ,+F.;+SANCHO,+J.V.;+IB%C3%81%C3%91EZ,+M.;+GUERRERO,+C.+\(2007\)&source=bl&ots=E8FYu7A0hv&sig=KxldEXWwldVq_SV4CWALIS8gAwM&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwjEv-Xv8tTdAhXHqZAKHVb4CT8Q6AEwAHoECAEQAQ#v=onepage&q=HERN%C3%81NDEZ%2C%20F.%3B%20SANCHO%2C%20J.V.%3B%20IB%C3%81%C3%91EZ%2C%20M.%3B%20GUERRERO%2C%20C.%20\(2007\)&f=false](https://books.google.com.br/books?id=oPT2yNZiC8oC&pg=PA87&lpg=PA87&dq=HERN%C3%81NDEZ,+F.;+SANCHO,+J.V.;+IB%C3%81%C3%91EZ,+M.;+GUERRERO,+C.+(2007)&source=bl&ots=E8FYu7A0hv&sig=KxldEXWwldVq_SV4CWALIS8gAwM&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwjEv-Xv8tTdAhXHqZAKHVb4CT8Q6AEwAHoECAEQAQ#v=onepage&q=HERN%C3%81NDEZ%2C%20F.%3B%20SANCHO%2C%20J.V.%3B%20IB%C3%81%C3%91EZ%2C%20M.%3B%20GUERRERO%2C%20C.%20(2007)&f=false)>. Acesso em: 19 jun. 2017.

HOEGER, B.; KOLLNER, B.; DIETRICH, D. R.; HITZFELD, B. **Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*)**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X05002250>>. Aquatic Toxicology, Amsterdam, v.75, n.1, p.53–64, 2005 Acesso: 22 maio 2018.

IAGU- ESTAÇÃO METEOROLOGICA DA USP. **Informações sobre as Estações do Ano na Cidade de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.estacao.iag.usp.br/seasons/index.php>>. Acesso em: 12 mar. 2018.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **ILHA SOLTEIRA**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/ilha-solteira/panorama>. Acesso em 15 maio 2018.

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PARRELLA, A.; PREVITERA, L.; RUBINO, M. Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969705000148>>. **Science of the Total Environment**. Amsterdam. v.348, n.1-3, p.93-101, 2005. Acesso: 5 maio 2018.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Potential ecological and human health risks associated with the presence of pharmaceutically active compounds in the aquatic environment. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408440490464697>>. **Critical Reviews in Toxicology**. v. 34, n. 4, p. 335-350, 2004. Acesso em: 11 mar. 2018.

KASPER, D. et al. **Metodologias de coleta, preservação e armazenamento de amostras de água para análise de mercúrio - uma revisão**. 3. ed. [S.l.: s.n.], 2015. p. 9, v. 38. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/v38n3a18.pdf>>. Acesso em: 16 fev. 2018.

KEITH, L.H. **Identification and analysis of organic pollutants in water**. Disponível em: <<https://www.osti.gov/biblio/5883094>>. United States. N. p., 1981. Acesso: 17 mar. 2018.

KRAMER, R. D. et al. **Determinação de anti-inflamatórios na água e sedimento e suas relações com a qualidade da água na bacia do Alto Iguaçu, Curitiba-PR**. Porto Alegre: [s.n.], 2015. p. 657-667, v. 20. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://132.248.9.34/hevila/RBRHRevistabrasileiraderecursoshidricos/2015/vol20/no3/11.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

LIMA, E. A. C. F.; SILVA, H.R; ALTIMARE, A.L. Uso atual da terra no município de Ilha Solteira, SP, BRASIL: RISCOS AMBIENTAIS ASSOCIADOS. Rio Claro: **HOLOS Environment**, 2004. p. 81, v. 4. Disponível em: <<https://www.cea-unesp.org.br/holos/article/view/353/319>>. Acesso em: 13 mar. 2018.

LOKE, M. L. INGERSLEV, F.; HALLING-SORENSEN, B.; TJRFNELUND, J. Stability of tylosin A in manure containing test systems determined by high performance liquid chromatography. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653599004506>> **Chemosphere, Oxford**, v.40, n.7, p.759-765, 2000. Acesso: 05 mar. 2018.

MARCHESE, S., PERRET, D., GENTILI, A. et al. **Determination of Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs in Surface Water and Wastewater by Liquid chromatography-Tandem Mass Spectrometry**. Disponível em: ><https://doi.org/10.1365/s10337-0052-4>> **Chromatographia**. v.58, p 263-269. Acesso em: 26 fev.2018

MARTINS, M.L., PRIMEI, E.G., CALDAS, S.S., PRESTES, O.D., ADAIME, M.B., ZANELLA, R. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME) fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**. v.4, n1, p.35-51. Acesso 06 mar. 2018.

MELO, D. C. O. **Ilha Solteira tem o mês de novembro mais chuvoso desde que medição da UNESP iniciou em 1991**. Disponível em: <https://fatosregionais.com/ilha-solteira-tem-o-mes-de-novembro-mais-chuvoso-desde-que-medicao-da-unesp-iniciou-em-1991/>. Acesso em 17 dez. 2017.

METCALFE, C. D.; KOENIG, B. G.; TERNES, T. A.; HIRSCH, R. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of canadian sewage treatment plants. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14713026>>. **Environmen talotoxicology and Chemistry**. v. 22, n. 12, p. 2872-2880, 2003. Acesso em: 16 mar. 2018.

MIRANDA, A. C. **Desenvolvimento de um método para monitoramento da contaminação do solo pelo fármaco azitromicina: uma abordagem sustentável**. 2013. p. 76. Dissertação (Dissertação (mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE,, São Paulo, 2013. Disponível em:

<http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://bibliotecatede.uninove.br/bitstream/tede/196/1/B_Amanda%20Carvalho%20Miranda.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2018.

MONTEIRO, E. C. A. **Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs)**. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3744>. Acesso em: 10 ago. 2017.

MOREIRA, R. de F. P. M.; TAMBOSI, J. L. **Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento**. 2008. f.141, Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. , [S.l.], 2012. Disponível em: <<http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/90956>>. Acesso em: 21 mar. 2018.

NAMBIRAJAN, K. et al. **Residues of Diclofenac in Tissues of Vultures in India: A Post-ban Scenario**. [S.l.: s.n.], 2012, p. 292-297, v. 74. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-017-0480-z>>. Acesso em: 26 fev. 2018.

NEBOT, C; GIBB, S. W.; BOYD, K. G. Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid tography–tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**. Amsterdam. v. 598, p. 87-94, 2007. Acesso 05 mar. 2018.

NETO, S. B. N.; ARAÚJO, I. I. M.; TÁVORA, M. A. **Qualidade de água de dessedentação de bovinos da fazenda-escola do IFRN-Ipangaçu**. Instituto Federal do Rio Grande do Norte: Holos, 2016. 10 p. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/download/4150/1466>>. Acesso em: 16 abr. 2018.

PASQUINI, N. C. **Monitoramento de fármacos no ribeirão quilombo, estado de são paulo, BR**. [S.l.: s.n.], 2016, p. 63-77, v. 5. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/download/4150/1466>>.

extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://www.periodicos.unc.br/index.php/sma/article/download/841/648%2031/03/2018>. Acesso em: 16 mar. 2018.

PETROVIC, M.; HERNANDO, M. D.; DIAS-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967304021648>>.

Journal of Chromatography A. New York. v.1067, n.1/2, p.1-14, 2005. Acesso: 1 mar. 2018.

PINHOLI, R. S. et al. **Análise de dados de precipitação máxima do município de Ilha Solteira**. Disponível em: <<chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfmadadm/https://proceedings.sbmac.org.br/sbmac/article/viewFile/1382/1396>>. CNMAC, Gramado, 2016, v5. Acesso em: 14 abr. 2018.

REZAEI, M.; ASSADI, Y.; HOSSEIN, M.M.; AGHAEE, E.; AHMADIA, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**. v.1116, p.1-9. Acesso 06 mar. 2018

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. 2004, vol.27, n.5, p.771-780. ISSN 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>. Acesso em: 23 nov. 2017.

RIBEIRO, F. A. de L.; FERREIRA, M.; FERREIRA, M. C. **Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados**. São Paulo: [s.n.], 2007. p. 10, v. 1. Disponível em: <<http://chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/23784/1/S0100-40422008000100029.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2018.

ROCHA, R. S. et al. **Avaliação da degradação do diclofenaco sódico utilizando H₂O₂/fenton em reator eletroquímico**. São Paulo: [s.n.], 2009. 2 p.

v. 32. Disponível em: <<http://Evaluation of the degradation of sodium diclofenac using H2O2/fenton in electrochemical reactor>>. Acesso em: 18 out. 2017.

ROSATO, M. M. et al. Quantificação dos efluentes domésticos produzidos em uma área rural (Cinturão Verde, Ilha Solteira-SP). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 21, 2009, São José do Rio Preto. **Anais eletrônicos...** São José do Rio Preto: IBILCE/UNESP, 2009. Disponível em:<http://prope.unesp.br/xxi_cic/99_34607378836.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2018.

SENTA, I. et al. **Wastewater analysis to monitor use of caffeine and nicotine and evaluation of their metabolites as biomarkers for population size assessment**. [S.l.: s.n.], 2015. p. 23-33, v. 74. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135415000755>>. Acesso em: 13 mar. 2018.

SOBRÉ, F. F. et al. **Ocorrências de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de campinas (SP, Brasil)**. Campinas: [s.n.], 2007. 11 p. Disponível em: <http://chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbfmadadm/https://www.researchgate.net/profile/Fernando_Sodre/publication/250395500_Ocorrencia_de_Interferentes_Endocrinos_e_Produtos_Farmaceuticos_em_Aguas_Superficiais_da_Regiao_de_Campinas_SP_Brasil/links/0046352e7e15a82213000000/Ocorrencia-de-Interferentes-Endocrinos-e-Produtos-Farmaceuticos-em-Aguas-Superficiais-da-Regiao-de-Campinas-SP-Brasil.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2018.

SOUSA, D. N. R. et al. Electrical conductivity and emerging contaminant as markers of surface freshwater contamination by wastewater . [S.l.]: **Science Of The Total Environment**. 2014. p. 19-26, v. 484. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969714003295?via%3Dihub>>. Acesso em: 15 maio 2018.

SRDJENOVIC, B. et al. **Simultaneous HPLC Determination of Caffeine, Theobromine, and Theophylline in Food, Drinks, and Herbal Products** . [S.l.: s.n.], 2008. p. 144-149, v. 46. Disponível em: <<https://academic.oup.com/chromsci/article/46/2/144/340284>>. Acesso em: 15 fev. 2018.

STELATO, E. da S. et al. **Avaliação da presença de resíduos de anti-inflamatórios não esteroides nos córregos veado e cedro no município de presidente prudente (SP, Brasil).** 2016. p. 97-113. Disponível em: chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfmadadm/http://abes-dn.org.br/publicacoes/rbciamb/Ed39/RBCIAMB_n39_97-113.pdf Acesso em 20 nov. 2017.

TAMBOSI, J. L. **Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento.** Florianópolis, 2008. p.141. [Thesis of PhD degree. Department of Chemical and Food Engineering, Federal University of Santa Catarina]. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/90956>. Acesso: 25 fev. 2018

TERNES, T. A. Occurrence of drgs in german sewage treatment plants
ans rivers. Disponível em:<
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135498000992>>. **Water Research.** Oxford. v.32, n.11, p. 3245-3260, 1998. Acesso em: 25 nov. 2017.

THOMPSON, M. Y.; KNEY, A; BRANDES, D. Using electronic conductivity and hardness data for rapid assessment of stream water quality . [S.l.]: **Journal Of Environmental Management.** 2014. p.157, v. 104. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/223976331_Using_electronic_conductivity_and_hardness_data_for_rapid_assessment_of_stream_water_quality>. Acesso em: 15 maio 2018.

UNESP ILHA SOLTEIRA. **Área de hidráulica e irrigação. Histórico mensal da chuva em 2017.** Disponível em: <<https://irrigacao.blogspot.com.br/search/label/chuva>>. Acesso em: 27 fev. 2018.

UYSAL, Y.; TANER, F. **Bioremoval of cadmium by Lemna minor in different aquatic conditions.** Disponível em: <
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/clen.200900271> > .CLEAN–Soil, Air, Water, Japão, v. 38, n. 4, p. 370 - 377, 2010. Acesso: 7 maio 2018.

VILLAS, M.; BANDERALI, M. **Como e porque medir a Condutividade Elétrica (CE) com sondas multiparâmetros?** Disponível em:

<<https://www.agsolve.com.br/noticias/como-e-porque-medir-a-condutividade-eletrica-ce-com-sondas-multiparametros>>. Acesso em: 15 maio 2018.

VON SPERLING, M. Associação entre a legislação brasileira de qualidade da água (Resolução CONAMA) n. 20/86 de 18 junho de 1986) e a seleção de processos de tratamento de esgotos. Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.3, n,1 – n. 2, p.67-73. Acesso: 6 out de 2017.

ZHANG, Y.; GEISEN, S. U.; GAL, C. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565350800996X>>.

Chemosphere. Oxford. v. 73, n. 4, p. 1151- 1161, 2008. Acesso: 15 fev. 2018.