



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Maiara Priscilla de Souza

DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA
UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BA μ E) E
UHPLC-MS/MS

Santa Maria, RS

2016

Maiara Priscilla de Souza

**DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA UTILIZANDO
MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BA μ E) E UHPLC-MS/MS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

Santa Maria, RS

2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

de Souza, Maiara Priscilla
DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA
UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BA μ E) E
UHPLC-MS/MS / Maiara Priscilla de Souza.- 2016.
94 p.; 30 cm

Orientador: Renato Zanella
Coorientadora: Martha B. Adaime
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2016

1. Contaminantes emergentes 2. Água 3. Microextração
adsortiva em barra 4. UHPLC-MS/MS. I. Zanella, Renato
II. Adaime, Martha B. III. Título.

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado

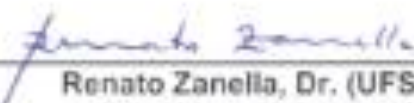
**DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA
UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BA μ E) E
UHPLC-MS/MS**

elaborada por


Maiara Priscilla de Souza

Como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Química**

Comissão Examinadora



Renato Zanella, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Tânia Mara Pizzolato, Dra. (UFRGS)



Mariela de Souza Viera, Dra. (UFSM)

Santa Maria, RS
2016

*“Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis,
as pedras do caminho se tornam montanhas,
os fracassos se transformam em golpes fatais.
Mas, se você tiver grandes sonhos...
seus erros produzirão crescimento,
seus desafios produzirão oportunidades,
seus medos produzirão coragem.
Por isso, meu ardente desejo é que você
NUNCA DESISTA DOS SEUS SONHOS!”*

Augusto Cury

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Zanella por todos os ensinamentos, paciência, dedicação e atenção. Sou muito grata pela oportunidade de poder fazer parte do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP). Ao Prof. Dr. Osmar D. Prestes, agradeço também por todos os ensinamentos que me proporcionou.

A minha banca de defesa, Dr. Renato Zanella, Dra. Tânia Mara Pizzolato e Dra. Mariela de Souza Viera pelas sugestões e contribuições neste trabalho.

Aos meus colegas do LARP por todo o auxílio, amizade e também por terem me recebido tão bem no laboratório. Muito obrigada a todos que me ajudaram e tornaram meus dias melhores!

Agradeço de forma muito especial à Tiele, por ser esta amiga e colega tão especial e por todo o auxílio que me deu, desde os ensinamentos da rotina do laboratório e por todo o acompanhamento e ajuda neste trabalho. Muito obrigada por todos os conselhos e principalmente pela amizade!

À Mariela, por todos os ensinamentos e ajuda, tanto na minha qualificação quanto na dissertação e por sempre ser esta pessoa tão amiga e prestativa!

Faço também um agradecimento às minhas colegas e amigas, Danieli, Janice, Luana e Mariele, por serem estas pessoas tão especiais, pela força, amizade e momentos de descontração.

À minha colombiana predileta, Natalia Cadavid Muñoz, por ser uma pessoa com a qual tive a honra de conviver e com a qual sempre pude contar! Agradeço muito por todo o incentivo, momentos de diversão e pela amizade!

Agradeço de coração aos meus pais por todo o apoio, incentivo e por serem a base da minha vida. Ao meu namorado pela paciência, por sempre me apoiar, incentivar e acreditar em mim! A todos os meus amigos de Candelária, pela amizade de mais de 20 anos... considero vocês como sendo meus irmãos! Muito obrigada por toda a força e torcida!!

À Deus e meus anjos da guarda por estarem sempre comigo, me dando forças e me auxiliando nas melhores escolhas.

RESUMO

DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BA μ E) E UHPLC-MS/MS

Autora: Maiara Priscilla de Souza
Orientador: Renato Zanella

Os contaminantes emergentes são substâncias que entram continuamente no meio ambiente e que estão sendo reconhecidas com maior profundidade devido ao avanço de técnicas instrumentais e de preparo de amostra. Estes compostos englobam diversas classes químicas, como por exemplo, fármacos, hormônios, produtos de higiene e cuidado pessoal, retardantes de chama, dentre outros. Uma das matrizes mais suscetíveis à contaminação é a água tendo em vista que a descarga de esgoto é uma das principais vias de poluição ambiental. A microextração adsortiva em barra (BA μ E) tem demonstrado grande capacidade analítica para a análise de compostos orgânicos em nível residual e vem se tornando uma ferramenta analítica bem estabelecida no âmbito de preparo de amostras. Neste estudo foi desenvolvido e validado um método simples e de baixo custo para a determinação de 13 contaminantes emergentes em água utilizando BA μ E e empregando sorvente polimérico com posterior análise por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). O preparo das barras bem como os testes de estabilidade foram avaliados. Onze sorventes foram testados para revestir os dispositivos. A fim de avaliar a melhor combinação de parâmetros para a extração e dessorção dos analitos, utilizou-se um planejamento do composto central (CCD) com 4 variáveis. Os resultados da validação foram satisfatórios uma vez que as recuperações obtidas ficaram entre 74% e 118% com desvio padrão relativo RSD < 19%. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,012 a 0,6 e 0,04 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O método proposto combina uma etapa de preparo de amostra simples e eficaz para a determinação de contaminantes emergentes em água. A aplicabilidade do método foi avaliada utilizando amostras reais de água de superfície, de torneira e mineral e destas, 6 amostras apresentaram bisfenol A (0,08-0,665 $\mu\text{g L}^{-1}$) e paracetamol (0,104-4,2 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Palavras-chave: Contaminantes emergentes, Água, Microextração adsortiva em barra, UHPLC-MS/MS.

ABSTRACT

DETERMINATION OF EMERGING CONTAMINANTS IN WATER USING BAR ADSORPTIVE MICROEXTRACTION (BA μ E) AND UHPLC-MS/MS

Author: Maiara Priscilla de Souza

Advisor: Renato Zanella

The emerging pollutants are substances that enter continuously in the environment and are being more recognize due to the advancement of instrumental and sample preparation techniques. These contaminants include several chemical classes, such as pharmaceuticals, hormones, personal care products, flame retardants and others. Water is one of the most susceptible matrix since the sewage discharge is one of the main routes of environmental pollution. Bar adsorptive microextraction (BA μ E) has shown great analytical capacity for the analysis of organic compounds in residual level and has become a well-established analytical tool in sample preparation. In this work, a simple and low cost method was validated for the analysis of 13 emerging contaminants in water using BA μ E with polymeric sorbent followed by ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). The preparation, stability tests and development of BA μ E devices are also discussed. Eleven different coating phases were evaluated. In order to select the best combination of experimental conditions for extraction and back extraction, central composite design (CCD) with four variables was applied. Validation results were satisfactory, since the method presented recoveries between 74% and 118% with relative standard deviations (RSD) < 19%. The analytical performance presented detection and quantification limits of 0.012 to 0.6 and 0.04 to 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The proposed method combines a simple and effective sample preparation for the determination of emerging contaminants in water using a microextraction technique (BA μ E) followed by UHPLC-MS/MS analysis. The method applicability was evaluated using real samples of surface, drinking and tap water and 6 positive samples were found indicating the presence of bisphenol A (0.08-0.665 $\mu\text{g L}^{-1}$) and paracetamol (0.104-4.2 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Keywords: Emerging contaminants, Water, Bar adsorptive microextraction, UHPLC-MS/MS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais rotas de liberação de contaminantes emergentes para o meio ambiente.....	24
Figura 2 – Dispositivo com fase extratora suportada em tubo de polipropileno.	28
Figura 3- Partes básicas do sistema BAμE.	29
Figura 4 - Esquema de um analisador de massas do tipo triplo quadrupolo.	35
Figura 5- Principais pontos de um planejamento de composto central.	36
Figura 6 – Cromatograma de íon total dos compostos representativos das diferentes classes analisadas neste estudo fortificados no nível 2 (F2).	54
Figura 7 - Etapas do tratamento da barra adsortiva. 1) Imersão dos dispositivos em acetonitrila e tratamento ultrassônico; 2) Agitação em agitador magnético; 3) Barras confeccionadas.	55
Figura 8- Etapas da retirada do excesso de sorvente 1) Inserção do dispositivo em acetonitrila 2) Início do tratamento ultrassônico e 3) Final do tratamento em ultrassom.....	56
Figura 9 - Comportamento das barras na presença de diferentes solventes.	57
Figura 10 - Comportamento das barras adsortivas em diferentes pH.	59
Figura 11- Demonstração da etapa de extração e do comportamento da barra em solução.....	60
Figura 12 - Gráfico de contaminantes emergentes utilizando diferentes sorventes em função da área normalizada.	61
Figura 13 – Superfície de resposta gerada por um planejamento de composto central utilizando as variáveis fixas de rotação por minuto de 1200 rpm e tempo de equilíbrio de 8 h.	64
Figura 14- Preparo de amostra otimizado através do planejamento do composto central.	66
Figura 15- Cromatograma de íon total do hormônio estrona fortificado no nível de 0,02 μg L ⁻¹ sobreposta ao branco (água ultrapura).	68
Figura 16- Recuperações intra e interday obtidas em 3 níveis de fortificação diferentes.....	72
Figura 17-Cromatograma de duas amostras positivas de paracetamol e bisfenol A em águas de superfície (AS 3 e AS 6), com os seus respectivos LOQs obtidos pela técnica de BAμE seguido pela análise por UHPLC-MS/MS.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Métodos de BAμE já existentes com suas respectivas condições de extração e dessorção para análise de diferentes compostos.....	31
Tabela 2- Parâmetros avaliados durante a etapa de validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos.....	38
Tabela 3- Informações gerais dos compostos analisado com estrutura, fórmula, massa molecular, pureza, classe e pKa.....	42
Tabela 4 - Condições testadas para a otimização da confecção do dispositivo BAμE.	45
Tabela 5 - Sorventes testados para o ensaio de extração e dessorção.....	47
Tabela 6- Condições utilizadas para a avaliação dos parâmetros gerados utilizando o planejamento de composto central.....	49
Tabela 7- Gradiente linear da fase móvel	52
Tabela 8- Compostos em estudo, respectivo tempo retenção, íon precursor, íon produto, modo de ionização, energia do cone e colisão para cada transição SRM.	53
Tabela 9 – Coeficiente de determinação e faixa linear para a curva preparada na matriz branco fortificada.	69
Tabela 10- Resultados de recuperação e RSD para os ensaios de repetibilidade e precisão intermediária em diferentes níveis de fortificação.	71
Tabela 11 – Valores de LOQ e LOD obtidos na validação.....	74
Tabela 12- Concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$) de contaminantes emergentes em amostras reais em águas de superfície.	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A _μ E	Microextração estática de adsorção, do inglês <i>adsorptive microextraction</i>
ACN	Acetonitrila
BA _μ E	Microextração adsorptiva em barra, do inglês <i>bar adsorptive microextraction</i>
C ₁₈	Sílica modificada com hidrocarboneto linear C ₁₈ , octadecilsilano
CCD	Planejamento de composto central, do inglês <i>Central Composite Design</i>
CE-DAD	Eletroforese capilar com detecção por arranjo de diodos, do inglês <i>Capillary electrophoresis with diode array detector</i>
DCM	Diclorometano
RSD	Desvio Padrão Relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
ESI (+)	Ionização por Eletronebulização no modo positivo, do inglês <i>Electrospray Ionization Positive Mode</i>
ESI (-)	Ionização por Eletronebulização no modo negativo, do inglês <i>Electrospray Ionization Negative Mode</i>
GC	Cromatografia Gasosa, do inglês <i>Gas Chromatography</i>
GCB	Carbono grafitizado, do inglês <i>graphitized carbon black</i>
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry</i>
GC-MS/MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry Chromatography</i>
HAP	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, do inglês <i>Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPLC-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arranjo de diodos, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography with diode array detector</i>
LC	Cromatografia Líquida, do inglês <i>Liquid Chromatography</i>
LC-MS	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i>
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em Série, do inglês <i>Liquid Chromatography - Coupled Mass Spectrometry</i>
LOD	Limite de Detecção, do inglês <i>Limit of Detection</i>
LOQ	Limite de Quantificação, do inglês <i>Limit of Quantification</i>
MeOH	Metanol
MS/MS	Espectrometria de massas em série, do inglês <i>Tandem Mass Spectrometry</i>

N	Número de replicatas
pH	Potencial hidrogeniônico
PI	Padrão Interno
PP	Polipropileno
r^2	Coefficiente de determinação
Rpm	Rotações por minuto
SBSE	Extração sortiva com barra de agitação, do inglês <i>Stir Bar Sortive Extraction</i>
SPE	Extração em Fase Sólida, do inglês <i>Solid Phase Extraction</i>
SPME	Microextração em fase sólida, do inglês <i>Solid Phase Microextraction</i>
SRM	Monitoramento de reações múltiplas, do inglês <i>Selected Reaction Monitoring</i>
t_R	Tempo de retenção
EU	União Européia
UHPLC-MS/MS	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria, do inglês <i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography Coupled Tandem Mass Spectrometry</i>
v/v	Volume por volume
WADA	Lista proibida da agência mundial anti-doping, do inglês <i>prohibited list of the world anti-doping agency</i>
WFD	União europeia do quadro da água, do inglês <i>European Union Water Framework Directive</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1.1 Aspectos gerais	16
2.2 PRINCIPAIS CLASSES DE CONTAMINANTES EMERGENTES	17
2.2.1 Fármacos.....	18
2.2.2 Compostos estimulantes ou “lifestyle”	18
2.2.3 Plastificantes.....	19
2.2.4 Disruptores endócrinos	20
2.2.5 Retardantes de chama.....	20
2.3 EFEITOS ADVERSOS DOS CONTAMINANTES.....	21
2.4 FONTES DE CONTAMINAÇÃO	21
2.5 CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA.....	22
2.5.1 Presença dos contaminantes e vias de contaminação.....	22
2.5.2 Estudos de contaminantes emergentes em diferentes países.....	25
2.5.3 Legislação para contaminantes emergentes e prioritários em água	26
2.6 PREPARO DE AMOSTRA PARA A ANÁLISE DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA.....	27
2.6.1 Microextração adsortiva em barra (BA μ E).....	28
2.6.2 Método de determinação de contaminantes emergentes em água	33
2.6.2.1 Cromatografia	33
2.6.2.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	34
2.6.2.1.2 Espectrometria de massas.....	34
2.7 PLANEJAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL	36
2.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	37
3 MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	39
3.2 MATERIAIS, REAGENTES E SOLVENTES	40
3.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS.....	41
3.4 CONTAMINANTES EMERGENTES SELECIONADOS	41
3.5 CONFECÇÃO DA BARRA ADSORTIVA	45
3.6 TESTE DE ROBUSTEZ E ESTABILIDADE DO DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO	45
3.6.1 Teste do solvente.....	46
3.6.2 Teste de temperatura.....	46
3.6.3 Teste de pH	46

3.7 TRATAMENTO DA BARRA ADSORTIVA.....	46
3.8 ENSAIOS INICIAIS DE EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO PARA ESCOLHA DO MELHOR SORVENTE.....	47
3.9 OTIMIZAÇÃO DOS ENSAIOS DE EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO UTILIZANDO PLANEJAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL.....	48
3.10 VALIDAÇÃO DO MÉTODO EMPREGANDO BA μ E.....	50
3.11 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	52
4.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO UHPLC-MS/MS.....	52
4.2 TRATAMENTO DA BARRA ADSORTIVA.....	54
4.3 TESTES DE ROBUSTEZ E ESTABILIDADE DOS DISPOSITIVOS.....	56
4.3.1 Solvente para limpeza e extração.....	56
4.3.2 Teste de temperatura.....	58
4.3.3 Teste de pH.....	58
4.4 TESTES INICIAIS DE EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO PARA ESCOLHA DO MELHOR SORVENTE.....	59
4.5 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DO DISPOSITIVO BA μ E UTILIZANDO PLANEJAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL.....	63
4.6 VALIDAÇÃO.....	67
4.6.1 Seletividade.....	67
4.6.2 Faixa de trabalho e curva analítica.....	68
4.6.3 Exatidão e precisão.....	70
4.6.4 Limite de detecção e quantificação.....	73
4.7 APLICAÇÃO EM AMOSTRAS REAIS.....	75
5 CONCLUSÕES.....	77
DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS.....	78
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
APÊNDICE A- TABELAS COM AS CONCENTRAÇÕES DA CURVA PREPARADA NA MATRIZ BRANCO FORTIFICADA DE CADA COMPOSTO EM ESTUDO.....	91

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento tecnológico aliado ao crescimento populacional impulsionou o uso de inúmeras substâncias químicas, as quais são empregadas em nosso dia-a-dia, na indústria e na agricultura. Esses compostos são constantemente encontrados no meio ambiente e são conhecidos como contaminantes emergentes os quais são substâncias de diferentes classes e que podem estar inseridas há muito tempo no meio ambiente, todavia, estão sendo reconhecidas e tratadas com maior relevância somente nos últimos anos, devido ao avanço nas técnicas de preparo de amostra e determinação.

Esses poluentes estão inseridos em inúmeras classes químicas, podendo-se ressaltar os fármacos, hormônios, plastificantes, produtos de higiene e cuidado pessoal, retardantes de chama, dentre outros. Nos últimos anos, foram observados muitos efeitos adversos provenientes de compostos emergentes, incluindo a resistência a antibióticos, abortos espontâneos, distúrbios metabólicos e incidência de neoplasias malignas, além da indução de bactérias mais resistentes.

A avaliação das matrizes suscetíveis a essa contaminação é essencial para a inserção de novas propostas que possam auxiliar no desenvolvimento de estratégias plausíveis com o intuito de diminuir a contaminação e conseqüentemente minimizar impactos ambientais.

Os contaminantes emergentes podem ser encontrados nas mais diversas matrizes, como por exemplo, água, solo, lodo, sedimento, alimentos, dentre outros. A investigação dos resíduos remanescentes nessas amostras torna-se indispensável, uma vez que esses poluentes ocasionam efeitos nocivos para a fauna e flora.

Nas últimas décadas ocorreu um desenvolvimento expressivo nas técnicas de miniaturização tendo em vista que apresentam baixo custo, redução no tempo de análise e demonstram bons resultados se combinadas com uma instrumentação adequada. Recentemente, a microextração estática de adsorção em barra (A μ E) foi introduzida como um método alternativo para a determinação de traços de compostos polares e apolares em meio aquoso. Esta é uma tecnologia inovadora de amostragem por flutuação e demonstra excelente estabilidade e reprodutibilidade analítica para ser empregada como uma alternativa de preparo de amostra,

apresentado como vantagens altos fatores de enriquecimento dos analitos resultando na obtenção de baixos limites de detecção. A utilização desta técnica na área ambiental mostra-se uma alternativa adequada para a análise de poluentes emergentes sendo que envolve baixo consumo de solventes, resultando na menor geração de resíduos, e ao mesmo tempo apresenta resultados satisfatórios.

As técnicas cromatográficas têm sido muito empregadas na determinação de contaminantes emergentes, dentre estas, destaca-se a cromatografia líquida sendo uma das técnicas majoritárias para este tipo de determinação. Os procedimentos de enriquecimento são essenciais para complementar essa técnica a fim de obter limites de detecção baixos o suficiente para determinar compostos em níveis traços.

Assim, o desenvolvimento de novos procedimentos de preparo de amostra bem como a sua determinação mostram-se relevantes tendo em vista que no Brasil há poucos trabalhos neste âmbito demonstrando a necessidade de mais estudos nesta área. A otimização de métodos alternativos para a análise de contaminantes emergentes é uma necessidade, principalmente na matriz de água, a qual é fundamental em todos os aspectos da nossa vida. Além disso, há uma preocupação crescente com o destino de águas residuais domésticas e industriais uma vez que é constante a introdução de poluentes orgânicos emergentes no ciclo da água ocasionando efeitos adversos para saúde humana e animal.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método para a análise de contaminantes emergentes de diferentes classes (fármacos, hormônios, plastificantes, estimulantes e retardante de chama) em água utilizando a técnica de microextração adsortiva em barra (BA μ E) com posterior análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). Foi também realizada a confecção das barras adsortivas e seus testes mecânicos e de estabilidade. A otimização dos parâmetros de extração e dessorção foram realizados através de um planejamento de composto central. O método foi aplicado em amostras reais, as quais foram coletadas em diferentes regiões de Santa Maria, RS, Brasil.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

2.1.1 Aspectos gerais

A produção e liberação de compostos químicos sintéticos tornou-se uma atividade constante nos últimos 50 anos devido ao crescimento exponencial da população e dos avanços industriais. Recentemente, comunidades científicas reconheceram estes compostos - os quais foram chamados de contaminantes emergentes - como sendo substâncias que entram continuamente no meio ambiente, ocasionando perturbações em sistemas endócrinos e reprodutivos, alterando o comportamento animal e danificando tecidos (PINTADO-HERRERA et al., 2014).

Os “contaminantes emergentes”, também conhecidos como “poluentes emergentes” apresentam inúmeras definições na literatura. Porém, a definição mais empregada é que são um conjunto de substâncias naturais ou sintéticas de diversas classes químicas que vem sendo descobertas e identificadas nos últimos anos. Estes contaminantes não são necessariamente novos compostos e podem ter estado presentes por um longo tempo no meio ambiente, todavia, sua presença e implicação na integridade dos seres vivos estão sendo reconhecidas somente agora (MEFFE & BUSTAMANTE, 2014).

Os poluentes emergentes tendem a ganhar notoriedade devido a novos estudos relacionados, como por exemplo, com a ocorrência, destino e efeitos adversos que podem acarretar (DAUGHTON, 2004). Devido à aparição contínua no meio ambiente, esses compostos são caracterizados como sendo persistentes ou pseudo-persistentes. A exposição a longo prazo de alguns desses contaminantes pode ocasionar efeitos nocivos aos seres vivos (ALVAREZ et al., 2014). Esses contaminantes são considerados indicadores de atividades antropogênicas e podem ser associados à inúmeras classes de compostos orgânicos os quais são amplamente empregados pelo ser humano para diversas finalidades (RODRIGUES et al., 2014).

Vários tipos de tratamento são aplicados na remediação desses compostos. Todavia, algumas vezes não são suficientes para eliminá-los tendo em vista que apresentam propriedades lipofílicas. Estas substâncias podem estar presentes em

concentrações residuais que dependem das quantidades iniciais presentes no meio ambiente e da sua lipofilicidade (CLARKE & SMITH, 2011).

Anteriormente, estas substâncias eram desconhecidas em se tratando de concentração e/ou distribuição. Porém, estão sendo amplamente identificadas devido aos novos métodos de preparo de amostra e do aprimoramento das técnicas instrumentais (SORENSEN et al., 2015).

Um dos aspectos mais críticos em relação aos poluentes emergentes é a não existência de regulamentações que possibilitem o estabelecimento de níveis permitidos para muitas dessas substâncias, principalmente para os novos compostos que estão surgindo. A falta de normativas ocasiona o descaso em relação à disposição dessas substâncias, e conseqüentemente, a contaminação torna-se constante e de difícil controle (BOLONG et al., 2009).

Apesar do progresso na descoberta desses compostos, muitos estudos estão sendo realizados com o intuito de obter informações que forneçam dados concretos em relação à ocorrência, riscos e informações ecotoxicológicas dessas substâncias. Esses parâmetros são de extrema importância para predizer efeitos adversos à saúde do ser humano e de organismos aquáticos, os quais são os mais afetados pela contaminação (LOPEZ DE ALDA et al., 2003)

2.2 PRINCIPAIS CLASSES DE CONTAMINANTES EMERGENTES

Os contaminantes emergentes podem ser subdivididos a partir da origem, características físico-químicas, mobilidade/comportamento no ambiente aquoso e devido aos perigos associados à contaminação (STUART et al., 2012). Dentre os compostos que compõem a classe dos “emergentes”, podem-se ressaltar: fármacos, drogas de abuso, produtos de higiene e cuidado pessoal, disruptores endócrinos (esteroides e hormônios), compostos estimulantes (*lifestyle*), plastificantes, surfactantes, agrotóxicos, medicamentos veterinários, retardantes de chama, aditivos e agentes industriais, nanomateriais artificiais, dentre outros (CLARKE & SMITH, 2011).

Muitas dessas substâncias apresentam toxicidade em níveis que variam de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} para a flora aquática, fauna e/ou seres humanos. Os níveis de concentração das diversas classes de contaminantes emergentes podem persistir no

meio aquático devido as taxas de transformação ou remoção dos mesmos que podem ser equilibradas ou superadas pela sua introdução contínua no meio ambiente (YAN et al., 2014; YAN et al., 2015).

2.2.1 Fármacos

Os fármacos são compostos amplamente empregados para o uso humano e animal. A solubilidade destas substâncias em água promove uma contaminação contínua, principalmente em águas superficiais e subterrâneas fazendo com que sejam de difícil remoção, mesmo com a disponibilidade de métodos de tratamento de águas residuais e de processos de biodegradação (DOBOR et al., 2012).

Estes compostos têm sido alvo de pesquisas nos últimos anos sendo considerados contaminantes emergentes devido às suas possíveis ameaças ao ambiente aquático e a saúde humana. Segundo STUART & colaboradores (2012) e GODFREY & colaboradores (2007) diversos compostos pertencem a este grupo, podendo-se ressaltar:

- Medicamentos veterinários e antibióticos: ciprofloxacina, eritromicina, lincomicina, sulfametoxazol, tetraciclina;
- Medicamentos sob prescrição: codeína, salbutamol, carbamazepina;
- Medicamentos não prescritos: acetaminofeno (paracetamol), ibuprofeno, ácido acetilsalicílico.

Os fármacos são considerados uma das classes de contaminantes emergentes que mais atrai os pesquisadores tendo em vista o aumento no uso de medicamentos. Esses números são considerados alarmantes tanto em países desenvolvidos quanto nos subdesenvolvidos e a quantidade real de medicamentos consumidos é de difícil controle, uma vez que muitos são consumidos sem receita médica ou adquiridos ilegalmente (SILVA & COLLINS, 2011).

2.2.2 Compostos estimulantes ou “lifestyle”

São compostos amplamente utilizados pela sociedade e participam da rotina diária de muitas pessoas (PESTA et al., 2013). As substâncias majoritárias pertencentes a este grupo são a cafeína e a nicotina, as quais são amplamente detectadas em água (STUART et al., 2012). Além disso, segundo PESTA &

colaboradores (2013) a cafeína e a nicotina estão na lista de monitoramento da agência mundial anti-doping (WADA, do inglês *prohibited list of the world anti-doping agency*).

A cafeína é considerada um dos principais ingredientes de alguns produtos alimentares e medicamentos sendo uma das substâncias mais utilizadas em escala mundial. Além disso, é relativamente estável em condições ambientais variáveis e apresenta alta solubilidade e mobilidade em água (SILVA, 2014). De acordo com estatísticas europeias e norte-americanas, aproximadamente 90% da população adulta se considera usuária de café com uma média diária de consumo de cerca de 200 mg ou 2,4 mg kg⁻¹/dia (cerca de 2 xícaras de café). A cafeína é portanto, considerada a substância mais consumida e farmacologicamente ativa no mundo (PESTA et al., 2013; CROCQ, 2003).

Já a nicotina e o seu metabólito mais importante, a cotinina, são poluentes emergentes amplamente encontrados em recursos hídricos em todo o mundo (TSINISIZELI et al., 2015). A nicotina é bastante estudada principalmente devido a preocupação recorrente que se tem uma vez que esta substância pode ocasionar doenças cardiovasculares, câncer, dependência, dentre outros (CROCQ, 2003).

2.2.3 Plastificantes

Os plastificantes são compostos que compreendem a classes de ésteres de alquila, sulfonatos de naftaleno e vários outros compostos que são adicionados aos materiais tais como plásticos, argilas, gesso, dentre outros. São utilizados para melhorar as propriedades reológicas. Um dos principais problemas provenientes dessa classe é que são considerados desreguladores endócrinos (PAL et al., 2014).

Um dos plastificantes mais conhecidos é o bisfenol A o qual é amplamente produzido e regularmente detectado em ecossistemas aquáticos (principalmente em águas de superfície e potável) devido à sua liberação contínua para o meio ambiente. Anteriormente este composto era sintetizado como um estrogênio artificial, porém, atualmente é usado como monômero para a produção de plastificantes (OEHLMANN et al., 2008). Estudos recentes sugerem que a via principal para a exposição humana ao Bisfenol A é através de alimentos, bebidas e seus recipientes (plásticos, embalagens de alimentos, mamadeira, dentre outros) (LI et al., 2010).

A determinação desta classe é de extrema importância uma vez que estes tipos de compostos podem influenciar na síntese, transporte, secreção, ação, ligação ou eliminação de hormônios naturais do corpo (FATTORE et al., 2015; GARCÍA-AREVALO et al., 2014).

2.2.4 Disruptores endócrinos

Os disruptores endócrinos são agentes que interferem na síntese, secreção, transporte, ligação ou eliminação de hormônios naturais no corpo, responsáveis pela reprodução e desenvolvimento. São considerados produtos químicos ou a mistura dos mesmos, os quais podem interferir na função hormonal regular (KABIR et al., 2015). Estes disruptores podem estar presentes na forma natural ou sintética e afetam diretamente ambientes aquáticos. Os efeitos adversos ocasionados por esta classe são cumulativos e podem aparecer anos após o contato com o meio ambiente, podendo ser irreversíveis e ameaçando o desenvolvimento humano e animal (JIANG et al., 2013).

Os hormônios, como por exemplo, estrona, 17- β -estradiol, compõem esta classe de compostos. Além destes, o bisfenol está enquadrado neste grupo sendo considerado tanto um disruptor endócrino quanto um plastificante (JIANG et al., 2013).

2.2.5 Retardantes de chama

Os retardantes de chama são produtos químicos adicionados aos têxteis, espumas de poliuretano, termoplásticos, produtos eletrônicos e materiais de construção para aumentar a resistência ao fogo (WIDELKA et al., 2016). Estes compostos podem entrar nos sistemas aquáticos através do lançamento em águas residuais, industriais ou municipais, efluentes de estações de tratamento ou por escoamento superficial. Ressalta-se que os seres humanos podem sofrer contaminação através da ingestão de peixes contaminados (PÉREZ-FUENTETAJA et al., 2010).

O tetrabromobisfenol A (TBBPA) tem despertado um grande interesse nos últimos anos devido a sua ampla utilização, o que acarreta riscos potenciais para o meio ambiente e saúde humana. Sua ocorrência na água, solo e sedimento são comumente relatadas. Considerando que a utilização de materiais com TBBPA é

extensa (espumas de poliestireno, polímeros, resinas, poliésteres termoplásticos, poliuretano, laminados e fibras de poliéster) os níveis de concentração deste retardante de chama aumenta de forma significativa. Sendo assim, ressalta-se a urgência de detectar este contaminante para verificar os níveis em que estão presentes no meio ambiente, de modo a minimizar seu uso e conseqüentemente, diminuir impactos ambientais (LIU et al., 2016).

2.3 EFEITOS ADVERSOS DOS CONTAMINANTES

Nos últimos anos, foram observados muitos efeitos adversos provenientes de compostos emergentes, incluindo a resistência a antibióticos, abortos espontâneos, distúrbios metabólicos e incidência de neoplasias malignas, além da indução de bactérias mais resistentes. Essas implicações foram observadas em seres humanos, animais e outros organismos podendo ocasionar alterações das respostas biológicas mesmo presentes em baixas concentrações (GUEDES et al., 2014; LAPWORTH et al., 2012; SILVA & COLLINS, 2011).

A persistência desses compostos no meio ambiente e a alta atividade biológica os tornam prejudiciais tanto em altas quanto em baixas concentrações (SECONDES et al., 2014). Os riscos ecológicos mais significantes incluem alterações endócrinas (YANGALI-QUINTANILLA et al., 2010a; WIELOGÓRSKA et al., 2015) aumento da resistência aos medicamentos microbianos (ANDERSSON & HUGHES, 2012) absorção pelas plantas (CALDERÓN-PRECIADO et al., 2011) e alterações na cadeia alimentar (FARRÉ & BARCELÓ, 2013).

Essas substâncias podem ocasionar diversos efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente, contudo, os perigos para a saúde humana de alguns compostos não são disseminados bem como a sua persistência no meio ambiente (STUART et al., 2012).

2.4 FONTES DE CONTAMINAÇÃO

Um dos maiores problemas no âmbito dos contaminantes emergentes é a carência de conhecimento quanto aos impactos que estes podem ocasionar ao meio

ambiente, com ênfase no meio aquático e para a saúde do ser humano (DEBLONDE et al., 2011). Tendo em vista esses aspectos, faz-se necessário um estudo que permita identificar as principais fontes de contaminação com o intuito de prevenir riscos iminentes.

Estes compostos podem entrar no meio ambiente através de uma série de fontes e vias: efluentes de estações de tratamento de águas residuais; fossas sépticas; efluentes hospitalares; atividades pecuárias e aplicações de agrotóxicos com consequente contaminação em lagoas e solo; resíduos domésticos e industriais, dentre outros (SOUSA et al., 2014; ESTÉVEZ et al., 2012; ROBLES-MOLINA et al., 2014).

A remoção de contaminantes emergentes é bastante difícil tendo em vista que muitas vezes as tecnologias existentes não são disponíveis para efetuar um tratamento adequado. Por esse motivo, é de extrema importância a identificação de intermediários, produtos de degradação e a avaliação da toxicidade resultante de atividade biológicas. A pesquisa desses fatores juntamente com a química analítica torna-se uma ferramenta poderosa para a descoberta de novos aspectos referentes a esses contaminantes (RICHARDSON & TERNES, 2011).

2.5 CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA

2.5.1 Presença dos contaminantes e vias de contaminação

O destino de águas residuais domésticas e industriais (tratadas ou não tratadas) nos recursos hídricos são uma preocupação crescente uma vez que é constante a introdução de poluentes orgânicos emergentes no ciclo da água. Como resultado dessa contaminação, surgem consequências alarmantes podendo-se destacar a possível inibição do crescimento de células embrionárias humanas, decréscimo na reprodução de seres aquáticos e feminização de peixes (YANGALI-QUINTANILLA et al., 2010b).

As mudanças no contexto ambiental causadas devido ao forte desenvolvimento de atividades econômicas e urbanas são também consideradas fatores que impulsionam a degradação dos recursos hídricos. As regiões que apresentam alta industrialização e que necessitam de uma alta demanda de água para usos múltiplos

enfrentam diversos problemas referentes à qualidade e disponibilidade de água (SOUSA et al., 2014).

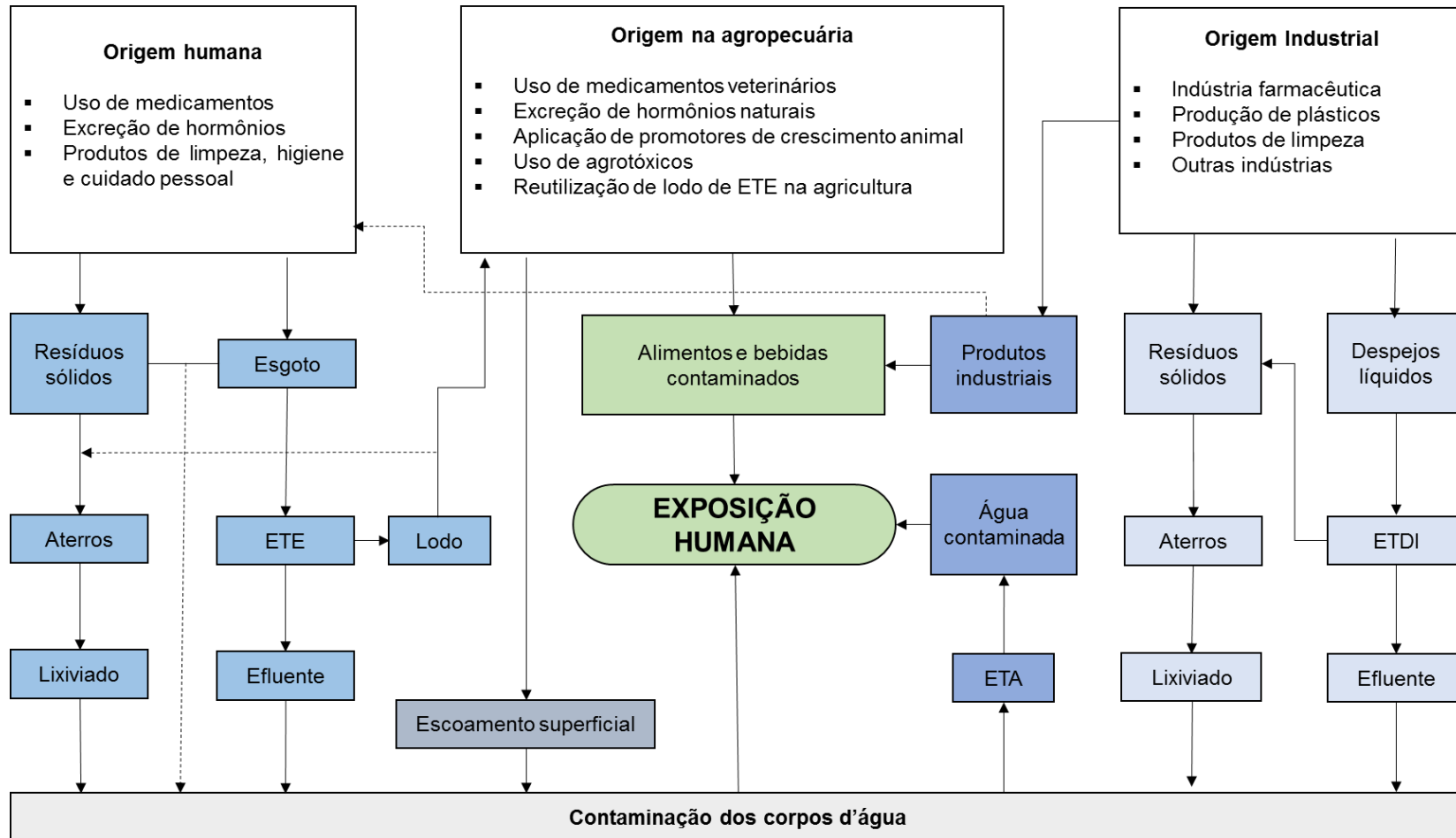
Os micropoluentes orgânicos presentes em águas marinhas representam uma ameaça para o ambiente aquático tendo como efeitos principais a toxicidade aguda e crônica para os organismos aquáticos, a acumulação no ecossistema, perda da biodiversidade e ameaças à saúde humana (SANCHEZ-AVILA et al., 2012; JIANG et al., 2014).

Segundo GEISSEN & colaboradores (2015), atualmente pode-se verificar a presença de mais de 700 contaminantes emergentes, incluindo os seus metabólitos e produtos de transformação no ambiente aquático. Muitos destes contaminantes são sintéticos ou ocorrem naturalmente, e a contaminação é proveniente da liberação contínua destes compostos no meio ambiente.

Os resíduos de contaminantes emergentes encontrados são de fármacos, produtos de higiene e cuidado pessoal e as drogas ilícitas. Alguns desses compostos estão amplamente presentes no lixo hospitalar, estações de tratamento de esgoto, rios e águas subterrâneas uma vez que são amplamente empregados em terapias humanas, uso ilícito de drogas, medicina veterinária, agricultura e aquicultura (LAPWORTH et al., 2012; JIANG et al., 2014; MEFFE & BUSTAMANTE, 2014). As principais vias de contaminação destes compostos podem ser visualizadas na Figura 1.

Apesar de muitos dos contaminantes emergentes já serem reconhecidos, espera-se que a lista desses compostos aumente com o desenvolvimento de novos produtos da indústria e com os novos métodos analíticos para a sua detecção (MEFFE & BUSTAMANTE, 2014; RICHARDSON & TERNES, 2011).

Figura 1 – Principais rotas de liberação de contaminantes emergentes para o meio ambiente.



Fonte: adaptado de AQUINO et al., 2013. ETE: estação de tratamento de efluente; ETA: estação de tratamento de água; ETDI: estação de tratamento de despejo industrial.

2.5.2 Estudos de contaminantes emergentes em diferentes países

A avaliação dos contaminantes emergentes em águas é muito importante para obter um maior conhecimento quanto a sua ocorrência, destino e transporte no meio ambiente. Estudos realizados em vários países demonstram as preocupações recorrentes da contaminação da água por contaminantes emergentes. Dentre os países mais estudados, pode-se ressaltar: África (SORENSEN et al., 2015), Austrália (BIRCH et al., 2015), Bélgica (CLAESSENS et al., 2013), China (YAN et al., 2015), Espanha (CORADA-FERNÁNDEZ et al., 2015), França (LOPEZ et al., 2015), Grécia (THOMAIDI et al., 2015), Itália (MEFFE & BUSTAMANTE, 2014), Japão (TANABE & RAMU, 2012) e Reino Unido (STUART et al., 2012).

Além destes estudos, JIANG e colaboradores (2013) coletaram dados gerais sobre a presença de contaminantes emergentes analisando sobre diferentes perspectivas pesquisas realizadas em 14 países. A partir desta avaliação pode-se verificar que no geral, mais de 80 tipos de produtos farmacêuticos, produtos de higiene pessoal e disruptores endócrinos foram detectados em águas de diferentes tipos, como por exemplo, efluente bruto e tratado, rios, lagos, mares, sedimentos e até mesmo em água da torneira.

A partir desta avaliação pode-se observar que quase todas as investigações sobre a ocorrência de contaminantes emergentes em águas residuais e de superfície têm sido realizadas em países norte-americanos e europeus.

Todavia, considerando que no geral, grande parte da população não têm acesso a um saneamento adequado, a realização de um monitoramento eficaz se faz necessária a fim de se obter dados mais concretos sobre a contaminação (LOCATELLI et al., 2011).

O Brasil vem enfrentando vários problemas de poluição em recursos hídricos, ocasionando assim, preocupações ambientais e de saúde pública. A descarga de esgoto é considerada uma das fontes de poluição mais críticas do país podendo-se agravar nas áreas com rios intermitentes ou águas superficiais com baixa capacidade de diluição (OLIVEIRA et al., 2015; SODRÉ et al., 2010).

CAMPANHA & colaboradores (2015) relataram um estudo (no período de 3 anos) sobre a ocorrência de fármacos, hormônios e triclosan em águas de superfície de uma região urbana central em São Paulo. Os compostos mais frequentemente detectados foram cafeína, paracetamol e atenolol enquanto os hormônios estrona e

17- β -estradiol foram também detectados, porém com menor frequência. SODRÉ, LOCATELLI & JARDIM (2010) investigaram a ocorrência de contaminantes emergentes em água potável na cidade de Campinas. Seis contaminantes emergentes (estigmasterol, colesterol, bisfenol A, cafeína, estrona e 17- β -estradiol) foram encontradas nas amostras. LOPES & colaboradores (2016) desenvolveram um método para monitorar contaminantes emergentes em água de rio na cidade do Rio de Janeiro. Os compostos paracetamol, ácido salicílico e bisfenol A foram detectados em todos os rios avaliados enquanto o diclofenaco foi encontrado em apenas um.

2.5.3 Legislação para contaminantes emergentes e prioritários em água

Uma das principais diferenças entre poluentes prioritários e emergentes é que os primeiros, consistem em metais pesados, compostos organo halogenados (principalmente agrotóxicos) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH, do inglês *polycyclic aromatic hydrocarbons*). Já os contaminantes emergentes incluem principalmente os fármacos, agrotóxicos polares, produtos de higiene pessoal, hormônios e estimulantes (ROBLES-MOLINA et al., 2014).

Visando um melhor controle da problemática proveniente dos poluentes prioritários em água, a União Europeia estabeleceu critérios de monitoramento. Em particular, há uma preocupação majoritária em relação à presença de substâncias prioritárias em águas de superfície. Sendo assim, a Diretiva da União Europeia do Quadro da Água (WFD do inglês *European Union Water Framework Directive*) criou a diretiva 2000/60/EC, a qual visa comprometer os estados membros da União Europeia a alcançar um bom estado ecológico e químico de todos os tipos de corpos d'água.

Nessa diretiva foi estabelecido inicialmente uma lista de 33 compostos prioritários (Decisão nº 2455/2001/EC). As substâncias prioritárias ou grupos de substâncias que compõem esta lista são: metais, agrotóxicos, ftalatos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e desreguladores endócrinos. Posteriormente, essa lista aumentou para 45 compostos, indicado na Diretiva 2013/39/EU (ROBLES-MOLINA et al., 2014; DEBLONDE et al., 2011).

Diferente das substâncias prioritárias, os contaminantes emergentes ainda não apresentam legislação definida, porém, estudos apontam que os poluentes emergentes podem futuramente ingressar na lista de substâncias prioritárias (ROBLES-MOLINA et al., 2014).

Segundo a Diretiva 2013/39/EU, faltam dados em relação aos contaminantes emergentes em água uma vez que muitos não estão incluídos nos programas sistemáticos da União Europeia. No entanto, estes poluentes podem apresentar riscos significativos e requerem regulamentação, dependendo de seus potenciais efeitos ecotoxicológicos e toxicológicos.

Ressalta-se ainda que um novo mecanismo de controle é necessário para fornecer à Comissão informações específicas de monitoramento sobre a concentração de poluentes emergentes no ambiente aquático, tendo em vista que atualmente os dados de monitoramento são insuficientes. A lista que está prevista pela União Europeia deverá ser dinâmica e a validade da mesma será limitada e suficiente para responder às novas informações sobre os potenciais riscos decorrentes de poluentes emergentes, evitando o monitoramento destas substâncias por mais tempo do que o necessário (Diretiva 2013/39/EU).

2.6 PREPARO DE AMOSTRA PARA A ANÁLISE DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA

Dentre os procedimentos descritos na literatura, pode-se ressaltar que a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) é uma das técnicas que mais empregadas, principalmente em se tratando da matriz água (ROBLES-MOLINA et al. 2014; GROS, et al., 2009; GRUJIĆ et al., 2009; PAIGA et al., 2015; SOUSA et al., 2014; CASTRO-CATALÀ et al., 2015; RODIL et al., 2009).

Nas últimas duas décadas pode-se acompanhar um desenvolvimento expressivo nas técnicas de miniaturização uma vez que são consideradas pouco dispendiosas, de fácil manipulação e demonstram perspectivas satisfatórias se combinadas com a detectabilidade da instrumentação analítica atual (NOGUEIRA, 2013; AHMAD et al., 2014).

Nos últimos anos, a utilização de técnicas sortivas de extração aumentaram consideravelmente podendo-se destacar o uso da microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*) e da extração sortiva em barra de agitação (SBSE, do inglês *stir bar sorptive extraction*), as quais são caracterizadas por utilizarem pouca quantidade de solventes.

Apesar destas técnicas de microextração mostrarem-se bastante adequadas para a determinação de diversos tipos de substâncias, se os analitos de interesse apresentam características polares, ou seja, coeficientes de partição octanol-água inferior a três ($\log K_{ow} < 3$), e a eficácia da extração pode ser prejudicada (AHMAD et al., 2014).

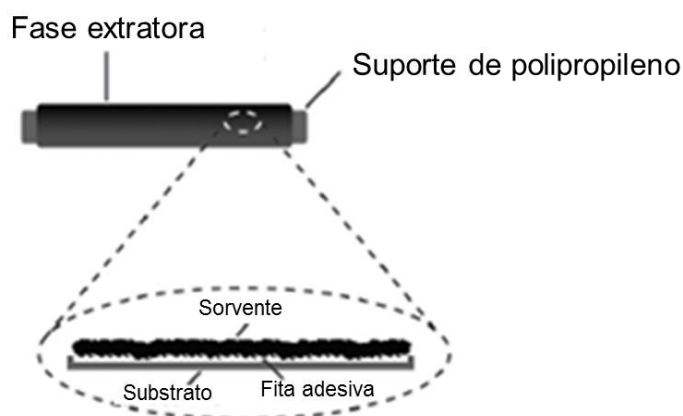
Recentemente, a técnica de microextração estática de adsorção (A μ E) vem ganhando espaço por ser uma metodologia alternativa para a análise em nível de traços em compostos polares e apolares em meio aquoso.

2.6.1 Microextração adsortiva em barra (BA μ E)

A microextração adsortiva em barra (BA μ E, do inglês *bar adsorptive microextraction*) é uma tecnologia inovadora de amostragem por flutuação e demonstra excelente estabilidade e reprodutibilidade analítica para ser empregada como uma técnica alternativa de extração apresentando como vantagem o enriquecimento dos analitos em análises de rotina.

Segundo NOGUEIRA (2013), a forma mais usual de configuração geométrica destes dispositivos de extração é a forma cilíndrica. Neste tipo de geometria, os sorventes constituídos por um pó finamente divididos são fixados com adesivos em um suporte adequado à base de polipropileno (PP) com formato de barra cilíndrica, conforme demonstrado na Figura 2.

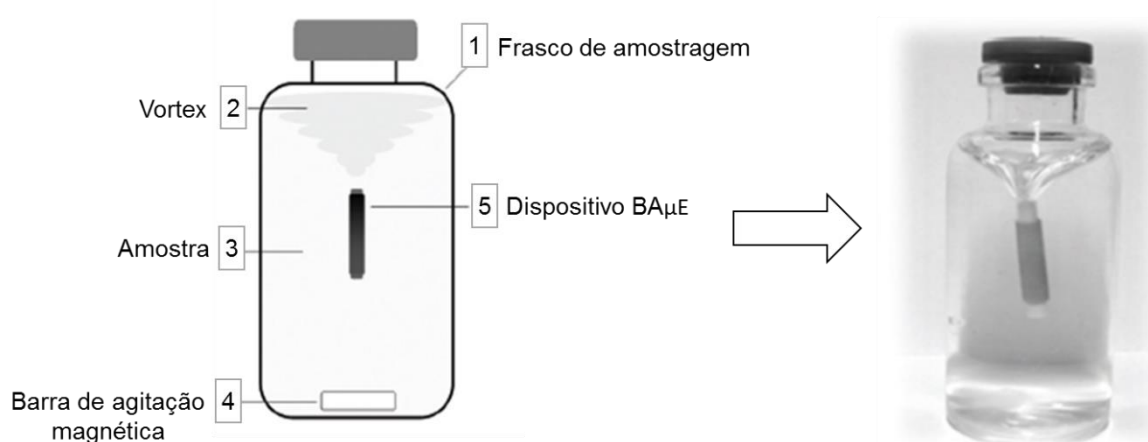
Figura 2 – Dispositivo com fase extratora suportada em tubo de polipropileno.



Fonte: adaptado de NOGUEIRA (2013).

Tendo em vista a baixa densidade do suporte utilizado na extração, uma das principais vantagens é a facilidade do dispositivo analítico flutuar imediatamente abaixo do vortex formado pela agitação gerada por uma barra de agitação convencional (Figura 3). Desta forma evita-se a desagregação mecânica das partículas de sorvente do microcoletor, uma vez que não há contato com as paredes e com o fundo do frasco de amostragem, tendo como consequência, o aumento do tempo médio de vida do dispositivo.

Figura 3- Partes básicas do sistema BA μ E.



Fonte: Adaptado de NOGUEIRA (2013).

Dentre as principais vantagens que a técnica de BA μ E oferece, pode-se destacar: redução no uso de solvente; possibilidade de uma maior variedade de sorventes para revestir o dispositivo de extração (como por exemplo, carvão ativado, polímeros, dentre outros); alternativa notável para a análise de traços de compostos polares ou de média polaridade em meio aquoso; e alta eficiência de extração nos mais diversos tipos de matrizes (AHMAD et al., 2014; ALMEIDA & NOGUEIRA, 2012; NENG et al., 2010).

Além dessas vantagens, recentemente pôde-se verificar na literatura que novas melhorias foram propostas a fim de otimizar condições previamente relatadas, destacando-se a redução do tamanho do dispositivo de análise, minimizando o volume de líquido de dessorção para o nível de μ L. Outras características promissoras são a miniaturização do dispositivo BA μ E utilizando uma menor quantidade de adsorvente sem prejudicar o desempenho analítico. Além disso, a redução de solvente é mais

favorável ambientalmente, juntamente com alta eficácia, tornando o processo analítico mais rápido e simples (DIAS et al., 2015).

Conforme NOGUEIRA (2013), a BAμE tem sido aplicada de forma satisfatória para a determinação residual de poluentes emergentes e prioritários com ênfase na área ambiental, farmacêutica, alimentar, forense, biomédica, dentre outras. Além disso, enfatiza-se que a BAμE mostra eficácia levando em consideração a particularidade de cada substância de interesse. Ressalta-se ainda que esta técnica vem sendo aplicada como uma alternativa às técnicas convencionais ou bem estabelecidas já existentes.

2.6.1.1 Aplicações da BAμE

De modo geral, a maioria das aplicações envolvendo a técnica de BAμE tem como objetivos ser uma alternativa às técnicas convencionais ou bem estabelecidas que envolvam a etapa de enriquecimento. Uma das principais dificuldades na aplicação desta técnica é que a mesma pode ser afetada devido a complexidade das matrizes envolvidas. Sendo assim, qualquer metodologia que envolva a BAμE, deve ser otimizada e validada a fim de verificar o comportamento de interferentes que possam ocasionar efeitos de matriz (NOGUEIRA, 2013).

Na Tabela 1 são demonstradas as principais aplicações envolvendo esta técnica, podendo-se ressaltar a determinação residual de compostos orgânicos emergentes e prioritários nas seguintes áreas: ambiental, alimentícia, farmacêutica, biomédica, dentre outras.

Tabela 1 – Métodos de BAμE já existentes com suas respectivas condições de extração e dessorção para análise de diferentes compostos.

Analitos	Matriz	Sorvente	Teste de estabilidade química e mecânica					LOQ (μg L ⁻¹)	Detecção	Referência
			Solvente	Agitação (rpm)	Tempo de equilíbrio (h)	pH	Sonicação (min)			
Testosterona e epitestosterona	Urina	<i>N</i> -vinilpirrolidona	Acetonitrila	1000	16	5,5	30	1,3	HPLC-DAD	AHMAD et al., 2014.
10 fungicidas	Água e vinho	Pirrolidona modificada	Metanol: acetonitrila 1:1 (v/v)	1000	4	5,5	15	0,7-3,3	GC-MS	ALMEIDA & NOGUEIRA, 2012.
4 parabenos	Água, urina, creme para mãos e corpo	Carvão ativado	Metanol: acetonitrila 1:1 (v/v)	1000	16	5,5	45	0,3	HPLC-DAD	ALMEIDA & NOGUEIRA, 2014.
4 benzofenonas	Água, cosméticos e urina	Carvão ativado e pirrolidona modificada	Metanol: acetonitrila 1:1 (v/v)	1000	4 ou 16	5,5	15 ou 30	1,0-1,6	HPLC-DAD	ALMEIDA et al., 2013.
3 inseticidas	Água	Carvão ativado	Acetonitrila	1000	16	2,0	15	0,026-0,066	GC-MS	ALMEIDA et al., 2014.

Teste de estabilidade química e mecânica										
Analitos	Matriz	Sorvente	Solvente	Agitação (rpm)	Tempo de equilíbrio (h)	pH	Sonicação (min)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Deteção	Referência
3 herbicidas	Água	Carvão ativado	Acetonitrila	1000	16	5,0 e 10,0	45	0,30-0,36	HPLC-DAD	NENG et al., 2011.
Mitraginina	Urina	<i>N</i> -vinilpirrolidona	Metanol: acetonitrila 1:1 (v/v)	1300	4	5,5	10	0,33	HPLC-DAD	NENG et al., 2015.
Morfina e Codeína	Urina	Carvão ativado	Metanol: acetonitrila 1:1 (v/v)	1000	2,5	10,0	-	0,2-2,9	HPLC-DAD	GONÇALVES et al., 2012.
9 hormônios	Água e urina	Pirrolidona modificada	Metanol: acetonitrila 1:1 (v/v)	1250	16	5,5	30	0,165-0,330	HPLC-DAD	ALMEIDA & NOGUEIRA, 2015.
6 fármacos e produtos de higiene pessoal	Água	Carvão ativado	Metanol: acetonitrila 1:1 (v/v)	1000	16	5,0	45	2,0-8,4	GC-MS	NENG & NOGUEIRA, 2012.
4 ácidos fenólicos	Chá verde, suco de frutas vermelhas e mel	Oasis MAX	Metanol	750	3	6,0	30	61,2-272,5	CE-DAD	NENG et al., 2014.

2.6.2 Método de determinação de contaminantes emergentes em água

Várias técnicas analíticas estão sendo estudadas com o intuito de desenvolver e otimizar métodos de detecção e quantificação das classes que compõem os contaminantes emergentes. Neste contexto, os métodos de análise multirresíduo mostram-se adequados e vantajosos por minimizar tempo e custo, todavia, estudos são necessários para que a detecção destes compostos seja eficaz (PINTADO-HERRERA et al., 2014).

A análise de poluentes emergentes mostra-se bastante desafiadora uma vez que apresenta limitações, como por exemplo, a falta de métodos para a quantificação de analitos, estando esses, presentes em baixas concentrações. A análise desses poluentes era anteriormente escassa, todavia, o desenvolvimento de metodologias analíticas para diferentes classes de contaminantes emergentes está ganhando espaço e um número crescente de métodos está sendo descrito na literatura.

Os aspectos que ainda necessitam de otimização nesse âmbito referem-se às melhorias na sensibilidade e seletividade, especialmente para matrizes muito complexas, como águas residuais (PETROVIĆ et al., 2003).

2.6.2.1 Cromatografia

Os métodos analíticos mais usuais na detecção e quantificação de contaminantes emergentes são a cromatografia líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) e a cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*), ambas acopladas à espectrometria de massas (MS, do inglês *mass spectrometry*). A espectrometria de massas em série (MS/MS) tem sido a mais utilizada tendo em vista que auxilia na discriminação da interferência promovida por substâncias co-eluídas e proporciona uma alta detectabilidade, facilitando a detecção compostos orgânicos residuais. A escolha entre a técnica de LC e GC vai depender das propriedades físico-químicas e da termoestabilidade dos analitos de interesse (PICOT GROZ et al., 2014).

2.6.2.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência

A tecnologia em relação à técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) tem sido constantemente otimizada. Durante muitos anos, a análise de micro-contaminantes foi realizada através da cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta (HPLC-UV), no entanto, após a introdução de ionização à pressão atmosférica, a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS) passou a ser amplamente empregada (RODRIGUEZ-MOZAZ et al., 2007).

Atualmente, tem-se uma tendência contínua na utilização da cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC, do inglês *ultra high performance liquid chromatography*), a qual utiliza colunas de diâmetro mais estreito, curtas e empacotadas com partículas com um diâmetro inferior ($\leq 2 \mu\text{m}$). A técnica de UHPLC permite análises mais rápidas, com melhor resolução e picos relativamente mais estreitos se comparados às metodologias de HPLC convencionais (PAÍGA et al., 2015).

2.6.2.1.2 Espectrometria de massas

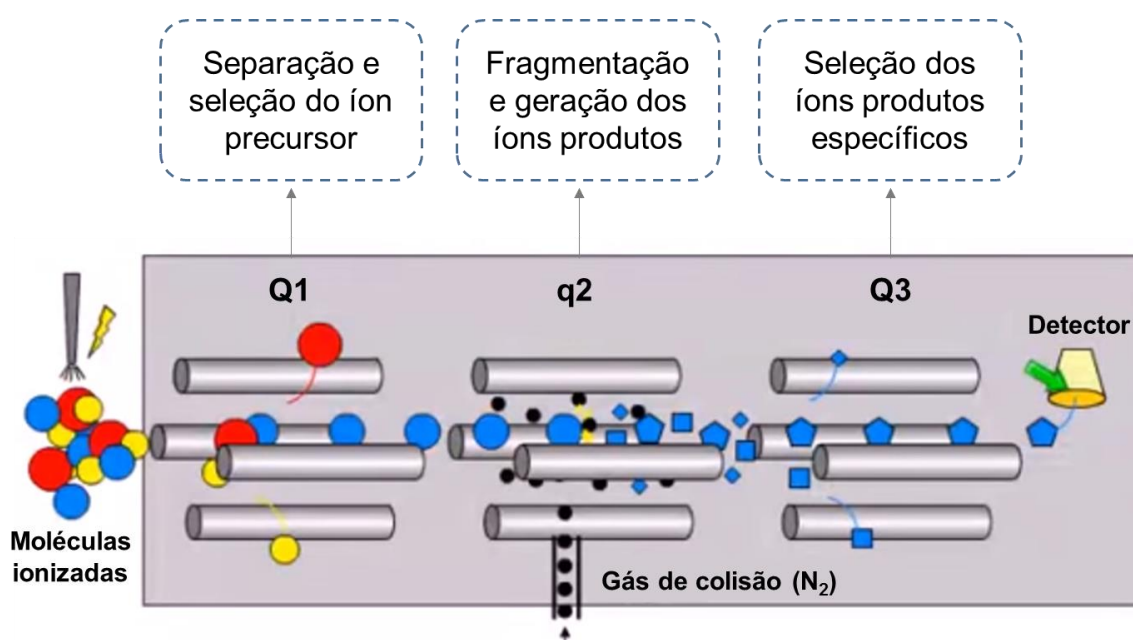
O princípio básico da espectrometria de massas (MS) envolve a geração de íons podendo ser tanto de compostos orgânicos quanto de inorgânicos através de métodos adequados, que possam separar estes íons pela sua razão massa/carga (m/z) e que sejam efetivos na detecção qualitativa e quantitativa pelos respectivos m/z e abundância. O analito pode ser ionizado termicamente, por campos elétricos ou por impacto de elétrons energéticos, íons ou fótons. Os íons podem ser átomos individuais ionizados, *clusters*, moléculas ou seus fragmentos ou associados. A separação de íons pode ser efetuada por campos elétricos ou magnéticos estáticos ou dinâmicos (GROSS, 2004).

A fonte de ionização mais usual para LC-MS é a “electrospray” (ESI, do inglês, *electrospray ionization*). Nesse modo de ionização uma diferença de potencial é aplicada entre a ponta do tubo de metal e um cone de amostragem gerando um “spray”, o qual é composto por gotículas do analito na fase móvel e o gás nebulizador. Após esta etapa, o solvente é evaporado diminuindo sucessivamente o tamanho da gotícula até ocorrer a evaporação dos íons do analito e posterior direcionamento dos

mesmos para o cone de amostragem. Por fim, os íons chegam ao analisador de massas (LANÇAS, 2009).

A utilização de um analisador de massas do tipo triplo quadrupolo (TQ), com o modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM, do inglês *selection reaction monitoring*) é uma alternativa bastante empregada para a análise de diversas matrizes. Neste sistema (Figura 4) tem-se primeiramente a seleção do íon precursor no primeiro quadrupolo (Q1); após, estes íons são fragmentados na célula de colisão (q2), geralmente através da colisão com um gás inerte; por fim, realiza-se a seleção dos fragmentos específicos (íons produto) no quadrupolo 3 (Q3). Desta forma, tem-se um aumento da detectabilidade e seletividade da análise no equipamento (CHIARADIA; COLLINS & JARDIM, 2008).

Figura 4 - Esquema de um analisador de massas do tipo triplo quadrupolo.



Fonte: Adaptado de Thermo Scientific Webinar.

O acoplamento MS/MS foi muito bem recebido em se tratando de seletividade e sensibilidade. Sendo assim, técnicas de processamento de amostras mais complexas poderiam ser significativamente simplificadas (KAUFMANN, 2014). Neste contexto, a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em série (LC-MS/MS) tornou-se uma das técnicas analíticas preferenciais para a determinação de

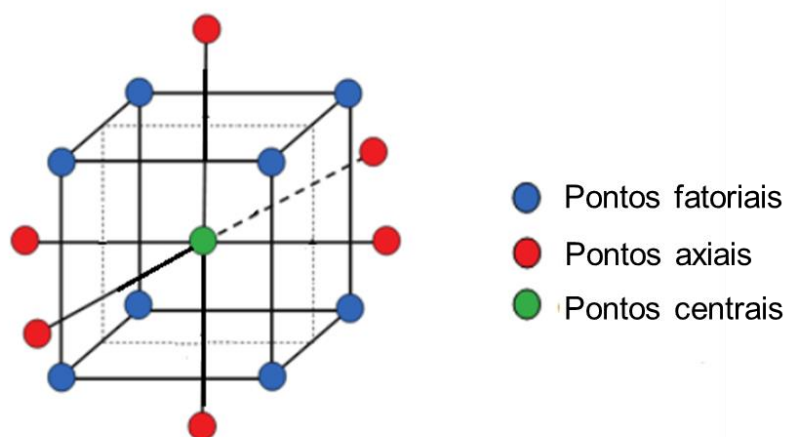
vários tipos de compostos, ressaltando-se os fármacos em amostras ambientais, devido à sua elevada seletividade e sensibilidade (PAÍGA et al., 2015).

No caso particular de poluentes emergentes, para a maioria das classes destas substâncias, a LC-MS e a LC-MS/MS são as técnicas majoritárias de escolha. O procedimento de pré-concentração é bastante usual para complementar essas técnicas e auxiliam na obtenção de limites de detecção baixos o suficiente para determinar compostos em níveis ultratraços uma vez que os contaminantes emergentes, especialmente fármacos, estão normalmente presentes no ambiente na faixa de ng L^{-1} ou $\mu\text{g L}^{-1}$ (RODRIGUEZ-MOZAZ et al., 2007).

2.7 PLANEJAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL

A otimização simultânea de experimentos é uma maneira prática e útil de planejamento se comparado a análise de variáveis individualmente tendo em vista que desta forma minimiza-se o número de experimentos. O método de planejamento de composto central (CCD, do inglês *central composite design*) é uma forma de otimização simultânea das condições de análise, que consiste em avaliar pontos fatoriais, axiais e centrais obtendo as interações e efeitos principais entre as variáveis, conforme demonstrado na Figura 5. Neste caso, os pontos centrais são geralmente repetidos a fim de obter uma estimativa do erro experimental, enquanto os pontos axiais determinam os termos quadráticos da equação, permitindo a estimativa do modelo de superfície de resposta (DASHAMIRI et al., 2016).

Figura 5- Principais pontos de um planejamento de composto central.



A CCD é considerada uma abordagem matemática valiosa e pode ser utilizada na otimização de diversos parâmetros. Este tipo de planejamento não só otimiza o processo como também reduz o custo e tempo requerido para o desenvolvimento experimental, diminuindo o número de experimentos a serem realizados no laboratório (KIRAN et al., 2016).

Ressalta-se ainda que promover o uso de metodologias de superfície de resposta auxilia também na identificação das condições ideais de diversas variáveis em um único conjunto de combinação de experimentos (KIRAN et al., 2016). A metodologia de superfície de resposta é um conjunto de técnicas matemáticas e estatísticas que se baseia no ajuste de uma equação polinomial a partir dos dados experimentais. Estes dados tem o objetivo de descrever o comportamento de um conjunto parâmetros a fim de fazer previsões estatísticas. Este tipo de modelo pode também ser aplicado quando uma resposta ou um conjunto de respostas são influenciados por diversas variáveis (BEZERRA et al., 2008).

2.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A confiabilidade de dados analíticos é um parâmetro imprescindível para a interpretação correta de estudos científicos e de trabalhos de rotina. Quando a confiabilidade de um método é comprometida pode-se ocasionar falsas interpretações dos resultados e conclusões difíceis de serem justificadas. Se os erros presentes não são óbvios, podem permanecer indetectáveis, e conseqüentemente, prejudicar os resultados das análises (PETERS et al., 2007). Neste contexto, a validação tenta atender de forma criteriosa a realização de ensaios permitindo resultados confiáveis.

A validação pode ser definida como sendo uma comprovação, através de evidências objetivas, de que os requisitos para uma determinada aplicação ou uso específicos foram alcançados (INMETRO, 2011). O intuito de uma validação é evidenciar que um método elaborado é apropriado para a finalidade pretendida, podendo ser no âmbito de determinações qualitativas, semi-quantitativas e/ou quantitativas de fármacos e outras substâncias (ANVISA, 2003).

As características de desempenho ou os parâmetros de validação podem revelar se um método é adequado para as análises almejadas. A inclusão de determinados parâmetros de validação irá depender da aplicação, do tipo de amostra,

objetivo do método, orientações e/ou regulamentos nacionais ou internacionais, conforme a necessidade do analista (ROGERS, 2013).

Alguns dos parâmetros envolvidos no processo de validação estão destacados na Tabela 2.

Tabela 2- Parâmetros avaliados durante a etapa de validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos.

Parâmetro	Definição	Aplicação	Referência
Seletividade	Distinção de resposta entre analitos.	Extração de matriz “branco”	INMETRO
Linearidade	Correlação entre resposta analítica e concentração	Curva Analítica ($y = ax + b$)	INMETRO ANVISA
Faixa Linear de trabalho	Intervalo de concentrações em que y e x correlacionam-se linearmente	Curva Analítica ($y = ax + b$)	INMETRO ANVISA
LOD	Concentração limite de distinção entre analito e ruído	S/R = 3	INMETRO ANVISA
LOQ		S/R = 10	
Precisão	Proximidade de resultados obtidos por diferentes amostragens	Repetibilidade e Reprodutibilidade	INMETRO ANVISA
Exatidão	Proximidade de resultado em relação a uma referência	Ensaio de fortificação	INMETRO ANVISA

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento da parte experimental deste estudo foi realizado no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria.

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

- ✓ Agitador vortex Biomixer, modelo QL-901 (Brasil);
- ✓ Agitador magnético múltiplo de 6 posições, modelo SP Labor (Brasil);
- ✓ Agitador magnético múltiplo de 15 posições, modelo SP Labor (Brasil);
- ✓ Balança analítica Shimadzu, modelo APX-200 - (Japão);
- ✓ Balança analítica Shimadzu, modelo UX420H - (Japão);
- ✓ Balança analítica Shimadzu, modelo AUW 220D - (Japão);
- ✓ Micropipetadores automáticos com capacidade variável marca Brand - (Alemanha) e marca Eppendorf - (Canadá);
- ✓ Purificador de água Milli-Q Direct 3UV - resistividade 18,2 MΩcm - (França);
- ✓ Sistema UHPLC-MS/MS equipado com:
 - Cromatógrafo líquido Waters (EUA);
 - Coluna analítica ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 1,7 μm - 2,1 x 50 mm, Waters (EUA);
 - Detector MS do tipo Triplo Quadrupolo, modelo Xevo TQ (EUA);
 - Interface/Fonte de Ionização por eletronebulização (EUA);
 - Compressor de nitrogênio Atlas (EUA);
 - Gerador de nitrogênio PEAK NM30L-MS (Peak Scientific, Escócia)
 - Sistema controlador de solventes (sistema binário de bombas) para operação de gradientes a alta pressão (EUA);
 - Sistema de injeção com agulha de Poli (éter-éter-cetona) (PEEK) dentro da agulha de aço (EUA);
 - Sistema de aquisição de dados através do *software Masslynx 4.1* (Waters, EUA).
- ✓ Ultrassom Unique, modelo USC-1400 (Brasil).

3.2 MATERIAIS, REAGENTES E SOLVENTES

- ✓ Frascos de vidro (*vial*), capacidade de 2,0 mL;
- ✓ Frascos de vidro com capacidade de 30,0 mL;
- ✓ Vidraria comum de laboratório;
- ✓ Padrões sólidos de fármacos, disruptores endócrinos, plastificantes e estimulantes com pureza de 96,0 a 99,8% (Dr. Ehrenstorfer, Alemanha);
- ✓ Gás argônio 6.0 usado como gás de colisão no sistema UHPLC-MS/MS (White Martins, Brasil);
- ✓ Acetonitrila grau LC-MS (J. T. Baker - EUA);
- ✓ Metanol (J. T. Baker - EUA);
- ✓ Diclorometano (J. T. Baker - EUA);
- ✓ Hidróxido de amônio (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA);
- ✓ Acetona (Tedia, EUA);
- ✓ Ácido clorídrico (J. T. Baker - EUA);
- ✓ Hidróxido de sódio (J. T. Baker - EUA);
- ✓ Água ultrapura, purificada em sistema Milli-Q Direct 3UV (resistividade de 18,2 M cm);
- ✓ Bondesil C18, 40 μm (Agilent Technologies, USA);
- ✓ Oasis[®] HLB, 30 μm (Waters Corporation, Millford, MA, USA).
- ✓ Carvão Supelclean ENVI-Carb (d.p 105-125 μm)
- ✓ Carvão carbotrap[®]/carbopack[®] (20-40 mesh)
- ✓ GCB 400 Mesh (0,037 mm)
- ✓ GCB 100-400 Mesh (0,149-0,037 mm)
- ✓ GCB 325 Mesh (0,044 mm)
- ✓ GCB 200 Mesh (0,074 mm)
- ✓ GCB 140 Mesh (0,149 mm)
- ✓ GCB 100 Mesh (0,149 mm)
- ✓ Oasis[®] HLB (60 mg)
- ✓ Strata[®]X (200 mg)

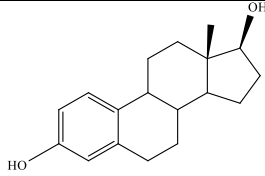
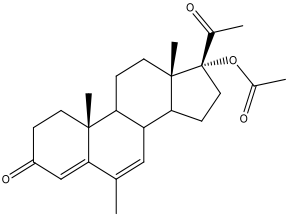
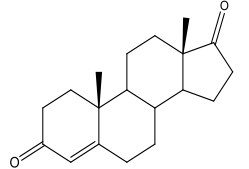
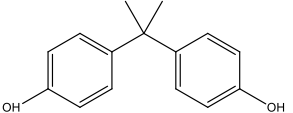
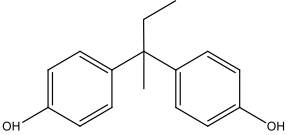
3.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

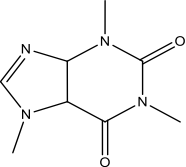
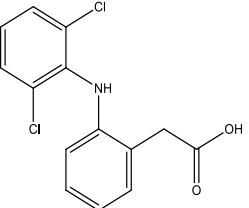
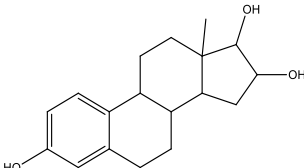
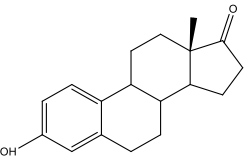
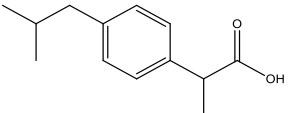
As soluções estoque individuais foram preparadas primeiramente em uma concentração de 1000 mg L⁻¹ de cada substância em estudo, levando em consideração, a pureza dos padrões sólidos. As soluções foram preparadas em acetonitrila grau HPLC, metanol, ou metanol:água 1:1 (v/v). A solução de mistura foi preparada em diferentes concentrações (10, 50, 100 e 200 mg L⁻¹) e armazenadas em frascos âmbar à temperatura de - 4 °C. O padrão interno utilizado foi preparado individualmente na concentração de 10 mg L⁻¹.

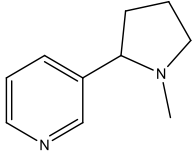
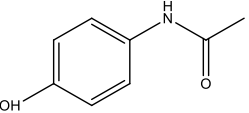
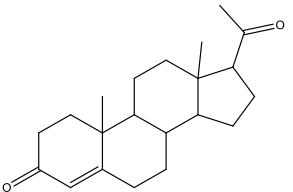
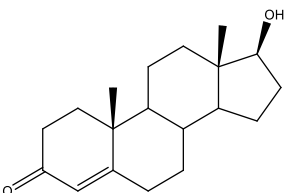
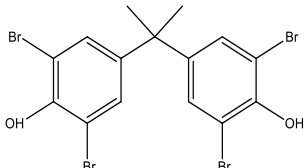
3.4 CONTAMINANTES EMERGENTES SELECIONADOS

Neste estudo, foram selecionados contaminantes emergentes de diferentes classes: hormônios, fármacos, plastificantes e compostos “*lifestyle*”. Informações gerais como estrutura, fórmula e massa molecular, pureza, classe e pKa dos compostos analisados podem ser vistas na Tabela 3.

Tabela 3- Informações gerais dos compostos analisado com estrutura, fórmula, massa molecular, pureza, classe e pKa.

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	pKa	Log k_{ow}	Classe	Referência
17- β -estradiol		$C_{18}H_{24}O_2$	272,4	96,0	10,5	3,9	Hormônio esteroide feminino	ALMEIDA & NOGUEIRA (2015)
Acetato de megestrol		$C_{24}H_{32}O_4$	384,5	99,0	17,8	3,2	Esteróide usado em medicamento veterinário	DrugBank
Androstenediona		$C_{19}H_{26}O_2$	286,4	99,5	19,0	2,75	Hormônio esteroide feminino e masculino	HMDB
Bisfenol A		$C_{15}H_{16}O_2$	228,3	98,5	10,2	3,3	Plastificante	MONTAGNER & JARDIM, 2011.
Bisfenol B		$C_{16}H_{18}O_2$	242,3	99,8	10,1	-	Plastificante	PubChem

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	pKa	Log k_{ow}	Classe	Referência
Cafeína		$C_8H_{10}N_4O_2$	194,2	99,7	10,1	0,01	Estimulante	MONTAGNER & JARDIM (2011)
Diclofenaco		$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	296,1	99,5	4,2	4,5	Anti-inflamatório	MONTAGNER & JARDIM (2011)
Estriol		$C_{18}H_{24}O_3$	288,4	97,0	10,3	2,8	Hormônio esteroide feminino	ALMEIDA & NOGUEIRA (2015)
Estrone		$C_{18}H_{22}O_2$	270,4	99,0	10,3	3,4	Hormônio esteroide feminino	ALMEIDA & NOGUEIRA (2015)
Ibuprofeno		$C_{13}H_{18}O_2$	206,3	99,0	4,9	3,97	Anti-inflamatório	MONTAGNER & JARDIM, 2011

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	pKa	Log k_{ow}	Classe	Referência
Nicotina		$C_{10}H_{14}N_2$	162,2	99,5	8,5	1,17	Estimulante	INCHEM; PubChem
Paracetamol		$C_8H_9NO_2$	151.163	99,5	9,38	0,46	Analgésico	PubChem
Progesterona		$C_{21}H_{30}O_2$	314,5	99,2	18,9	3,7	Hormônio esteroide feminino	ALMEIDA & NOGUEIRA (2015)
Testosterona		$C_{19}H_{28}O_2$	288,4	98,5	17,4	3,3	Hormônio esteroide masculino	RAIMUNDO, 2011
Tetrabromobisfenol A		$C_{15}H_{12}Br_4O_2$	543,9	99,0	7,5	5,9	Retardante de chama	PubChem

3.5 CONFECÇÃO DA BARRA ADSORTIVA

O dispositivo em barra consiste em um suporte cilíndrico de polipropileno (15 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro interno), revestido externamente com uma fita adesiva. O dispositivo foi revestido externamente com um sorvente previamente selecionado (3,0 a 4,0 mg dependendo do sorvente empregado), o qual foi aderido à barra.

Materiais para confecção da barra:

- Tubo de polipropileno;
- Fita adesiva;
- Sorvente para revestimento;

3.6 TESTE DE ROBUSTEZ E ESTABILIDADE DO DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO

Para realizar a otimização da barra adsortiva, foram levados em consideração os seguintes parâmetros:

- Solvente para limpeza;
- Temperatura;
- pH.

As condições de otimização da barra adsortiva foram testadas seguindo os parâmetros apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Condições testadas para a otimização da confecção do dispositivo BA μ E.

Solvente	Temperatura (°C)	pH
Metanol (MeOH)	20	1,0 – 14,0
Acetonitrila (ACN)	30	
MeOH:ACN 1:1 (v/v)	40	
Acetona	50	
Diclorometano (DCM)		

3.6.1 Teste do solvente

Os dispositivos foram revestidos com a fita dupla face e as barras foram transferidas para o ultrassom durante 1 h na presença de diferentes solventes.

Os solventes testados nesta etapa foram: ACN, MeOH, ACN:MeOH (1:1, v/v), acetona e DCM.

3.6.2 Teste de temperatura

O teste de temperatura consistiu em deixar o dispositivo contendo diferentes sorventes em contato com água no ultrassom nas temperaturas previamente estabelecidas de 20, 30, 40 e 50 °C.

3.6.3 Teste de pH

Os dispositivos foram transferidos para um frasco de 15 mL contendo água ultra-pura com pH ajustado de 1,0 a 14,0 com HCl e/ou NaOH (0,1 mol L⁻¹). Após os frascos foram colocados em ultrassom, durante 1 h. Posteriormente, colocaram-se os dispositivos em frascos contendo acetonitrila e foram transferidos novamente para o ultrassom.

3.7 TRATAMENTO DA BARRA ADSORTIVA

Após a escolha dos parâmetros que compõem os testes de estabilidade, realizou-se o preparo de diversas barras adsortivas (com diferentes sorventes) e posteriormente realizou-se o tratamento das mesmas a fim de deixá-las prontas para os testes de extração. Para isto, os dispositivos foram colocados em um frasco contendo 5 mL de acetonitrila e após, foram transferidos para o ultrassom durante 15 minutos. Por último, os dispositivos foram imersos em frascos contendo 10 mL de água ultra-pura e foram agitados em agitador magnético durante 15 minutos.

3.8 ENSAIOS INICIAIS DE EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO PARA ESCOLHA DO MELHOR SORVENTE

Em um frasco de 30 mL adicionou-se 25 mL de água ultra-pura e fortificou-se com a mistura dos contaminantes na concentração de $2 \mu\text{g L}^{-1}$. Após, foram inseridos em cada frasco um agitador magnético e posteriormente, as barras confeccionadas com os 11 diferentes sorventes descritos na Tabela 5. As análises foram realizadas em triplicata e a escolha do melhor sorvente foi realizada em função das maiores áreas obtidas.

Tabela 5 - Sorventes testados para o ensaio de extração e dessorção.

Sorvente	Abreviatura neste trabalho
Carvão Supelclean ENVI-Carb (d.p 105-125 μm)	Carvão sup.
Carvão carbotrap [®] /carbopack [®] (20-40 mesh)	Carvão Carb.
GCB 400 Mesh (0,037 mm)	GCB-1
GCB 100-400 Mesh (0,149-0,037 mm)	GCB-2
GCB 325 Mesh (0,044 mm)	GCB-3
GCB 200 Mesh (0,074 mm)	GCB-4
GCB 140 Mesh (0,149 mm)	GCB-5
GCB 100 Mesh (0,149 mm)	GCB-6
Octadecilsilano (C18)	C18
Oasis [®] HLB	Oasis
Strata X	Strata X

Os frascos foram posicionados em um agitador de múltiplas posições e a extração foi realizada durante 10 h de agitação a 1100 rpm. Após este intervalo, os dispositivos foram transferidos para um Eppendorf contendo 1 mL de acetonitrila e colocados em ultrassom onde foi feita a etapa de dessorção, durante 1h. Posteriormente, as barras foram retiradas dos Eppendorfs com o auxílio de uma pinça e a solução foi filtrada. As alíquotas de todos os testes foram injetadas no sistema UHPLC-MS/MS para a verificação da presença residual dos contaminantes.

3.9 OTIMIZAÇÃO DOS ENSAIOS DE EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO UTILIZANDO PLANEJAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL

Após a realização dos testes para a escolha do melhor sorvente, foram realizados os testes mecânicos do dispositivo BAμE confeccionado. A fim de otimizar o método, um planejamento de composto central com quatro variáveis foi testado:

- (1) Tempo de agitação para extração;
- (2) Velocidade de agitação da extração;
- (3) pH;
- (4) Tempo no ultrassom para dessorção.

Para a realização dos testes, a quantidade de amostra (25 mL) e solvente de dessorção (700 μL de acetonitrila) permaneceu constante. A redução da quantidade de solvente de dessorção se comparado com os testes iniciais de extração foi realizada a fim de aumentar o fator de pré-concentração uma vez que foi realizada uma diluição em água do extrato final. Esta diluição teve por finalidade se aproximar do gradiente inicial e conseqüentemente, obter melhores formatos dos picos cromatográficos.

Os resultados dos testes foram avaliados em termos de recuperação através de uma curva analítica na matriz branco fortificada, sendo utilizado como branco a água ultra-pura, nas concentrações de 0,2; 0,4; 0,8; 2,0; 4,0; 8,0 e 20,0 μg L⁻¹ e fortificações na concentração de 2,0 μg L⁻¹. Cada teste foi realizado em duplicata, totalizando 54 ensaios, conforme os parâmetros descritos na Tabela 6.

Tabela 6- Condições utilizadas para a avaliação dos parâmetros gerados utilizando o planejamento de composto central.

Fatores	-α (-2)	-1	Centro (0)	+1	-α (-2)
Tempo de extração (h)	1	6	11	16	21
Rotações por minuto (rpm)	750	900	1050	1200	1350
Tempo de ultrassom (min)	3	15	28	40	53
Valores de pH	1	3,0	6	8,0	11

Ensaio	Tempo de extração (h)	Rotações por minuto (rpm)	Tempo de ultrassom (min)	Valores de pH
1	6,0	900	15	3
2	16,0	900	15	3
3	6,0	1200	15	3
4	16,0	1200	15	3
5	6,0	900	40	3
6	16,0	900	40	3
7	6,0	1200	40	3
8	16,0	1200	40	3
9	6,0	900	15	8
10	16,0	900	15	8
11	6,0	1200	15	8
12	16,0	1200	15	8
13	6,0	900	40	8
14	16,0	900	40	8
15	6,0	1200	40	8
16	16,0	1200	40	8
17	11,0	1050	28	6
18	11,0	1050	28	6
19	11,0	1050	28	6
20	1,0	1050	28	6
21	21,0	1050	28	6
22	11,0	750	28	6
23	11,0	1350	28	6
24	11,0	1050	3	6
25	11,0	1050	53	6
26	11,0	1050	28	1
27	11,0	1050	28	11

3.10 VALIDAÇÃO DO MÉTODO EMPREGANDO BA_μE

A validação do método proposto foi realizada de acordo com a SANTE/11945/2015 (SANTE 2015). Foram avaliados os parâmetros de seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão e precisão (repetibilidade e precisão intermediária). A seletividade do método foi realizada através da análise do branco e das amostras fortificadas. A linearidade e faixa de trabalho foram avaliadas na faixa de 0,04 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (androstenediona, acetato de megestrol, progesterona e testosterona), 0,08 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (bisfenol A e paracetamol), 0,2 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (estrone e estriol), 0,4 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (17- β -estradiol e ibuprofeno), 0,8 a 40,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (tetrabromobisfenol A), 1,6 a 40,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (bisfenol B) e 2,0 a 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (diclofenaco). Os valores da concentração na fortificação e concentração final no equipamento das curvas preparadas na matriz branco fortificada podem ser verificadas no Apêndice A. O limite de quantificação foi estabelecido experimentalmente como sendo o nível de mais baixa concentração da matriz fortificada com exatidão e precisão aceitáveis. O limite de detecção foi calculado através da divisão do LOQ por 3,3. A exatidão e precisão foram avaliadas na matriz fortificada com todos os analitos em níveis distintos (n=6):

- **Nível 1 (F1):** corresponde a 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$ (androstenediona, acetato de megestrol, progesterona e testosterona), 0,08 (bisfenol A e paracetamol), 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (estrone e estriol), 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ (17- β -estradiol e ibuprofeno), 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ (tetrabromobisfenol A e diclofenaco) e 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ (bisfenol B).
- **Nível 2 (F2):** corresponde a 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (androstenediona, acetato de megestrol, progesterona, testosterona, bisfenol A e paracetamol), 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (estrone, 17- β estradiol, estriol e ibuprofeno), 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (diclofenaco) e 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ (tetrabromobisfenol A e bisfenol B).
- **Nível 3 (F3):** corresponde a 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ (androstenediona, acetato de megestrol, progesterona, testosterona, bisfenol A e paracetamol), 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (estrone, 17- β -estradiol, estriol e ibuprofeno), 4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (diclofenaco) e 8 $\mu\text{g L}^{-1}$ (tetrabromobisfenol A e bisfenol B).

A exatidão e precisão foram avaliadas em termos de média das recuperações e desvio padrão relativo (RSD%), respectivamente. Este mesmo procedimento foi realizado em diferentes dias para a avaliação da precisão intermediária.

3.11 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS

As amostras de água de superfície e de torneira foram coletadas de diferentes regiões de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram coletadas em frascos âmbar, transportadas até o laboratório sob refrigeração e mantidas na temperatura de 4 °C até ser realizada a extração. Águas de garrafa de diferentes marcas foram obtidas em supermercados locais. Todas as amostras foram filtradas com filtro de celulose de 0,45 µm (S-Pak®) a fim de eliminar qualquer tipo de material particulado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO UHPLC-MS/MS

As condições empregadas no sistema UHPLC-MS/MS para o desenvolvimento do método para a análise de contaminantes emergentes foram previamente otimizadas no laboratório. A fase móvel utilizada consistiu em (A) solução aquosa de hidróxido de amônio 0,05% e (B) metanol. Empregou-se um gradiente linear (Tabela 7) com vazão de 0,250 mL min⁻¹, volume de injeção 10 µL e tempo total de corrida de 3 minutos.

Tabela 7- Gradiente linear da fase móvel

Tempo (min)	Vazão (mL min ⁻¹)	%A	%B
Inicial	0,250	95	5
0,25	0,250	95	5
1,50	0,250	0	100
2,50	0,250	0	100
2,60	0,250	95	5
3,00	0,250	95	5

O espectrômetro de massa empregou fonte de eletrospray com modo de ionização positivo (ESI+) e negativo (ESI-). Os compostos foram infundidos com uma solução de 50 µg L⁻¹ e foram escolhidas duas transições utilizando monitoramento de reações selecionadas (SRM, do *inglês selected reaction monitoring*) para cada composto, com exceção do ibuprofeno. A transição de maior intensidade foi utilizada para quantificação e a segunda para identificação dos analitos de interesse. As condições empregadas no espectrômetro de massas foram as seguintes:

- ✓ Temperatura da coluna: 40 °C;
- ✓ Pressão: 7000 a 7500 psi;
- ✓ Capilar: 2,0 kV (+) e 2,5 (-);
- ✓ Temperatura de dessolvatação: 450 °C;

- ✓ Vazão gás: 400 L h⁻¹;
- ✓ Vazão no cone: 80 L h⁻¹;
- ✓ Vazão gás colisão (Argônio): 0,15 mL min⁻¹.
- ✓ Temperatura da fonte: 150 °C.

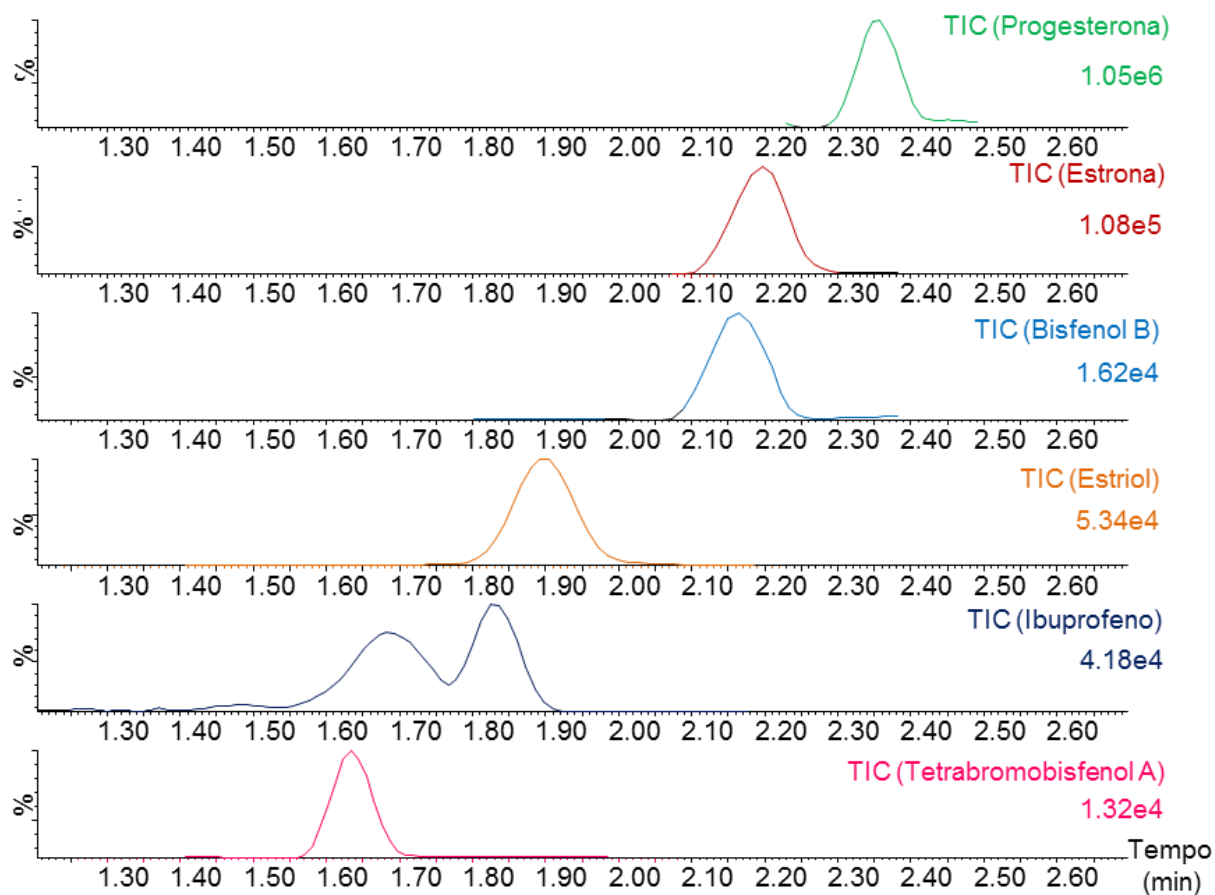
Os parâmetros energia de cone, colisão, transição relativas ao SRM utilizados para cada contaminante emergente, são apresentados na Tabela 8. O modo de ionização positivo ou negativo bem como as transições de cada contaminante foram estabelecidas através da infusão dos analitos de interesse em uma concentração de 50 µg L⁻¹. Na Figura 6 pode-se verificar as transições SRM de alguns dos compostos das diferentes classes analisadas neste trabalho em uma amostra branco fortificada.

Tabela 8- Compostos em estudo, respectivo tempo retenção, íon precursor, íon produto, modo de ionização, energia do cone e colisão para cada transição SRM.

Compostos	t _R (min)	Modo de ionização (ESI)	Energia do cone (V)	Transições SRM, m/z (EC, eV)	
				Quantificação	Identificação
Paracetamol	0,63	+	22	152,0 > 110,0 (15)	152,0 > 65,0 (30)
Tetrabromobisfenol A	1,61	+	40	542,7 > 417,0 (30)	542,7 > 419,4 (30)
Cafeína	1,60	+	25	195,3 > 138,0 (20)	195,3 > 110,0 (20)
Diclofenaco	1,86	+	30	296,1 > 250,1 (5)	296,1 > 215,0 (5)
Ibuprofeno	1,87	-	15	205,0 > 161,0 (7)	-
Estriol	1,89	-	65	287,0 > 171,1 (37)	287,0 > 145,1 (39)
Nicotina	1,91	+	27	163,1 > 130,1 (18)	163,1 > 132,1 (15)
Bisfenol A	2,07	-	31	227,1 > 212,0 (17)	227,1 > 133,0 (25)
Bisfenol B	2,15	-	31	242,0 > 213,0 (25)	242,0 > 255,0 (17)
17-β-estradiol	2,17	-	55	271,2 > 144,7 (40)	271,2 > 183,1 (35)
Androstenediona	2,17	+	30	287,1 > 97,0 (22)	287,1 > 109,0 (24)
Estrona	2,19	-	65	269,2 > 145,0 (36)	269,2 > 143,0 (48)
Testosterona	2,23	+	29	289,2 > 97,0 (22)	289,2 > 109,0 (21)
Acetato de megestrol	2,29	+	30	385,5 > 224,2 (30)	385,5 > 267,3 (15)
Progesterona	2,35	+	30	315,2 > 97,0 (22)	315,2 > 109,0 (24)
Trifenilfosfato (PI)	2,35	+	40	327,0 > 215,0 (37)	327,0 > 152,0 (28)

t_R: tempo de retenção; SRM: monitoramento de reações selecionadas; EC: energia do cone.

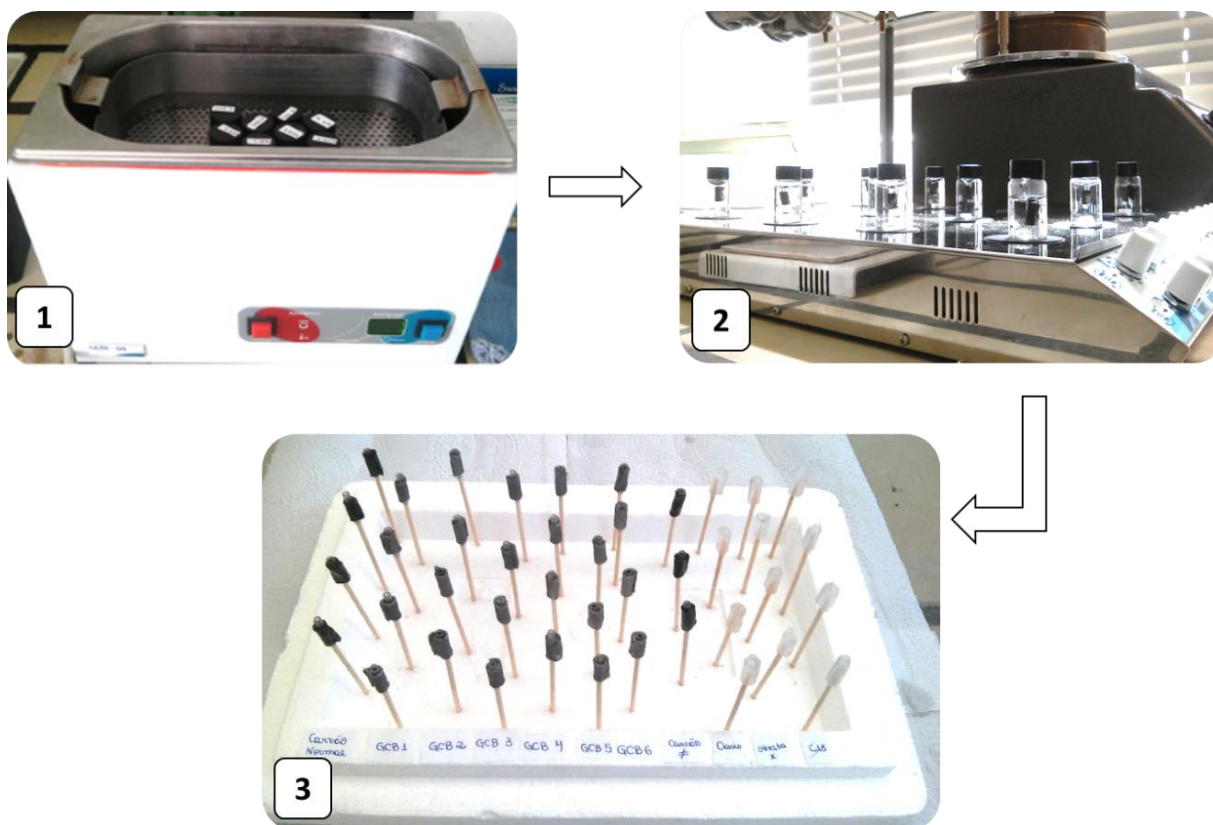
Figura 6 – Cromatograma de íon total dos compostos representativos das diferentes classes analisadas neste estudo fortificados no nível 2 (F2).



4.2 TRATAMENTO DA BARRA ADSORTIVA

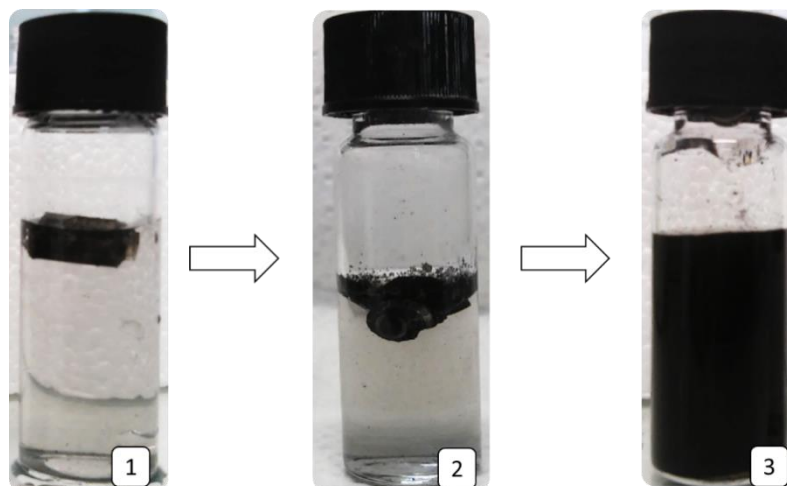
Antes de iniciar os testes de extração, o tratamento das barras deve ser realizado a fim de manter os dispositivos em boas condições, evitando assim, o desprendimento do sorvente e eliminação de interferentes. A esquematização do tratamento dos dispositivos pode ser visualizada na Figura 7.

Figura 7 - Etapas do tratamento da barra adsortiva. 1) Imersão dos dispositivos em acetonitrila e tratamento ultrassônico; 2) Agitação em agitador magnético; 3) Barras confeccionadas.



Nesta etapa verificou-se também que a confecção das barras foi satisfatória tendo em vista que houve uma boa adesão do sorvente na fita e após os testes de estabilidade, a estrutura das barras foram mantidas. Além disso, o tratamento das barras confeccionadas é imprescindível para retirar o excesso dos sorventes inseridos. Na Figura 8 é demonstrado o que ocorre com a barra adsortiva durante a etapa de limpeza.

Figura 8- Etapas da retirada do excesso de sorvente 1) Inserção do dispositivo em acetonitrila 2) Início do tratamento ultrassônico e 3) Final do tratamento em ultrassom.



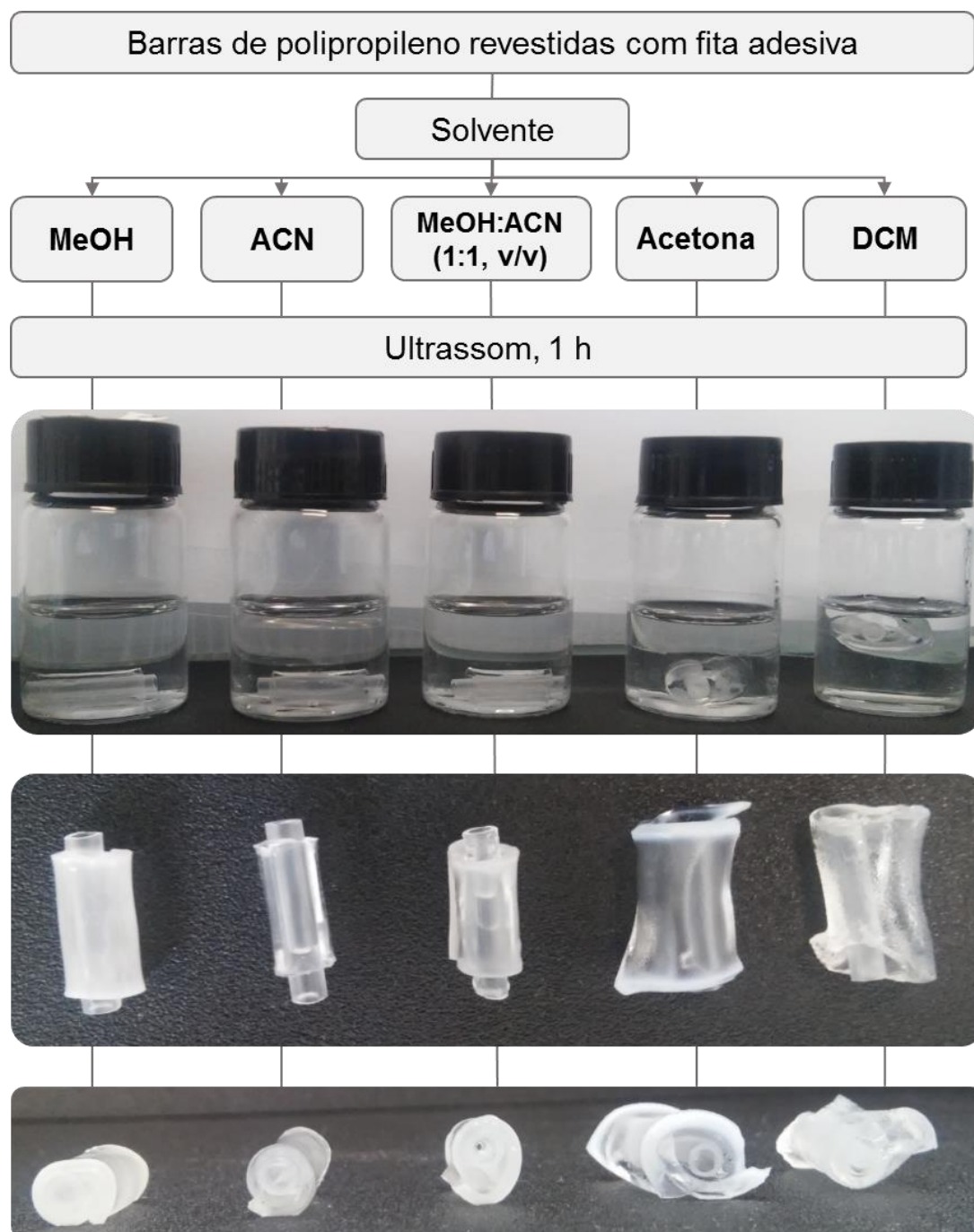
Em um primeiro momento (1) a barra adsortiva é transferida para um frasco contendo o solvente de limpeza (acetonitrila). Após, este frasco é transferido para o ultrassom e em apenas alguns segundos, inicia-se o desprendimento do excesso do sorvente (2). No final do tratamento ultrassônico a solução fica com os resíduos do sorvente não fixados na barra (3) e passa para a segunda etapa de limpeza (agitação por mais 15 minutos em água ultra-pura). Verifica-se, portanto, a necessidade da limpeza para assegurar que a etapa posterior de extração seja eficaz.

4.3 TESTES DE ROBUSTEZ E ESTABILIDADE DOS DISPOSITIVOS

4.3.1 Solvente para limpeza e extração

Esta etapa teve como objetivo avaliar a estabilidade da fita adesiva na presença de diferentes solventes orgânicos. Os resultados do emprego dos solventes acetonitrila, metanol, acetonitrila:metanol (1:1, v/v), acetona e diclorometano podem ser verificados na Figura 9.

Figura 9 - Comportamento das barras na presença de diferentes solventes.



Uma das principais características almejadas na escolha do solvente é que o mesmo deve apresentar a possibilidade de auxiliar na extração dos compostos de interesse sem decompor o dispositivo confeccionado (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2015). Conforme apresentado na Figura 9, pode-se verificar que os solventes acetona e diclorometano não foram propícios nesta etapa, tendo em vista a degradação da fita em torno do dispositivo. Já os solventes MeOH, ACN:MeOH (1:1, v/v) não deterioraram

a barra, contudo, percebe-se que a fita soltou-se levemente do tubo de polipropileno em ambos os casos e para o MeOH, o dispositivo adquiriu uma cor esbranquiçada.

Desta forma, optou-se pelo solvente acetonitrila para a limpeza e também para a dessorção dos analitos. Este solvente demonstrou ser eficaz para estes propósitos tendo em vista que a barra permaneceu em boas condições de uso após o contato com o mesmo.

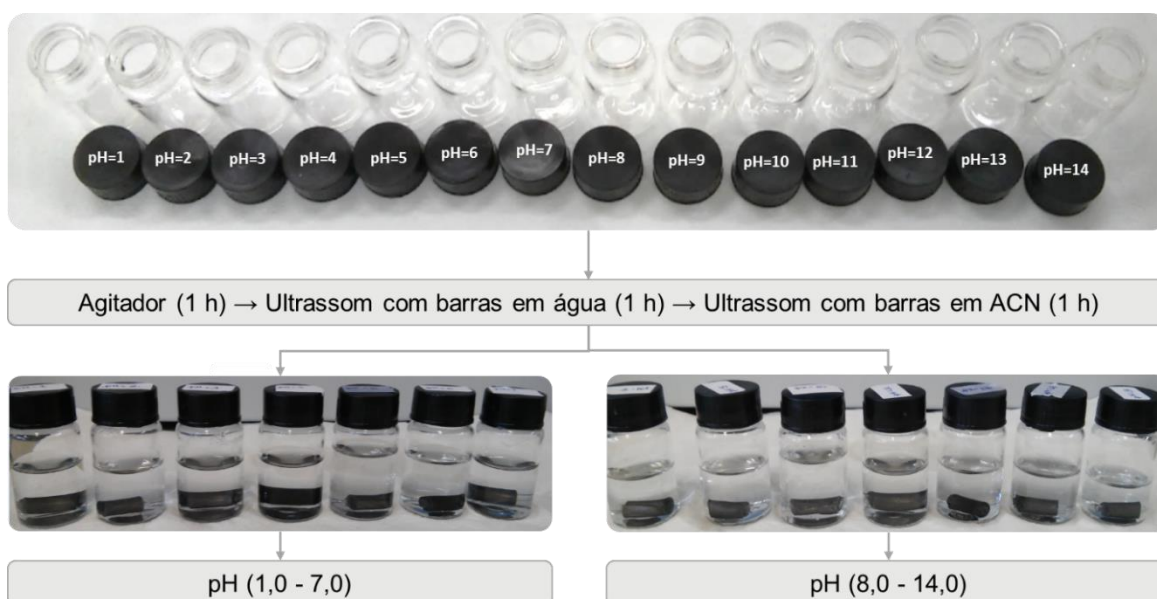
4.3.2 Teste de temperatura

O teste de temperatura consistiu em deixar o dispositivo em água no ultrassom nas temperaturas de 20, 30, 40 e 50 °C. O comportamento das barras permaneceu constante com as diferentes temperaturas. Entretanto, para este estudo optou-se pelo uso da temperatura à 20 °C tendo em vista que os hormônios esteroides podem se degradar ou ser afetados por condições ambientais tais como temperatura, pH, ou oxigênio dissolvido. Em geral, estudos demonstram que esta degradação é mais comum para temperaturas acima de 30 °C (YANG, 2010).

4.3.3 Teste de pH

A verificação da estabilidade do dispositivo com diferentes pH é essencial uma vez que este parâmetro pode influenciar na taxa de recuperação dos analitos na etapa de otimização da extração (AHMAD et al., 2014). Além disso, a realização dos testes de pH é importante para verificar se o dispositivo pode ser submetido a condições mais básicas ou ácidas e ao mesmo tempo manter o dispositivo de microextração em boas condições de uso. O comportamento das barras frente às mudanças de pH pode ser demonstrado na Figura 10.

Figura 10 - Comportamento das barras adsorptivas em diferentes pH.



Conforme demonstrado na figura acima, os testes de estabilidade em diferentes pH mantiveram as barras intactas. Isto pode ser verificado observando que não houve o desprendimento dos sorventes, pois as soluções mantiveram-se límpidas e que a fita e o formato da barra permaneceram constantes.

Sendo assim, os resultados obtidos demonstraram excelente estabilidade para pH de 1 a 14 o que comprova a aplicabilidade para a análise de compostos com diferentes polaridades.

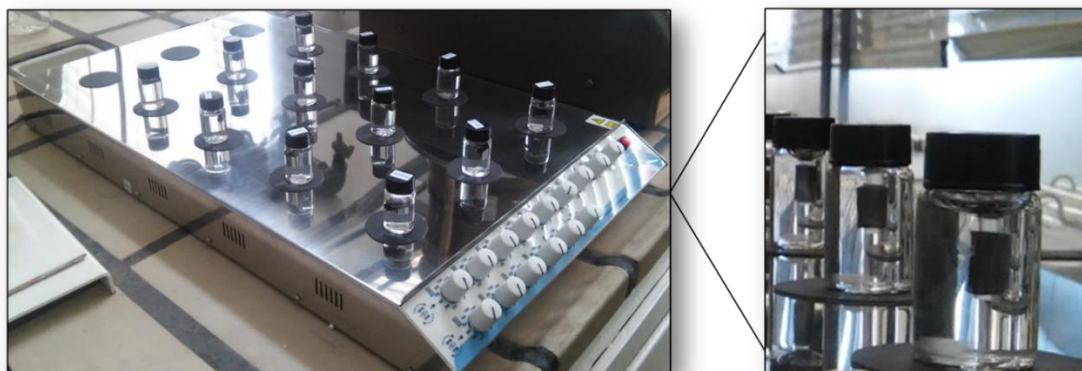
4.4 TESTES INICIAIS DE EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO PARA ESCOLHA DO MELHOR SORVENTE

Após a finalização dos parâmetros de estabilidade e robustez das barras, realizou-se a segunda etapa do trabalho, a qual consiste em avaliar o desempenho analítico do dispositivo BA μ E na extração dos contaminantes emergentes selecionados neste estudo. Antes de iniciar o processo de extração, foi realizada a extração sem os sorventes, somente com o tubo polipropileno e com a fita a fim de verificar se havia algum tipo de interferente na fita adesiva. Entretanto, após a confirmação de que a fita não liberou nenhum composto na solução, deu-se procedência aos testes com os sorventes.

Os frascos foram posicionados em um agitador de múltiplas posições e a extração foi realizada durante 10 h de agitação a 1100 rpm. Após este intervalo, os dispositivos foram transferidos para um Eppendorf contendo 1 mL de acetonitrila e colocados em ultrassom, onde foi feita a etapa de dessorção, durante 1 h. Posteriormente, as barras foram retiradas dos frascos Eppendorf com o auxílio de uma pinça e a solução remanescente foi filtrada e injetada no sistema UHPLC-MS/MS. Foram também realizados testes filtrando a solução contida nos frascos de extração a fim de verificar a presença residual dos contaminantes.

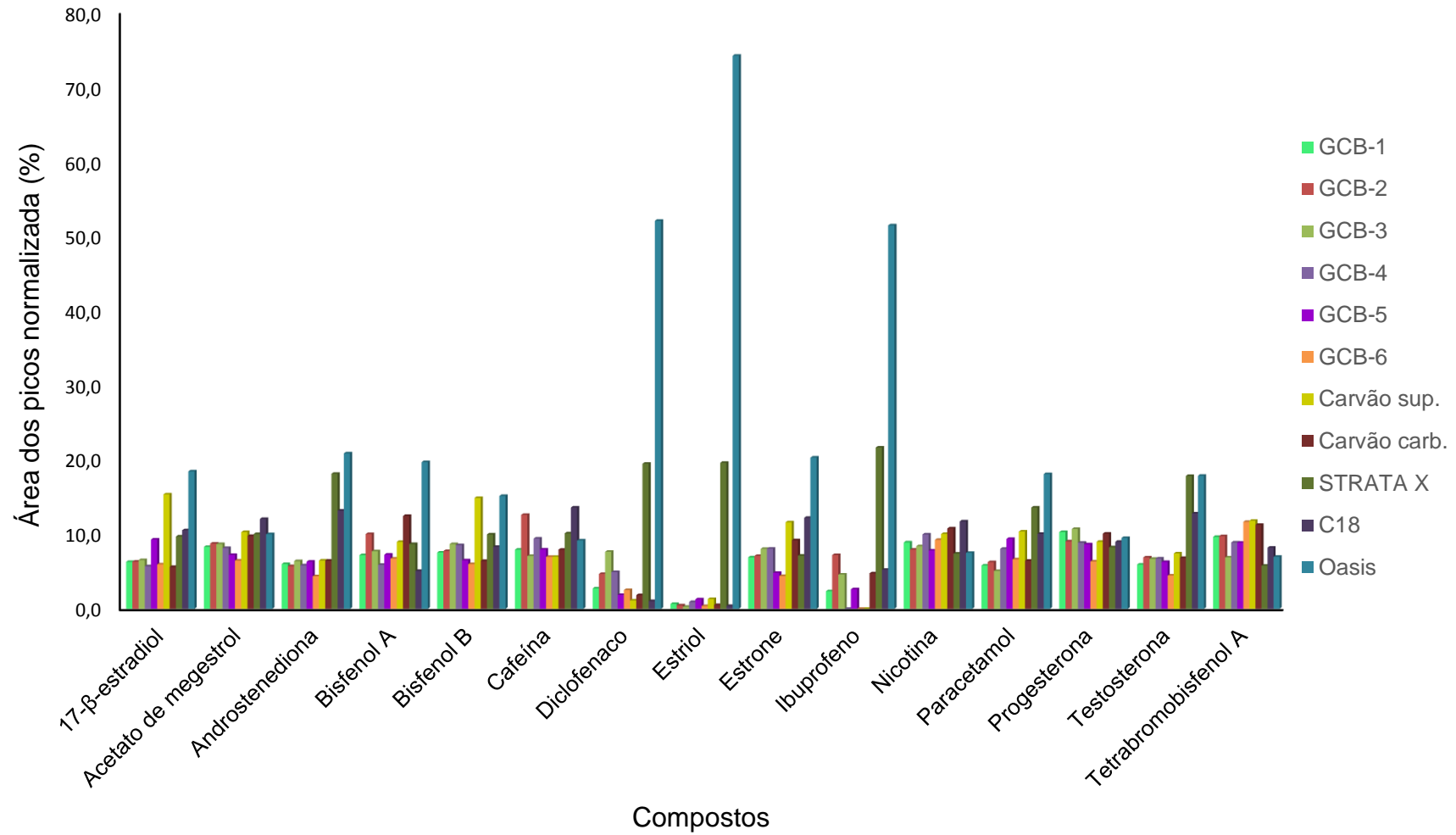
Segundo NENG (2011), durante a agitação da barra, a qual está coberta com o sorvente apropriado, inicia-se o processo de enriquecimento o qual é responsável pelo equilíbrio estático dos analitos entre a fase extratora e aquosa. A etapa de agitação realizada neste trabalho pode ser visualizado na Figura 11.

Figura 11- Demonstração da etapa de extração e do comportamento da barra em solução.



O movimento de agitação da matriz líquida favorece a microextração dos solutos no sorvente. Durante o processo de enriquecimento, a barra de extração se mantém suspensa e em equilíbrio abaixo do vortex formado. A escolha do sorvente foi essencial para a confecção do dispositivo BA μ E tendo em vista que é a base fundamental para que seja possível a retenção dos analitos de interesse. Um bom sorvente deve ter características apropriadas tais como, apresentar bom revestimento da barra a fim de obter uma boa adsorção, enriquecimento adequado, e conseqüentemente, demonstrar boa eficiência. Os resultados dos testes com diferentes sorventes foram realizados em função das áreas normalizadas e podem ser observados na Figura 12.

Figura 12 - Gráfico de contaminantes emergentes utilizando diferentes sorventes em função da área normalizada.



Através do gráfico pode-se notar que o sorvente mais adequado para a maioria dos analitos de interesse foi o Oasis[®] HLB tendo em vista que suas propriedades hidrofílicas e lipofílicas permitem a análise de compostos com diferentes polaridades. Segundo ZHU e colaboradores (2001), este sorvente propicia uma extração mais robusta, melhora a recuperação de compostos polares e não-polares em matrizes complexas e apresenta uma maior capacidade se comparado à sorventes de fase reversa. Portanto, explica-se assim um dos motivos de os compostos apresentarem baixas áreas com o sorvente C18.

Quanto aos GCB-1 a 6 com diferentes mesh, pode-se verificar que para todos os ensaios, as áreas foram baixas para os compostos em estudo. A proporção de grafite de carbono pode variar de 0 a 100%, todavia, segundo WANG & colaboradores (2010), a utilização do grafite como sorvente tem sido bastante empregada para compostos com caráter mais apolares. Tendo em vista que a maioria dos compostos deste estudo são polares, este pode ter sido um dos motivos para as baixas recuperações com este sorvente.

Em relação aos dois tipos de carvão analisados neste estudo, pode-se verificar que as áreas obtidas também não foram satisfatórias para nenhum dos compostos. Os materiais carbonáceos, especialmente o carbono ativado, são amplamente empregados como adsorventes devido à sua excelente capacidade de adsorção. No entanto, após a análise de estudo que empregam diferentes tipos de carvão para a análise de poluentes emergente, pode-se verificar que os tipos de carvão que apresentam melhores recuperações são aqueles com uma área de superfície maior, como por exemplo, 900-1400 m²/g (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2015). Tendo em vista que os carvões testados neste trabalho apresentam menores áreas de superfície (100 m²/g), as recuperações podem ter sido comprometidas.

Por fim, tem-se o cartucho Strata X que apresenta propriedades poliméricas e que não apresentou boas recuperações para a análise dos compostos de interesse. Os sorventes Oasis[®] HLB e Strata X apresentam propriedades similares, ou seja, contém o mesmo adsorvente, que é o copolímero divinilbenzeno modificado por grupos N-vinilpirrolidona e ambos têm boas propriedades para a extração de diferentes tipos de analitos em amostras de água (CABAN et al., 2015). Porém, através dos resultados pode-se verificar que apesar dos dois sorventes apresentarem áreas similares para alguns compostos, o Oasis[®] HLB foi mais satisfatório, principalmente para o diclofenaco, estriol e ibuprofeno. ZENDONG & colaboradores

(2014) avaliaram em seu estudo diferentes sorventes poliméricos e lipofílicos para a retenção de toxinas marinhas (dentre eles, Oasis[®] HLB e Strata X) e verificaram que o tempo necessário para a retenção de toxinas no cartucho Strata X era muito maior do que para o Oasis[®] HLB. Tendo em vista esta constatação e comparando-a com o presente estudo, um dos motivos para a diferença de áreas nos testes de extração envolvendo o sorvente Strata X pode ter sido ocasionado pelo tempo de agitação uma vez que o mesmo está relacionado com o tempo de equilíbrio necessário para que os compostos de interesse sejam retidos no sorvente.

Sendo assim, após a análise desses resultados, optou-se por seguir os testes somente com o sorvente Oasis[®] HLB, otimizando as condições das barras a fim de tentar recuperar mais compostos. A utilização de Oasis[®] HLB como sorvente pode ser destacado tendo em vista que os sorventes mais empregados em outros estudos são o carvão ativado (ALMEIDA & NOGUEIRA, 2014; ALMEIDA et al., 2013; ALMEIDA et al., 2014; NENG et al., 2011; GONÇALVES et al., 2012; NENG & NOGUEIRA, 2012) e pirrolidona modificada (ALMEIDA & NOGUEIRA, 2012; ALMEIDA et al., 2013; ALMEIDA & NOGUEIRA, 2015).

4.5 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DO DISPOSITIVO BA_μE UTILIZANDO PLANEJAMENTO DE COMPOSTO CENTRAL

Visando otimizar a etapa de extração, a barra adsorativa foi submetido a diversos testes para avaliar os melhores parâmetros que pudessem oferecer recuperações adequadas. Para isto, verificou-se o tempo necessário para o equilíbrio, o qual depende das interações entre os analitos; a velocidade de agitação da barra de extração; o pH e o tempo necessário no ultrassom para que a dessorção seja completa.

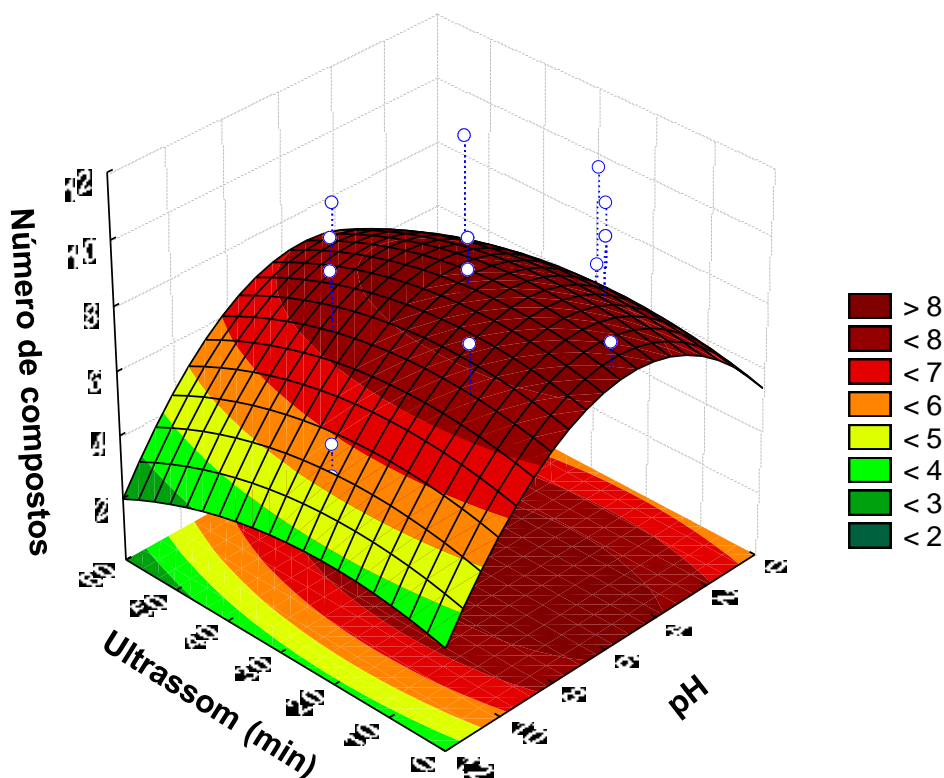
As variáveis foram escolhidas a fim de avaliar os melhores parâmetros em se tratando do procedimento de extração e dessorção. Segundo AHMAD e colaboradores (2014) as melhores condições de extração para o hormônio testosterona em urina foram: 16 h de tempo de equilíbrio, 1000 rpm de agitação, pH 5,5 e 30 min de dessorção. Já para a extração de 9 hormônios em água e urina, realizada por ALMEIDA & NOGUEIRA (2015) foram otimizadas as seguintes condições: 16 h de tempo de equilíbrio, 1250 rpm, pH 5,5 e 30 min de dessorção. E

por fim, em um estudo para a determinação de fármacos em água utilizaram-se as seguintes condições: 16 h de tempo de equilíbrio, 1000 rpm, pH 5,0 e 45 min de dessorção (NENG & NOGUEIRA, 2012).

A partir das condições otimizadas nos três estudos previamente citados, testaram-se neste trabalho condições para a determinação de contaminantes emergentes em água utilizando condições similares e próximas às utilizados nestes outros estudos.

A utilização do planejamento de composto central é muito importante para simplificar o número de experimentos e reduzir o custo e tempo requerido para o desenvolvimento experimental. A metodologia de superfície gerada através do CCD fornece uma melhor visualização dos resultados tendo em vista que é mais fácil a compreensão da combinação de valores dos diferentes parâmetros. Após a realização dos 27 ensaios em duplicata, foram geradas as superfícies de respostas demonstradas nas Figura 13.

Figura 13 – Superfície de resposta gerada por um planejamento de composto central utilizando as variáveis fixas de rotação por minuto de 1200 rpm e tempo de equilíbrio de 8 h.



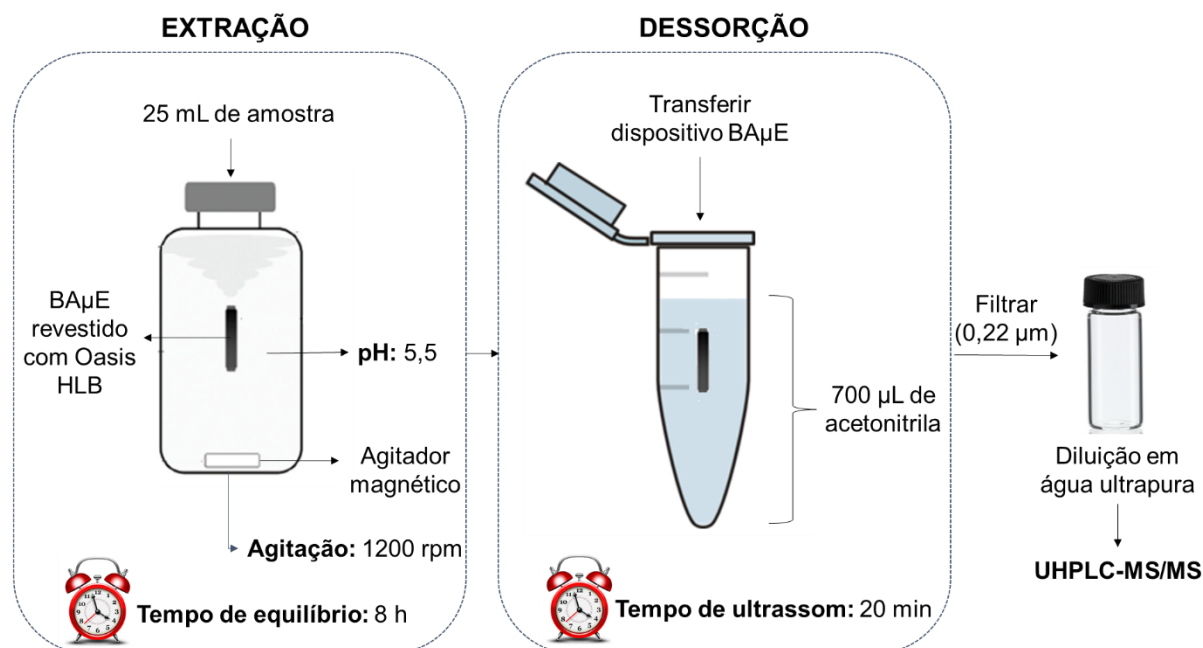
A partir da interpretação do gráfico de superfície demonstrado na Figura 15 pode-se constatar que o tempo de dessorção de 20 minutos é suficiente para a dessorção total dos analitos. Em relação ao pH verificou-se que condições extremas de pH ácido ou básico podem afetar negativamente as recuperações. Sendo assim, o pH ideal está na faixa de 4,0 a 7,0 porém, neste estudo, selecionou-se o pH 5,5 uma vez que o pH da ultra-pura é aproximadamente 5,5-6 não havendo necessidade de ajuste e deixando o método mais prático tendo em vista a eliminação de etapas desnecessárias. Todavia, no caso das amostras reais, o pH deverá ser medido previamente e se necessário, ajustado para o pH entre 5,5-6.

Quanto ao parâmetro de rotação, a escolha de 1200 rpm mostra-se uma boa opção tendo em vista a melhor formação do vortex durante o período de agitação. Além disso, a formação estável do vortex nesta rotação impede que o dispositivo tenha contato com as paredes do frasco de extração.

Para o tempo de equilíbrio, as condições geradas pelo planejamento do composto central foram de 1, 6, 11, 16 e 21 h. Foi possível verificar que o tempo de equilíbrio de 6 h não foi o suficiente para recuperar os analitos de interesse, entretanto, o tempo de 11 h demonstrou ser eficaz para este fim. Sendo assim, antes da etapa de validação optou-se pela realização de novos experimentos testando os tempos de extração de 7, 8 e 9 h. A partir destes testes, foi verificado que o tempo de 8 h foi suficiente para recuperar a maioria dos compostos. Com estas condições, destaca-se que o fator de enriquecimento obtido foi de 17,8.

Portanto, as escolhas dos parâmetros foram otimizadas da seguinte forma: tempo de extração de 8 h, agitação em 1200 rpm, pH 5,5 e 20 min de tempo de ultrassom. A esquematização do preparo de amostra otimizado pode ser visualizada na Figura 14. Ressalta-se que estes parâmetros foram selecionados levando em consideração os resultados da interpretação das superfícies de resposta e devido à praticidade do ensaio.

Figura 14- Preparo de amostra otimizado através do planejamento do composto central.



Pode-se destacar que os parâmetros estabelecidos neste estudo para a análise de contaminantes emergentes em água são similares em termos de pH (5,5) em relação a outros estudos que avaliaram estes mesmos compostos. No entanto, o tempo de sonicação (20 min) e de equilíbrio (8 h) estabelecidos no atual trabalho são menores uma vez que o tempo de 30-45 min de ultrassom e 16 h de equilíbrio são os mais relatados na literatura para a análise de hormônios e fármacos (AHMAD et al., 2014; ALMEIDA & NOGUEIRA, 2015; NENG & NOGUEIRA, 2012).

Após a realização de testes com as condições otimizadas, foi possível verificar que dentre os 16 poluentes emergentes selecionados neste estudo, apenas a cafeína e nicotina não recuperaram. Conforme já demonstrado na Figura 12, mesmo com os 11 diferentes sorventes testados, a cafeína e nicotina haviam apresentado áreas muito baixas. Um dos motivos que podem ter acarretado este comportamento é devido ao solvente de dessorção que talvez não tenha sido o ideal para a dessorção completa dos analitos retidos no sorvente.

FERREIRA (2005) realizou um estudo para o monitoramento de cafeína em diferentes ambientes aquáticos. O preparo de amostra da cafeína foi realizada através de uma extração líquido-líquido com solvente diclorometano. KOMES & colaboradores (2009) demonstraram em seu estudo a extração de cafeína utilizando clorofórmio. Sendo assim, pode-se verificar através de outros estudos que estes dois solventes

citados são os mais comuns para a análise deste analito. Todavia, conforme demonstrado nos testes de estabilidade das barras (item 4.3.1), a fita sofre degradação na presença destes dois solventes impossibilitando a utilização dos mesmos para dessorção.

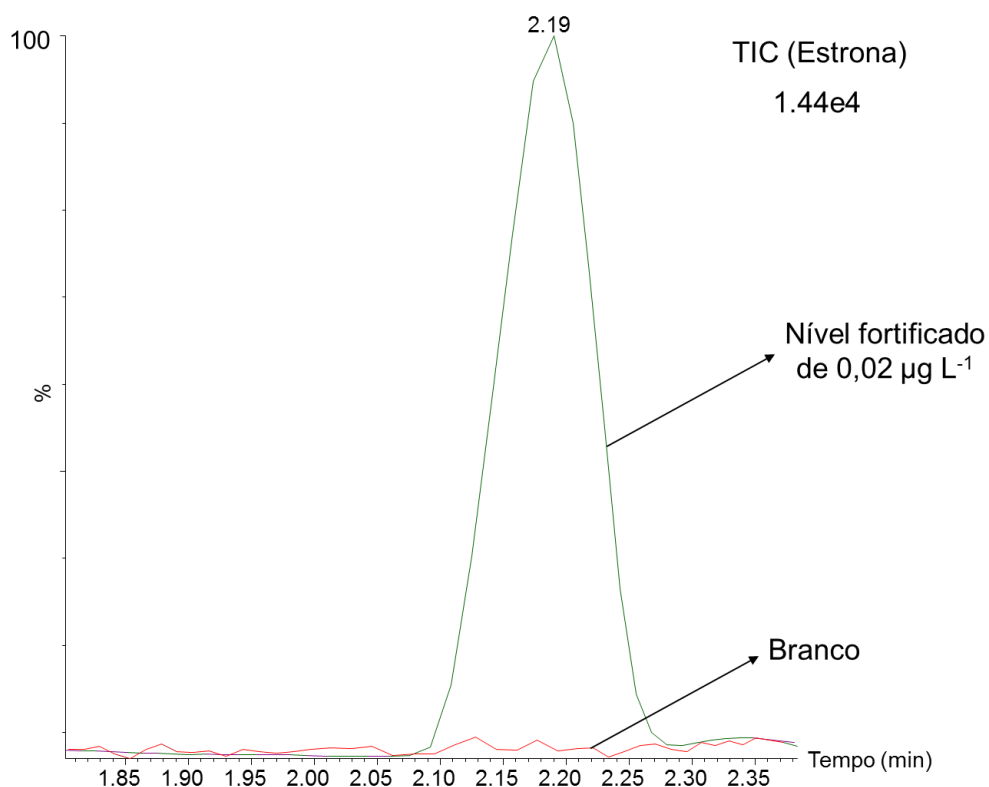
Em relação à nicotina, LOPES & colaboradores (2014) utilizaram a técnica de SPE para a análise deste analito em água e o solvente de extração empregado foi o metanol. Conforme os testes de estabilidade, foi também verificado que este solvente degradou a fita que reveste a barra, e por isso não pôde ser empregado para a dessorção.

4.6 VALIDAÇÃO

4.6.1 Seletividade

Um dos aspectos mais almejados em um método analítico é a obtenção de um sinal livre da influência de outras espécies presentes em uma determinada amostra, de modo que esse sinal possa ser atribuído de forma segura aos analitos de interesse (SPÍNOLA et al., 2014). A seletividade do método proposto foi satisfatória considerando que não houve interferentes com os mesmos íons de quantificação e identificação e também devido à ausência dos poluentes emergentes no “branco”, que neste estudo foi a água ultrapura. Sendo assim, a amostra “branco” foi utilizada para o preparo das curvas analíticas e ensaios de fortificação. A Figura 15 apresenta o pico da estrona fortificada no nível de seu LOQ ($0,02 \mu\text{g L}^{-1}$) sobreposta ao branco utilizado neste trabalho (água ultrapura).

Figura 15- Cromatograma de íon total do hormônio estrona fortificado no nível de 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ sobreposta ao branco (água ultrapura).



4.6.2 Faixa de trabalho e curva analítica

A expressão matemática usada para o cálculo de concentração do analito a ser determinado contou com uma equação da reta (Equação 1), que relaciona duas variáveis, conforme estabelecido pelo INMETRO, 2011:

$$y = ax + b \quad (1)$$

sendo:

y= resposta medida (área do pico);

x= concentração;

a= coeficiente angular, inclinação da curva analítica;

b= coeficiente linear - intersecção com o eixo y, quando x=0.

Os coeficientes de determinação e a faixa linear obtidos através do preparo da curva podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 – Coeficiente de determinação e faixa linear para a curva preparada na matriz branco fortificada.

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r^2
17- β -estradiol	0,4-10,0	0,9973
Androstenediona	0,04-2,0	0,9948
Bisfenol A	0,08-2,0	0,9979
Bisfenol B	1,6-40,0	0,9938
Diclofenaco	2,0-20,0	0,9909
Estriol	0,2-10,0	0,9996
Estrona	0,2-10,0	0,9999
Ibuprofeno	0,4-10,0	0,9922
Acetato de megestrol	0,04-2,0	0,9992
Paracetamol	0,08-2,0	0,9967
Progesterona	0,04-2,0	0,9981
Testosterona	0,04-2,0	0,9946
Tetrabromobisfenol A	0,8-40,0	0,9953

Através dos resultados obtidos, verificou-se que a linearidade de todos os contaminantes emergentes foi satisfatória uma vez que todos apresentaram $r^2 > 0,99$. A estabilidade do instrumento foi verificada utilizando o padrão interno trifenílfosfato (PI), a fim de verificar a repetibilidade do sinal no sistema cromatográfico.

4.6.3 Exatidão e precisão

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003) a precisão de um método analítico pode ser determinada através do desvio padrão ou desvio padrão relativo (RSD%) ou coeficiente de variação (CV%) de uma série de medidas. Assim, a precisão é expressa segundo a Equação 2, utilizando a fórmula:

$$RSD (\%) = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad (2)$$

Sendo,

RSD (%) = desvio padrão relativo;

s = estimativa do desvio padrão absoluto;

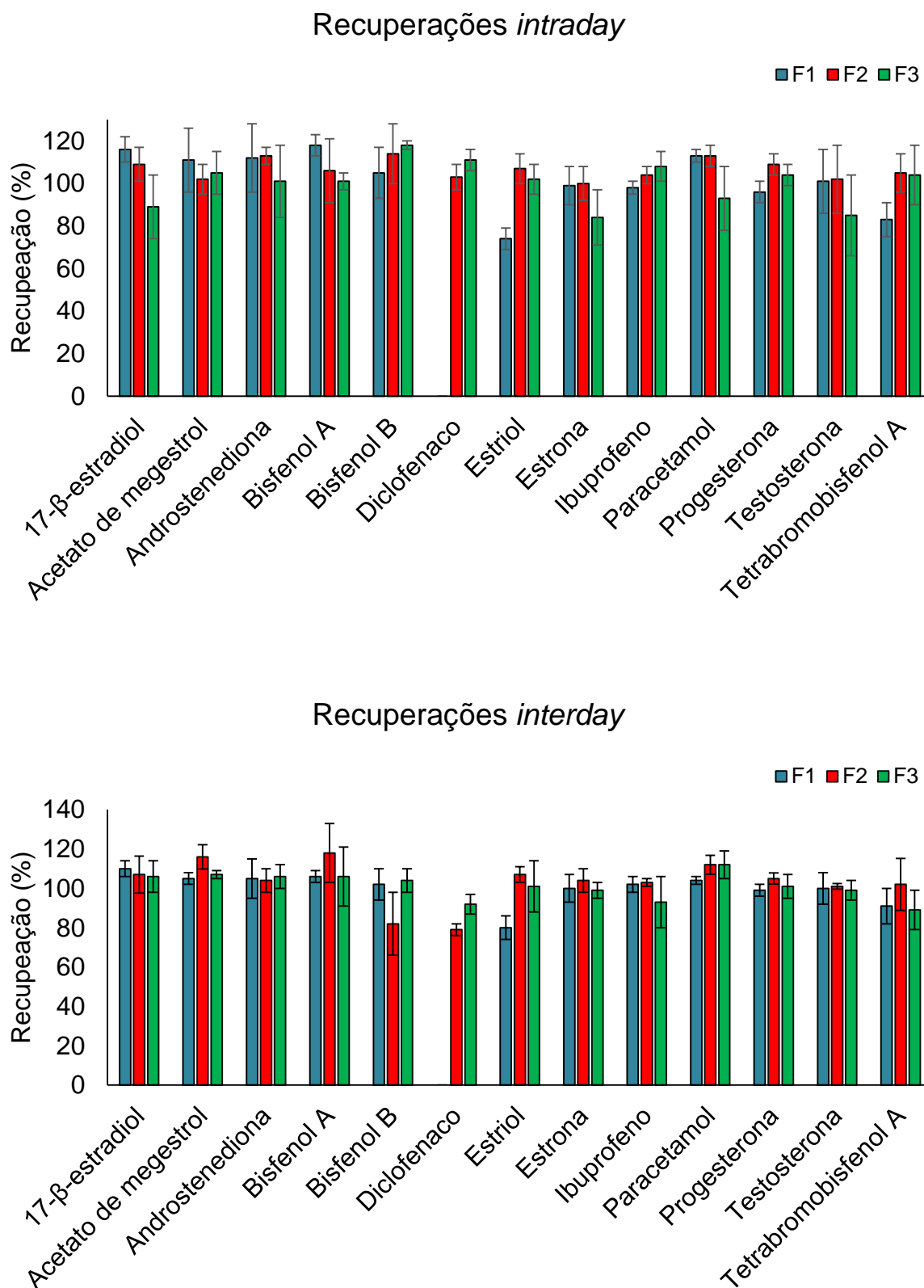
X_m = média de uma série de medidas.

A exatidão e precisão do método foram avaliados através da análise de três níveis de fortificação com seis repetições, utilizando o cálculo de recuperação e desvio padrão relativo, respectivamente (Figura 16). O método validado proporcionou resultados satisfatórios para todos os compostos avaliados em 3 diferentes níveis de concentração (conforme descrito no item 3.10).

A exatidão e precisão (*intra* e *interday*) foram satisfatórias tendo em vista que as recuperações variaram de 74 a 118% com $RSD \leq 19\%$ conforme demonstrado na Tabela 10 e Figura 16.

Tabela 10- Resultados de recuperação e RSD para os ensaios de repetibilidade e precisão intermediária em diferentes níveis de fortificação.

Analitos	Repetibilidade			Precisão intermediária		
	Recuperação±RSD(%)			Recuperação±RSD(%)		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
17-β-estradiol	116±6	109± 8	89 ±15	110± 4	107± 9	106±8
Androstenediona	112±16	113±4	101±17	105±10	104± 6	106±2
Bisfenol A	118± 5	106±15	101± 4	106±3	118±15	106±6
Bisfenol B	105±12	114±14	118±2	102±8	82±16	104±15
Diclofenaco	-	103± 6	111± 5	-	79±3	92±6
Estriol	74±5	107±7	102±7	80± 6	107±4	101±5
Estrona	99±9	100± 8	84±13	100± 7	104±6	99±13
Ibuprofeno	98 ±3	104±4	108±7	102± 4	103±2	93±4
Acetato de megestrol	111±15	102±7	105±10	105± 3	116±6	107±13
Paracetamol	113 ± 3	113± 5	93±15	104± 2	112±5	112±7
Progesterona	96±5	109±5	104± 5	99± 3	105±3	101±6
Testosterona	101±15	102±16	85± 19	100± 8	101±1	99±5
Tetrabromobisfenol A	83±8	105±9	104±14	91± 9	102±13	89±10

Figura 16- Recuperações *intra* e *interday* obtidas em 3 níveis de fortificação diferentes

4.6.4 Limite de detecção e quantificação

O limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) pode ser definido como a menor concentração da substância de interesse que pode ser medida com exatidão e precisão. É o nível de concentração mais baixo validado cumprindo critérios de aceitabilidade e desempenho do método. O LOQ também pode ser calculado através do método visual, relação sinal-ruído ou de parâmetros da curva analítica (ZANELLA et al., 2015).

O limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) representa a menor concentração da substância que pode ser detectada mas não necessariamente quantificada. A forma de calcular este parâmetro pode ser a mesma do LOQ ou através da equação 3:

$$LOD = \frac{LOQ}{3,33} \quad (3)$$

Os valores de LOQ foram determinados levando em consideração a menor concentração do analito que pode ser validado com uma exatidão aceitável entre 70-120% e com RSD $\leq 20\%$. Todos os compostos fortificados no nível 1 (F1) foram quantificados, com exceção do diclofenaco o qual apresentou valores de recuperação e RSD aceitáveis a partir do nível 2 (F2). Os limites de detecção e quantificação foram de 0,012 a 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,04 a 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Tabela 11).

Tabela 11 – Valores de LOQ e LOD obtidos na validação.

Analitos	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
17- β -estradiol	0,4	0,12
Androstenediona	0,04	0,012
Bisfenol A	0,08	0,024
Bisfenol B	1,6	0,48
Diclofenaco	2,0	0,6
Estriol	0,2	0,06
Estrona	0,2	0,06
Ibuprofeno	0,4	0,12
Acetato de megestrol	0,04	0,012
Paracetamol	0,08	0,024
Progesterona	0,04	0,012
Testosterona	0,04	0,012
Tetrabromobisfenol A	0,8	0,24

Em comparação com outros estudos que utilizam a técnica de BA μ E, os LOQs obtidos neste estudo foram mais baixos com exceção do trabalho BERNARDA et al., 2015 (0,026 a 0,1056 $\mu\text{g L}^{-1}$). Porém, ressalta-se que este estudo foi aplicado para a análise de 5 pesticidas em água utilizando a técnica de GC-MS.

Em relação ao número de compostos, a quantidade máxima de analitos determinados até então pela técnica de BA μ E foi de 10 fungicidas (ALMEIDA & NOGUEIRA, 2012) e neste trabalho foi possível a determinação de 13 contaminantes emergentes de diferentes classes.

4.7 APLICAÇÃO EM AMOSTRAS REAIS

O método otimizado foi aplicado para a análise de contaminantes emergentes em 15 amostras de água. A fim de avaliar a aplicabilidade da metodologia proposta, os ensaios foram realizados em 8 amostras de água de superfície, 4 amostras de água de torneira e 3 amostras de água de garrafa. No total, foram encontradas 6 amostras positivas (6 de água de superfície). A Tabela 12 apresenta os valores encontrados em amostras de água utilizando a presente metodologia. Na figura 17 pode ser visualizado a presença de paracetamol e bisfenol A na amostra AS 3 e AS 6 e seus respectivos LOQs.

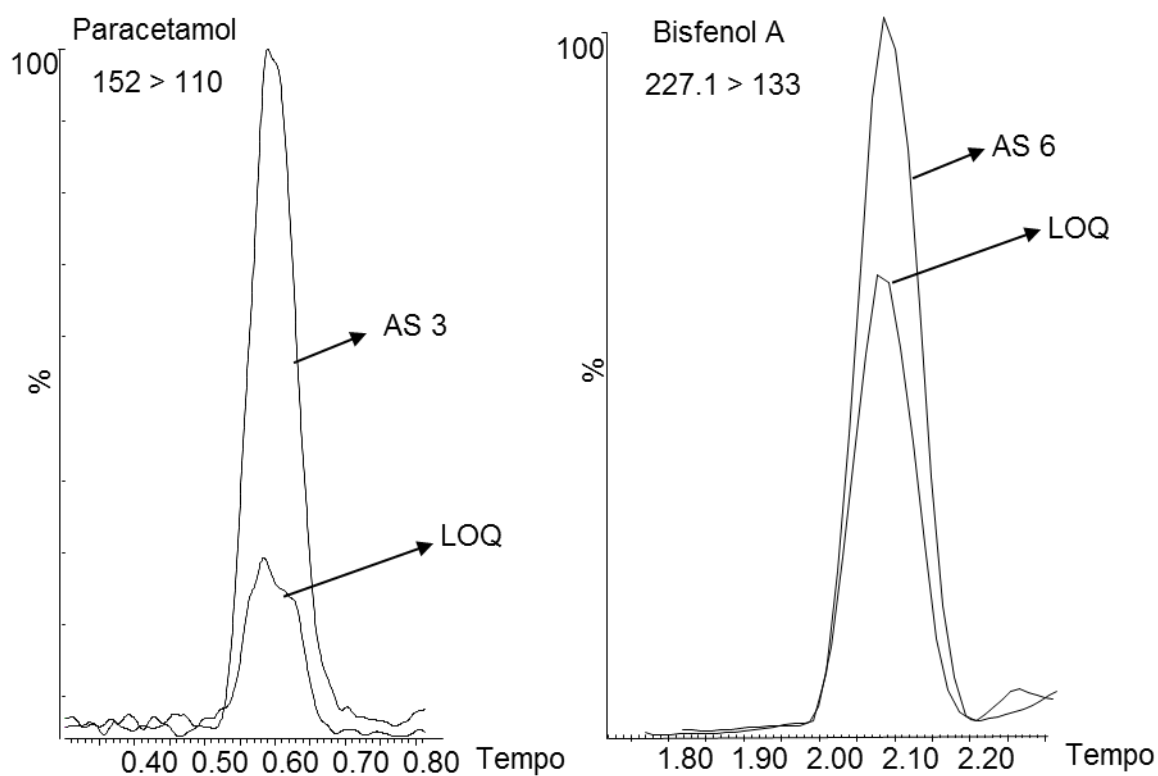
Tabela 12- Concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$) de contaminantes emergentes em amostras reais em águas de superfície.

Analitos	Água de superfície					
	AS 1	AS 2	AS 3	AS 4	AS 5	AS 6
Bisfenol A	n.d	0,67	0,08	n.d	0,08	0,17
Paracetamol	0,70	0,31	4,2	0,10	n.d	n.d

n.d: não detectado

Os contaminantes emergentes bisfenol A e paracetamol foram encontrados em concentrações de 0,08 a 0,665 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,104 a 4,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. MONTAGNER & JARDIM (2011) detectaram o plastificante bisfenol A (0,204 a 13,016 $\mu\text{g L}^{-1}$) e paracetamol (0,0134 a 0,28 $\mu\text{g L}^{-1}$) em águas de superfície no Brasil. MELO & BRITO (2014) também relataram a presença de bisfenol A em 2 amostras de água de superfície no Brasil em concentrações que variaram de 1,11 a 3,61 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Figura 17-Cromatograma de duas amostras positivas de paracetamol e bisfenol A em águas de superfície (AS 3 e AS 6), com os seus respectivos LOQs obtidos pela técnica de BA μ E seguido pela análise por UHPLC-MS/MS.



O bisfenol A é amplamente empregado como monômero na produção de resinas e polícarbamatos na indústria de plástico. A presença deste composto pode estar relacionada tanto com a disposição incorreta destes plásticos em cursos d'água quanto pelo contato do ser humano com alimentos ou bebidas que contém este composto nas embalagens.

O paracetamol foi o composto mais detectado (concentração média de 3,702 $\mu\text{g L}^{-1}$) em águas de superfície de uma região urbana central do Sul do Brasil (CAMPANHA et al., 2015). O uso de paracetamol pode estar associado principalmente ao alto consumo deste composto como analgésico e devido a falta de controle de consumo do mesmo, tendo em vista que é um medicamento que pode ser vendido sem prescrição médica (CAMPANHA et al., 2015).

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou o desenvolvimento do dispositivo de microextração adsortiva em barra (BA μ E) para a análise de contaminantes emergentes em água utilizando a técnica de UHPLC-MS/MS. Os testes mecânicos e de estabilidade foram realizados de forma a garantir que o dispositivo suportasse diferentes condições de solvente, pH e temperatura. Desta forma, verificou-se que o solvente acetonitrila foi a melhor opção tendo em vista que não degradou a fita em torno do dispositivo. Quanto as condições de temperatura e pH foi constatado que as barras suportaram todas os intervalos de pH e temperatura selecionados.

Através da realização de testes para escolha do melhor solvente para revestir o dispositivo verificou-se que o solvente Oasis[®] HLB foi o mais satisfatório para a análise dos compostos de interesse. O método de preparo de amostra proposto associada com a otimização por planejamento do composto central demonstrou uma combinação eficaz das diferentes variáveis: tempo de equilíbrio (8 h), pH (5,5), rotação (1200 rpm) e tempo de dessorção (20 min). Destaca-se que essas condições apresentam tempo de equilíbrio e de dessorção inferiores aos relatados até então tornando a análise menos morosa.

A análise por UHPLC-MS/MS apresentou alta sensibilidade e seletividade e permitiu a determinação de 13 analitos pertencentes às classes dos fármacos, hormônios, plasticidas e retardantes de chama de forma simultânea, em um intervalo de 3 minutos. Em comparação com outros estudos relatados até então, este é o primeiro trabalho que combina a técnica de BA μ E com UHPLC-MS/MS.

A metodologia desenvolvida demonstrou ser eficaz para a aplicação em amostras reais de água de superfície, torneira e de garrafa. Dentre as 15 amostras analisadas, 6 apresentaram resultados positivos para os compostos bisfenol A e paracetamol.

Por fim, o método proposto demonstrou ser eficaz para a análise contaminantes emergentes em água tendo em vista a possibilidade de analisar diferentes classes de forma simultânea e com um preparo de amostra simples e de baixo custo. Esta metodologia é uma alternativa viável para microextração e enriquecimento de analitos e tende a ganhar espaço com o desenvolvimento de novas condições que otimizem e simplifiquem o processo de extração e dessorção.

DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS

Os resíduos líquidos e sólidos gerados no desenvolvimento deste trabalho foram devidamente identificados e encaminhados para o almoxarifado do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria para posterior tratamento e descarte.

Os resíduos sólidos foram armazenados em sacos plásticos enquanto os líquidos foram transferidos para frascos de vidro.

Os resíduos líquidos foram ainda subdivididos nas seguintes classes: halogenados e não-halogenados e álcool e acetona os quais foram utilizados na limpeza do material de laboratório.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Aumentar o escopo de poluentes emergentes para a análise por UHPLC-MS/MS;
- ✓ Incluir mais compostos para analisar por GC-MS/MS;
- ✓ Testar a extração com BA μ E em bebidas e amostras biológicas;
- ✓ Avaliar a possibilidade de aplicação do método validado para a análise de amostras de água de diferentes regiões do país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, S.M.; ALMEIDA, C.; NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.F. Application of bar adsorptive microextraction (BA μ E) for anti-doping control screening of anabolic steroids in urine matrices. **Journal of Chromatography B**, v. 969, p. 35-41, 2014.

ALMEIDA, C.; NOGUEIRA, J.M.F. Comparison of the selectivity of different sorbent phases for bar adsorptive microextraction - Application to trace level analysis of fungicides in real matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 1265, p. 7-16, 2012.

ALMEIDA, C.; NOGUEIRA, J.M.F. Determination of sex hormones in real matrices by bar adsorptive microextraction (Ba μ E). **Talanta**, v. 136, p. 145-154, 2015.

ALMEIDA, C.; NOGUEIRA, J.M.F. Determination of trace levels of parabens in real matrices by bar adsorptive microextraction using selective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1348, p. 17-26, 2014.

ALMEIDA, C.; STEPKOWSKA, A.; ALEGRE, A.; NOGUEIRA, J.M.F. Determination of trace levels of benzophenone-type ultra-violet filters in real matrices by bar adsorptive micro-extraction using selective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1311, p. 1-10, 2013.

ALMEIDA, C.; STRZELCZYK, R.; NOGUEIRA, J.M.F. Improvements on bar adsorptive microextraction (BA μ E) technique—Application for the determination of insecticide repellents in environmental water matrices. **Talanta**, v. 120, p. 126-134, 2014.

ALVAREZ, D.A.; MARUYA, K.A.; DODDER, N.G.; LAO, W.; FURLONG, E.T.; SMALLING, K.L. Occurrence of contaminants of emerging concern along the California coast (2009-10) using passive sampling devices. **Marine Pollution Bulletin**, v. 81, p. 347-354, 2014.

ANDERSSON, D.I.; HUGHES, D. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. **Drug Resistance Updates**, v. 15, p. 162-172, 2012.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**, RE nº 899, de 29/05/2003.

AQUINO, S.F.; BRANDT, E.M.F.; CHERNICHARO, C.A.L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 18, p. 187-204, 2013.

ARAUJO, P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 2224-2234, 2009.

BERNARDA, J.R.; AHMAD, S.M.; ALMEIDA, C.; NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.F. Application of Bar Adsorptive Microextraction-Large-Volume Injection-Gas Chromatography-Mass Spectrometric Method for the Determination of Trace Levels of

Agrochemicals in Real Matrices, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 2150-2158, 2015.

BEZERRA, M.A.; SANTELLI, R.E.; OLIVEIRA, E.P.; VILLAR, L.S.; ESCALEIRA, L.A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965–977, 2008.

BIRCH, G.F.; DRAGE, D.S.; THOMPSON, K.; EAGLESHAM, G.; MUELLER J.F. Emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, a food additive and pesticides) in waters of Sydney estuary, Australia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 97, p. 56-66, 2015.

BOLONG, N.; ISMAIL, A.F.; SALIM, M.R.; MATSUURA, T. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. **Desalination**, v. 239, p. 229-246, 2009.

CABAN, M.; STEPNOWSKI, P.; KWIATKOWSKI, M.; MASZKOWSKA, J.; WAGIL, M.; KUMIRSKA, J. Comparison of the Usefulness of SPE Cartridges for the Determination of β -Blockers and β -Agonists (Basic Drugs) in Environmental Aqueous Samples. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1-9, 2015.

CALDERÓN-PRECIADO, D.; MATAMOROS, V.; BAYONA, J.M. Occurrence and potential crop uptake of emerging contaminants and related compounds in an agricultural irrigation network. **Science of the Total Environment**, v. 412-413, p. 14-19, 2011.

CAMPANHA, M.B.; AWAN, A.T.; SOUSA, D.N.R.; GROSSELI, G.M.; MOZETO, A.A.; FADINI, P.S. A 3-year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 7936–7947, 2015.

CASTRO-CATALÀ, N.; MUÑOZ, I.; ARMENDÁRIZ, L.; CAMPOS, B.; BARCELÓ, D.; LÓPEZ-DOVAL, J.; PÉREZ, S.; PETROVIC, M.; PICÓ, Y.; RIERA, J.L. Invertebrate community responses to emerging water pollutants in Iberian river basins. **Science of the Total Environment**, v. 503-504, p. 142-150, 2015.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada a espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, p. 623-636, 2008.

CLAESSENS, M.; VANHAECKE, L.; WILLE, K.; JANSSEN, C.R. Emerging contaminants in Belgian marine waters: Single toxicant and mixture risks of pharmaceuticals. **Marine Pollution Bulletin**, v. 71, p. 41-50, 2013.

CLARKE, B. O.; SMITH, S. R. Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. **Environment International**, v. 37, p. 226-247, 2011.

CORADA-FERNÁNDEZ, C.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, J.; CANDELA, L.; GONZÁLEZ-MAZO, E.; LARA-MARTÍN, P.A. Occurrence and spatial distribution of emerging contaminants in the unsaturated zone. Case study: Guadalete River basin (Cadiz, Spain). **Chemosphere**, v. 119, p. 131-137, 2015.

CROCCO, M.A. Alcohol, nicotine, caffeine, and mental disorders. **Clinical Research**, v. 5, p.175-185, 2003.

DASHAMIRI, S.; GHAEDI, M.; DASHTIAN, K.; RAHIMI, M.R.; GOUDARZI, A.; JANNESAR, R. Ultrasonic enhancement of the simultaneous removal of quaternary toxic organic dyes by CuO nanoparticles loaded on activated carbon: Central composite design, kinetic and isotherm study. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 546–557, 2016.

DAUGHTON, C.G. Non-regulated water contaminants: emerging research. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 24, p. 711-732, 2004.

DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLE, C.; HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 214, p. 442-448, 2011.

DIAS, A.N.; SILVA, A.C.; SIMÃO, V.; MERIB, J.; CARASEK, E. A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 59-66, 2015.

Diretiva 2013/39/EU do Parlamento Europeu e do Conselho de 12 de agosto de 2013 que altera as Diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que respeita às substâncias prioritárias no domínio da política da água

DrugBank. Drug & drug target database. <http://www.drugbank.ca/metabolites/DBMET00851>. Disponível em 09/02/2016, às 15h.

DOBOR, J.; VARGA, M.; ZÁRAY, G. Biofilm controlled sorption of selected acidic drugs on river sediments characterized by different organic carbon content. **Chemosphere**, v. 87, p.105-110, 2012.

ESTÉVEZ, E.; CABRERA, M.C.; MOLINA-DÍAZ, A.; ROBLES-MOLINA, J.; PALACIOS-DÍAZ, M.P. Screening of emerging contaminants and priority substances (2008/105/EC) in reclaimed water for irrigation and groundwater in a volcanic aquifer (Gran Canaria, Canary Islands, Spain). **Science of the Total Environment**, v. 433, p. 538-546, 2012.

FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. Analysis of emerging contaminants in food. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 240-253, 2013.

FATTORE, M.; RUSSO, G.; BARBATO, F.; GRUMETTO, L.; ALBRIZIO, S. Monitoring of bisphenols in canned tuna from Italian markets. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 68-75, 2015.

FERREIRA, A.P. Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems. **Caderno de Saúde Pública**, v. 21, p. 1884-1892, 2005.

GARCÍA-AREVALO, M.; ALONSO-MAGDALENA, P.; SANTOS, J.R.D.; QUESADA, I.; CARNEIRO, E.M.; NADAL, A. Exposure to Bisphenol-A during pregnancy partially mimics the effects of a high-fat diet altering glucose homeostasis and gene expression in adult male mice. **Plos one**, v. 9, p. 1-13, 2014.

GEISSEN, V.; MOL, H.; KLUMPP, E.; UMLAUF, G.; NADAL, M.; van der Ploeg, M.; S.E.A.T.M. van de Zee; RITSEMA, C.J. Emerging pollutants in the environment: a challenge for water resource management. **International Soil and Water Conservation**, v. 3, p. 57-65, 2015.

GODFREY, E., WOESSNER, W.W, BENOTTI, M.J. Pharmaceuticals in On-Site Sewage Effluent and Ground Water, Western Montana. **Ground Water**, v. 45, p. 263-271, 2007.

GONÇALVES, A.F.P.; NENG, N.R.; MESTRE, A.S.; CARVALHO, A.P.; NOGUEIRA, J.M.F. Powdered activated carbons as effective phases for bar adsorptive micro-extraction (BA μ E) to monitor levels of triazinic herbicides in environmental water matrices. **Journal of Chromatographic Science**, v. 50, p. 574-581, 2012.

GROS, M.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Tracing Pharmaceutical Residues of Different Therapeutic Classes in Environmental Waters by Using Liquid Chromatography/Quadrupole-Linear Ion Trap Mass Spectrometry and Automated Library Searching. **Analytical Chemistry**, v. 81, p. 898-912, 2009

GROSS, J.H. Mass spectrometry. A Textbook. 1^a ed. Springer, Alemanha, 2004.

GRUJIĆ, S.; VASILJEVIĆ, T.; LAUŠEVIĆ, M. Determination of multiple pharmaceutical classes in surface and ground waters by liquid chromatography–ion trap–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 4989-5000, 2009.

GUEDES, P.; MATEUS, E.P.; COUTO, M.N.P.F.S.; RODRÍGUEZ, Y.; RIBEIRO, A.B. Electrokinetic remediation of six emerging organic contaminants from soil. **Chemosphere**, v. 117, p.124-131, 2014.

IPCS INCHEM. International Programme on Chemical Safety. <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/nicotine.htm>. Disponível em 04/05/2016, às 20:30 h.

HMDB. The human metabolome Database. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB00053>. Disponível em 17/03/2016, às 18 h.

<https://www.thermofisher.com/br/en/home.html>. Acessado em 10/08/2016, às 21:30h.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial); Orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos, DOQ-CGCRE-008, ver. 4, 2011.

ICH (International Conference on Harmonisation); Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology, Q₂A (CPMP/ICH/381/95), 1995.

JIANG, J.J.; LEE C.L.; FANG, M.D. Emerging organic contaminants in coastal waters: Anthropogenic impact, environmental release and ecological risk. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, p. 391-399, 2014.

JIANG, J.Q.; ZHOU, Z.; SHARMA, V.K. Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in wastewater. A review from global views. **Microchemical Journal**, v.110, p. 292-300, 2013.

KABIR, E.R.; RAHMAN, M.S.; RAHMON, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environmental Toxicology and pharmacology**, v. 40, p. 241-258, 2015.

KAUFMANN, A. Combining UHPLC and high-resolution MS: A viable approach for the analysis of complex samples? **Trends in Analytical Chemistry**, v. 63, p. 113-128, 2014.

KIRAN, B.; PATHAK, K.; KUMAR, R.; DESHMUKH, D. Statistical optimization using Central Composite Design for biomass and lipid productivity of microalga: A step towards enhanced biodiesel production. **Ecological Engineering**, v. 92, p. 73-81, 2016.

KOMES, D.; HORŽIĆ, D.; BELŠČAK, A.; KOVAČEVIĆ GANIČ, K.; BALJ, A. Determination of Caffeine Content in Tea and Maté Tea by using Different Methods. **Czech Journal of Food Science**, v. 27, p. 213-216, 2009.

LANÇAS, F.M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, v.1, p. 35-61, 2009.

LAPWORTH, D.J.; BARAN, N.; STUART, M.E.; WARD, R.S. Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence. **Environmental pollution**, v. 163 p. 287-303, 2012.

LI, X.; YING, G.G.; SU, H.C.; YANG, X.B.; WANG, L. Simultaneous determination and assessment of 4-nonylphenol, bisphenol A and triclosan in tap water, bottled water and baby bottles. **Environment International**, v. 36, p. 557-562, 2010.

LIU, Q.; REN, X.; LONG, Y.; HU, L.; QU, G.; ZHOU, Q.; GUIBIN, J. The potential neurotoxicity of emerging tetrabromobisphenol A derivatives based on rat pheochromocytoma cells. **Chemosphere**, v. 154, p.194-203, 2016.

LOCATELLI, M.A.; SODRÉ, F.F.; JARDIM, W.F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass

spectrometry. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 60, p. 385-393, 2011.

LOPES, A.; SILVA, N.; BRONZE, M.R.; FERREIRA, J.; MORAIS, J. Analysis of cocaine and nicotine metabolites in wastewater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Cross abuse index patterns on a major community. **Science of The Total Environment**, v. 487, p. 673–680, 2014.

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, B.; OLLIVIER, P.; TOGOLA, A.; BARAN, N.; GHESTEM, J.P. Screening of French groundwater for regulated and emerging contaminants. **Science of the total environment**, v. 518-519, p. 562–573, 2015.

LOPEZ DE ALDA, M.J.; DÍAZ-CRUZ, S., PETROVIC, M.; Barceló, D. Liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, drugs and alkylphenolic surfactants) in the aquatic environment. **Journal of chromatography A**, v. 1000, p. 503-526, 2003.

MEFFE, R.; BUSTAMANTE, I. Emerging organic contaminants in surface water and groundwater: a first overview of the situation in Italy. **Science of the Total Environment**, v. 482, p. 280-295, 2014.

MELO, S.M.; BRITO, N.M. Analysis and Occurrence of Endocrine Disruptors in Brazilian Water by HPLC-Fluorescence Detection. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, p.1783-1789, 2014.

MONTAGNER, C.C.; JARDIM, W.F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the brazilian Chemical Society**, v. 22, p.1452-1462, 2011.

NENG, N.R.; SEQUEIROS, R.C.; NOGUEIRA, J.M.F. Combining bar adsorptive microextraction with capillary electrophoresis--application for the determination of phenolic acids in food matrices. **Electrophoresis**, v. 35, p. 2488-2494, 2014.

NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.F. Development of a bar adsorptive micro-extraction–large-volume injection–gas chromatography–mass spectrometric method for pharmaceuticals and personal care products in environmental water matrices. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p.1355-1364, 2012.

NENG, N.R.; SILVA, A.R.M.; NOGUEIRA, J.M.F. Adsorptive micro-extraction techniques–Novel analytical tools for trace levels of polar solutes in aqueous media. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 7303-7310, 2010.

NENG, N.R.; AHMAD, S.M.; GASPAR, H.; NOGUEIRA, J.M.F. Determination of mitragynine in urine matrices by bar adsorptive microextraction and HPLC analysis. **Talanta**, v. 144, p. 105-109, 2015.

NENG, N.R.; MESTRE, A.S.; CARVALHO, A.P.; NOGUEIRA, J.M.F. Powdered activated carbons as effective phases for bar adsorptive micro-extraction (BA μ E) to monitor levels of triazinic herbicides in environmental water matrices. **Talanta**, v. 83, p. 1643-1649, 2011.

NOGUEIRA, J.M.F. Microextração adsortiva em barra (BA μ E): um conceito analítico inovador para microextração estática. **Scientia Chromatographica**, v. 5, p. 275-283, 2013.

OEHLMANN, J. OETKEN, M.; SCHULTE-OEHLMANN, U. A critical evaluation of the environmental risk assessment for plasticizers in the freshwater environment in Europe, with special emphasis on bisphenol A and endocrine disruption. **Environmental Research**, v. 108, p. 140-149, 2008.

OLIVEIRA, T.M.B.F.; PESSOA, G.P.; SANTOS, A.B.; LIMA-NETO, P.; CORREIA, A.N. Simultaneous electrochemical sensing of emerging organic contaminants in full-scale sewage treatment plants. **Chemical Engineering Journal**, v. 267, p. 347-354, 2015.

PAÍGA, P.; LOLIĆ, A.; HELLEBUYCK, F.; SANTOSA, L.H.M.L.M.; CORREIA, M.; DELERUE-MATOS, C. Development of a SPE-UHPLC-MS/MS methodology for the determination of non-steroidal anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in seawater. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 97, p. 61-70, 2015.

PAL, A.; HE, Y.; JEKEL, M.; REINHARD, M.; GIN, K.Y.H. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. **Environment International**, v. 71, p. 46-62, 2014.

PÉREZ-FUENTETAJA, A.; LUPTON, S.; CLAPSADL, M.; SAMARA, F.; GATTO, L.; BINIAKEWITZ, R.; AGA, D.S. PCB and PBDE levels in wild common carp (*Cyprinus carpio*) from eastern Lake Erie. **Chemosphere**, v. 81, p. 541-547, 2010.

PESTA, D.H.; ANGADI, S.S.; BURTSCHER, M.; ROBERTS, C.K. The effects of caffeine, nicotine, ethanol, and tetrahydrocannabinol on exercise performance. **Nutrition e Metabolism**, v. 10, p. 1-15, 2013.

PETERS, F.T.; DRUMMER, O.H.; MUSSHOF, F. Validation of new methods. **Forensic Science International**, v. 165, p. 216-224, 2007.

PETROVIĆ, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 685-696, 2003.

PICOT GROZ, M.; MARTINEZ BUENO, M.J.; ROSAIN, D.; FENET H.; CASELLAS, C.; PEREIRA, C.; MARIA, V.; BEBIANNO M.J.; GOMEZ, E. Detection of emerging

contaminants (UV filters, UV stabilizers and musks) in marine mussels from Portuguese coast by QuEChERS extraction and GC–MS/MS. **Science of the Total Environment**, v. 493, p. 162-169, 2014.

PINTADO-HERRERA, M.G.; GONZÁLEZ-MAZO, E.; LARA-MARTÍN, P.A. Atmospheric pressure gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry (APGC–ToF-MS) for the determination of regulated and emerging contaminants in aqueous samples after stir bar sorptive extraction (SBSE). **Analytica Chimica Acta**, v. 851, p. 1-13, 2014.

PONTES, F.J.; SILVA, M.B; FERREIRA, J.R; PAIVA, A.P.; BALESTRASSI, P.P.; SCHÖNHORST, G.B. A DOE based approach for the design of RBF artificial neural networks applied to prediction of surface roughness in AISI 52100 hardened steel turning. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 32, p. 1678-5878, 2010.

Pub chem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> Disponível em 20/04/2016, às 17:20h.

RAHMAN, M.M.; ABD EL-ATY A.M.; CHOI, J.H.; KIM, S.W.; SHIN, S.C.; SHIM, J.H. Consequences of the matrix effect on recovery of dinotefuran and its metabolites in green tea during tandem mass spectrometry analysis. **Food Chemistry**, v. 168 p. 445-453, 2015.

RAIMUNDO, C.C.M.; Contaminantes emergentes em água tratada e seus mananciais: sazonalidade, remoção e atividade estrogênica. Campinas, 2011.

RICHARDSON, S.D.; TERNES, T.A. Water Analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v. 83, p. 4614-4648, 2011.

ROBLES-MOLINA, J.; GILBERT-LÓPEZ, B.; GARCÍA-REYES, J.F.; MOLINA-DÍA, A. Monitoring of selected priority and emerging contaminants in the Guadalquivir River and other related surface waters in the province of Jaén, South East Spain. **Science of the Total Environment**, v. 479-480, p. 247-257, 2014.

RODIL, R.;QUINTANA, J.B.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.;PRADA-RODRÍGUEZ, D. Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 2958-2969, 2009.

RODRIGUES, K.L.T; SANSON, A.L.; QUARESMA, A.V.; GOMES, R.P.; SILVA, G.A.; AFONSO, R.J.C.F. Chemometric approach to optimize the operational parameters of ESI for the determination of contaminants of emerging concern in aqueous matrices by LC-IT-TOF-HRMS. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 242-249, 2014.

RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; ALDA, M.J.L.; BARCELÓ, D. Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography–mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1152, p. 97-115, 2007.

ROGERS, H.A. How composition methods are developed and validated. **Journal of Agriculture and food chemistry**, v. 61, p. 8312-8316, 2013.

SANTE, EUROPEAN COMMISSION. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Document nº SANCO/11945/2015, 2015.

SÁNCHEZ-AVILA, J.; TAULER, R.; LACORTE, S. Organic micropollutants in coastal waters from NW Mediterranean Sea: sources distribution and potential risk. **Environment International**, v. 46, p. 50-62, 2012.

SECONDES, M.F.N.; NADDEO, V.; BELGIORNO, V.; BALLESTEROS Jr, F. Removal of emerging contaminants by simultaneous application of membrane ultrafiltration, activated carbon adsorption, and ultrasound irradiation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 264, p. 342-349, 2014.

SHEWIYO, D.H.; KAALE, E.; RISHA, P.G.; DEJAEGHER, B.; SMEYERS-VERBEKE, J.; HEYDEN Y.V.; HPLC methods to assay active ingredients in pharmaceutical formulations: A review of the method development and validation steps. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 66, p. 11-23, 2012.

SILVA, C.P. Evaluation of the anthropogenic input of caffeine in surface waters of the north and center of Portugal by ELISA. **Science of the Total Environment**, v. 479–480, p. 227-232, 2014.

SILVA, C.G.A.; COLLINS, C.H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Quimica Nova**, v. 34, p. 665-676, 2011.

SODRÉ, F.F.; LOCATELLI, M.A.F.; JARDIM, W.F. Occurrence of emerging contaminants in brazilian drinking waters: a sewage-to-tap issue. **Water Air Soil Pollution**, v. 206, p. 57-67, 2010.

SORENSEN, J.P.R.; LAPWORTH, D.J.; NKHUWA, D.C.W.; STUART, M.E.; GOODDY, D.C.; BELL, R.A.; CHIRWA, M. KABIKA, J.; LIEMISA, M.; CHIBESA, M.; PEDLEY, S. Emerging contaminants in urban groundwater sources in Africa. **Water research**, v. 71, p. 51-63, 2015.

SOUSA, D.N.R.; MOZETO, A.A.; CARNEIRO, R.L.; FADINI, P.S. Electrical conductivity and emerging contaminant as markers of surface freshwater contamination by wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 484, p. 19–26, 2014.

SOUZA, S.V.C; JUNQUEIRA, R.G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analytica Chimica Acta**, v. 552, p. 25-35, 2005.

SPÍNOLA, V.; LLORENT-MARTÍNEZ, E.J.; CASTILHO, P.C.; Determination of vitamin C in foods: current state of method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1369, p. 2-17, 2014.

STUART, M.; LAPWORTH, D.; CRANE, E.; HART, A.; Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. **Science of the Total Environment**, v. 416, p. 1–21, 2012.

TANABE, S.; RAMU, K. Monitoring temporal and spatial trends of legacy and emerging contaminants in marine environment: Results from the environmental specimen bank (es-BANK) of Ehime University, Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 1459–1474, 2012.

THOMAIDI, V.S.; STASINAKIS, A.S.; BOROVA, V.L.; THOMAIDIS, N.S. Is there a risk for the aquatic environment due to the existence of emerging organic contaminants in treated domestic wastewater? Greece as a case-study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 283, p. 740–747, 2015.

TSINISIZELI, N.; SOTIROUDIS, G.; XENAKIS, A.; LYKERIDOU, K.E. Determination of nicotine and cotinine in meconium from Greek neonates and correlation with birth weight and gestational age at birth. **Chemosphere**, v. 119, p. 1200–1207, 2015.

WANG, G.; SUNB, Q.; ZHANG, Y.; FANA, J.; MA, L. Sorption and regeneration of magnetic exfoliated graphite as a new sorbent for oil pollution. **Desalination**, v. 263, p. 183-188, 2010.

WIDELKA, M.; LYDY, M.J.; WU, Y.; CHEN, D. Statewide surveillance of halogenated flame retardants in fish in Illinois, USA. **Environmental Pollution**, v. 214, p. 627-634, 2016.

WIELOGÓRSKA, E. Endocrine disruptor activity of multiple environmental food chain contaminants. **Toxicology in Vitro**, v. 29, p. 211–220, 2015.

YAN, C.; YANG, Y.; ZOU, J.; NIE, M.; LIU, M.; HOHELLA, M.F. Jr. Selected emerging organic contaminants in the Yangtze Estuary, China: A comprehensive treatment of their association with aquatic colloids. **Journal of Hazardous Materials**, v. 283, p. 14-23, 2015.

YAN, Z.; YANG, X.; LU, G.; LIU, J.; XIE, Z.; WU, D. Potential environmental implications of emerging organic contaminants in Taihu Lake, China: comparison of two ecotoxicological assessment approaches. **Science of The Total Environment**, v. 470-471, p. 171-179, 2014.

YANG, Y.Y. Degradation and transport pathways of steroid hormones from human and animal waste. Dissertação. Colorado State University, Fort Collins, Colorado, 2010.

YANGALI-QUINTANILLA, V.; SADMANI, A.; McCONVILLE, M.; KENNEDY, M.; AMY, G. A QSAR model for predicting rejection of emerging contaminants (pharmaceuticals, endocrine disruptors) by nanofiltration membranes. **Water Research**, v. 44, p. 373–384, 2010a.

YANGALI-QUINTANILLA, V.; MAENG, S.K.; FUJIOKA, T.; KENNEDY, M.; AMY, G. Proposing nanofiltration as acceptable barrier for organic contaminants in water reuse. **Journal of Membrane Science**, v. 362, p. 334-345, 2010b.

ZANELLA, R.; PRESTES, O.D.; MARTINS, M.L.; ADAIME, M.B. High Performance Liquid Chromatography in Pesticide Residue Analysis, editado por Tomasz Tuzimski e Joseph Sherma. CRC Press Taylor & Francis Group 2015 (582 Hal). Chapter 13 – Quantitative Analysis and Method Validation, p. 303-324, 2015.

ZENDONG, Z.; HERRENKNECHT, C.; ABADIE, E.; BRISSARD, C.; TIXIER, C.; MONDEGUER, F.; SÉCHET, V.; AMZIL, Z.; HESS, P. Extended evaluation of polymeric and lipophilic sorbents for passive sampling of marine toxins. **Toxicon**, v. 91, p. 57-68, 2014.

ZHU, J.; SNOW, D.D.; CASSADA, D.A.; MONSON, S.J.; SPALDING, R.F. Analysis of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline in water using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 928, p. 177-186, 2001.

APÊNDICE A- TABELAS COM AS CONCENTRAÇÕES DA CURVA PREPARADA NA MATRIZ BRANCO FORTIFICADA DE CADA COMPOSTO EM ESTUDO

Curva 0,04 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$: androstenediona, acetato de megestrol, progesterona e testosterona

Concentração na dessorção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração na fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração final no equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
2	0,04	1
4	0,08	2
10	0,2	5
20	0,4	10
40	0,8	20
100	2	50

Curva 0,08 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$: bisfenol A e paracetamol

Concentração na dessorção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração na fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração final no equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
4	0,08	2
10	0,2	5
20	0,4	10
40	0,8	20
100	2	50

Curva 0,2 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$: estriol e estrona

Concentração na dessorção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração na fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração final no equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
10	0,2	5
20	0,4	10
50	1	25
100	2	50
200	4	100
500	10	250

Curva 0,4 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$: ibuprofeno e 17- β -estradiol

Concentração na dessorção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração na fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração final no equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
20	0,4	10
50	1	25
100	2	50
200	4	100
500	10	250

Curva 1,6 a 40,0 $\mu\text{g L}^{-1}$: bisfenol B

Concentração na dessorção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração na fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração final no equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
80	1,6	40
200	4	100
400	8	200
800	16	400
2000	40	1000

Curva 2,0 a 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$: diclofenaco

Concentração na dessorção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração na fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração final no equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
100	2	50
200	4	100
400	8	200
500	10	250
1000	20	500

Curva 0,8 a 40,0 $\mu\text{g L}^{-1}$: tetrabromobisfenol

Concentração na dessorção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração na fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração final no equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
40	0,8	20
80	1,6	40
200	4	100
400	8	200
800	16	400
2000	40	1000