

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

Júlia Antunes de Oliveira

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA MULTICLASSE DE FÁRMACOS EM
ÁGUA DE CONSUMO HUMANO EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA E UHPLC-MS/MS**

Santa Maria, RS

2019

Júlia Antunes de Oliveira

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA MULTICLASSE DE FÁRMACOS EM ÁGUA DE
CONSUMO HUMANO EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA 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 **Mestra em Química**.

Orientador: Prof^o. Dr. Renato Zanella

Santa Maria, RS
2019

de Oliveira, Júlia Antunes
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA MULTICLASSE DE FÁRMACOS EM
ÁGUA DE CONSUMO HUMANO EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA
E UHPLC-MS/MS / Júlia Antunes de Oliveira.- 2019.
87 p.; 30 cm

Orientador: Renato Zanella
Coorientadora: Martha Bohrer Adaime
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2019

1. Fármacos 2. Água 3. Extração em fase sólida 4. UHPLC
MS/MS I. Zanella, Renato II. Bohrer Adaime, Martha III.
Título.

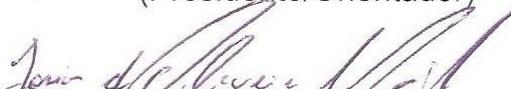
Júlia Antunes de Oliveira

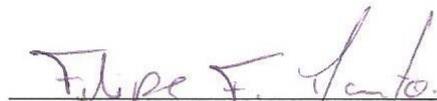
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA MULTICLASSE DE FÁRMACOS EM ÁGUA DE
CONSUMO HUMANO EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E
UHPLC-MS/MS

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 **Mestra em Química**.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2019:


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


Josias de Oliveira Merib, Dr. (UFCSPA)


Filipe Fagan Donato, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2019

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Zanella pela oportunidade de ingressar no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) e também por todos os ensinamentos, paciência e dedicação. Obrigada por ter acreditado em mim!

À Prof^a. Dr^a. Martha Bohrer Adaime pela coorientação e ao Prof. Dr. Osmar Damian Prestes pelo aprendizado e pelas sugestões concedidas ao decorrer deste trabalho.

Aos professores da banca examinadora Dr. Filipe Fagan Donato e Dr. Josias de Oliveira Merib pela atenção e por todas as sugestões.

Aos demais colegas do LARP pelo companheirismo, pelas risadas e por terem me recebido tão bem no laboratório. Agradeço especialmente às colegas e amigas Daniela, Lenise, Luana, Roberta e Tiele pelo incentivo e por toda a ajuda recebida durante o desenvolvimento deste trabalho. Sou muito grata pela amizade e pelo carinho de vocês!

Aos meus amigos e colegas da graduação Ana Júlia, Francisco, Loisleini e William pelos conselhos e por terem ficado ao meu lado nos momentos difíceis. Saibam que a amizade e o apoio de vocês foi muito importante para mim!

À amiga de longa data Mariany que apesar da distância sempre se fez presente ao longo desses anos.

À CAPES, ao CNPq e aos demais órgãos de fomento por terem fornecido o suporte financeiro necessário para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meu pais Marlise e Paulo por terem sido o meu suporte nos últimos 23 anos. Eu não chegaria até aqui sem vocês. Obrigada por terem me incentivado a correr atrás dos meus sonhos. Amo vocês!

*“Se o conhecimento pode criar problemas,
não é através da ignorância que
podemos solucioná-los.”*

Isaac Asimov

RESUMO

DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA MULTICLASSE DE FÁRMACOS EM ÁGUA DE CONSUMO HUMANO EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E UHPLC-MS/MS

AUTORA: Júlia Antunes de Oliveira
ORIENTADOR: Renato Zanella

Os fármacos são utilizados tanto na medicina humana como na veterinária para a prevenção e o tratamento das mais diversas doenças. A ausência de um tratamento adequado para os efluentes urbanos e industriais associada ao descarte incorreto de produtos não utilizados ou vencidos resulta na contaminação de ambientes aquáticos por fármacos e seus metabólitos. Ao contrário de outros contaminantes, os fármacos não precisam necessariamente persistir no ambiente para causarem efeitos prejudiciais, pois além de serem liberados de forma contínua, são substâncias biologicamente ativas. O aumento do consumo de medicamentos a nível global torna essencial o estudo da ocorrência destes compostos em meio aquático. Nesse contexto, é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis a fim de monitorar a presença de fármacos em matrizes aquosas potencialmente utilizadas para o abastecimento humano. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método simples para a determinação simultânea de fármacos de diferentes classes em água de consumo humano, empregando extração em fase sólida (SPE) e cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). Diferentes sorventes, solventes e volumes de eluição foram avaliados. As condições otimizadas da etapa de extração foram: cartucho Strata™-X 200 mg/3 mL, amostra com pH 5,5-6,0 com adição de 0,1% de EDTA, solvente de eluição acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético e volume de eluição de 1 mL. Os resultados dos ensaios de recuperação, avaliados nos níveis 0,01, 0,02, 0,1, 0,4 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=6), ficaram entre 70 e 119% com desvio padrão relativo (DPR) $\leq 19\%$. Os limites de quantificação e de detecção do método foram de 0,01 a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,003 a 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O método validado foi aplicado em 12 amostras de água de consumo humano de diferentes cidades e regiões do Rio Grande do Sul e os resultados indicaram que três amostras estavam contaminadas com atenolol (0,026 $\mu\text{g L}^{-1}$), carbamazepina (0,013 e 0,027 $\mu\text{g L}^{-1}$) e paracetamol (0,016 $\mu\text{g L}^{-1}$). O método proposto foi considerado adequado para a determinação de 20 fármacos em água de consumo humano, podendo ser aplicado em análises de rotina devido à sua confiabilidade e simplicidade.

Palavras-chave: Fármacos, água, SPE, UHPLC-MS/MS.

ABSTRACT

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF MULTICLASS PHARMACEUTICALS IN DRINKING WATER BY SOLID PHASE EXTRACTION AND UHPLC-MS/MS

AUTHOR: Júlia Antunes de Oliveira
ADVISOR: Renato Zanella

Pharmaceuticals are used in both human and veterinary medicine for the prevention and treatment of various diseases. The lack of adequate treatment for urban and industrial effluents associated with the incorrect disposal of unused or expired products results in the contamination of aquatic environments by pharmaceuticals and their metabolites. Unlike other contaminants, pharmaceuticals do not necessarily have to persist in the environment to cause harmful effects, because in addition to being released continuously, they are biologically active substances. The increase in consumption of medicines at a global level makes essential the study of the occurrence of these compounds in the aquatic environment. In this context, the development of reliable analytical methods is necessary to monitor the presence of pharmaceuticals in aqueous matrices potentially used for human supply. The objective of this work was to develop and validate a simple method for the simultaneous determination of pharmaceuticals of different classes in drinking water, using solid phase extraction (SPE) and ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). Different sorbents, solvents and elution volumes were evaluated. The optimized conditions of the extraction step were: Strata™-X 200 mg/3 mL cartridge, sample with pH 5.5-6.0 with addition of 0.1% of EDTA, eluting solvent 1% (v/v) acetic acid in acetonitrile/methanol (1:1, v/v) and elution volume of 1 mL. The recovery results, evaluated at the levels 0.01, 0.02, 0.1, 0.4 and 1.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=6), were between 70 and 119% with relative standard deviation (RSD) $\leq 19\%$. The limits of quantification and detection of the method were 0.01 to 0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 0.003 to 0.03 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The validated method was applied in 12 drinking water samples from different cities and regions of Rio Grande do Sul and the results indicated that three samples were contaminated with atenolol (0.026 $\mu\text{g L}^{-1}$), carbamazepine (0.013 and 0.027 $\mu\text{g L}^{-1}$) and paracetamol (0.016 $\mu\text{g L}^{-1}$). The proposed method was considered adequate for the determination of 20 pharmaceuticals in drinking water and could be applied in routine analyzes due to its reliability and simplicity.

Keywords: Pharmaceuticals, water, SPE, UHPLC-MS/MS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Rotas dos fármacos no meio ambiente.	19
Figura 2 – Etapas envolvidas no processo de SPE.....	28
Figura 3 – Esquema de um espectrômetro de massas em série.	37
Figura 4 – Fluxograma dos diferentes sorventes e pHs das amostras avaliados.....	44
Figura 5 – Sobreposição dos cromatogramas de íons totais da carbamazepina, na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, em diferentes tempos de corrida.	48
Figura 6 – Cromatogramas de íons totais dos compostos representativos de cada classe de fármacos na concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$	51
Figura 7 – Recuperações em água ultrapura e água da torneira para o nível de fortificação de $2 \mu\text{g L}^{-1}$, sem adição de EDTA.	53
Figura 8 – Número de compostos recuperados sem e com a adição de EDTA.	54
Figura 9 – Recuperações obtidas para cada fármaco em diferentes pHs e sorventes no nível de fortificação de $2 \mu\text{g L}^{-1}$	56
Figura 10 – Recuperações das fortificações nos níveis de 0,4 e $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ para os volumes de eluição de 1 e 2 mL, respectivamente, utilizando os solventes acetonitrila/metanol (1:1 v/v) e acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético.	58
Figura 11 – Método de SPE otimizado para a extração dos analitos em estudo.	59
Figura 12 – Cromatograma de íons totais do diclofenaco no nível de fortificação de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ sobreposto ao branco.	60
Figura 13 – Curvas analíticas dos compostos atenolol, doxiciclina, mebendazol e progesterona.	61
Figura 14 – Resultados da precisão intermediária para o nível de fortificação de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$	66
Figura 15 – Cromatograma da amostra A10, positiva para a carbamazepina, sobreposto ao seu LOQ ($0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) e branco.	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais classes de antibióticos.	21
Tabela 2 – Aplicações recentes da SPE em amostras ambientais.	32
Tabela 3 – Parâmetros envolvidos no processo de validação de métodos analíticos.	38
Tabela 4 – Otimização do tempo da corrida cromatográfica.	42
Tabela 5 – Sorventes avaliados para a extração dos analitos em estudo.	43
Tabela 6 – Condições cromatográficas otimizadas.	49
Tabela 7 – Compostos analisados com seus respectivos tempos de retenção, energia do cone e energia de colisão para cada uma das transições SRM.	50
Tabela 8 – Faixa linear e coeficiente de determinação para a curva analítica preparada em solvente.	62
Tabela 9 – Resultados dos ensaios de exatidão (recuperação) e precisão (DPR) com n=6.	64
Tabela 10 – Limites de quantificação e detecção do método.	67
Tabela 11 – Locais de coleta das amostras analisadas.	69
Tabela 12 – Concentrações dos fármacos encontrados em amostras reais.	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN – Acetonitrila;
AINEs – Anti-inflamatórios não-esteroidais;
BE – Bond Elut;
BEH - Híbrido com ponte de etileno, do inglês *ethylene bridged hybrid*;
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente;
CV – Coeficiente de variação;
DLLME - Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*;
DP – Desvio padrão;
DPR – Desvio padrão relativo;
EDTA – Ácido etilendiaminotetracético, do inglês *ethylenediaminetetraacetic acid*;
eV – Elétron-Volt;
GC-MS – Cromatografia gasosa, do inglês *gas chromatography*;
HAc – Ácido acético;
HLB – Equilíbrio hidrofílico-lipofílico, do inglês *hydrophilic-lipophilic-balanced*;
HPLC-DAD – Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos, do inglês *high-performance liquid chromatography with diode array detection*;
HPLC-MS/MS – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série, do inglês *high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*;
HPLC-qTOF-MS – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas quadrupolo-tempo de voo, do inglês *high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-time of flight mass spectrometry*;
IMAOs – Inibidores da monoaminoxidase;
INCA – Instituto Nacional do Câncer;
INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial;
ISRS – Inibidores seletivos da recaptção de serotonina;
ISRSN – Inibidores seletivos da recaptção de serotonina-noradrenalina;
 K_{ow} – Coeficiente de partição octanol-água, do inglês *octanol-water partition coefficient*;
LC-MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, do inglês *liquid chromatography coupled to mass spectrometry*;
LC-MS/MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série, do inglês *liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*;
LLE – Extração líquido-líquido, do inglês *liquid-liquid extraction*;
LOD – Limite de detecção, do inglês *limit of detection*;
LOQ – Limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*;
Min. – Minutos;
m/v – Massa por volume;
m/z – Massa por carga;
MeOH – Metanol;
n – Número de replicatas;
pH – Potencial hidrogeniônico;
pKa – Constante de dissociação ácida;
Q ou q – Quadrupolo;
 r^2 – Coeficiente de determinação;
S/R – Sinal/ruído;

SBSE – Extração sortiva em barra magnética, do inglês *stir-bar sorptive extraction*;
SPE – Extração em fase sólida, do inglês *solid-phase extraction*;
SPME – Microextração em fase sólida, do inglês *solid phase microextraction*;
SRM – Monitoramento de reações selecionadas, do inglês *selected reaction monitoring*;
TIC – Cromatograma de íons totais, do inglês *total ion chromatogram*;
 t_R – Tempo de retenção;
UHPLC-MS/MS – Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série, do inglês *ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*;
V – Volt;
v/v – Volume por volume;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 ÁGUA NO PLANETA	17
2.2 FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE	18
2.2.1 Antibióticos	20
2.2.2 Hormônios esteroides	22
2.2.3 Analgésicos e anti-inflamatórios	23
2.2.4 β-Bloqueadores	23
2.2.5 Quimioterápicos	23
2.2.6 Compostos neuroativos	24
2.2.7 Hipolipemiantes	25
2.2.8 Antiparasitários	25
2.3 PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUA	26
2.3.1 Extração em fase-sólida (SPE)	27
2.3.2 Aplicações recentes da SPE	31
2.4 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUA	35
3.4.1 Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência	35
3.4.2 Espectrometria de massas	35
2.5 VALIDAÇÃO	37
3 MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	39
3.2 MATERIAIS, REAGENTES E SOLVENTES	40
3.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS	40
3.4 FÁRMACOS SELECIONADOS	41
3.5 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	41
3.6 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA	42
3.6.1 Escolha da matriz branco	42
3.6.2 Adição de EDTA	42
3.6.3 Escolha do sorvente para a SPE	43
3.6.4 Ajuste do pH da amostra	43
3.6.5 Escolha do solvente e do volume de eluição	44
3.7 VALIDAÇÃO	45
3.7.1 Seletividade	45
3.7.2 Linearidade	45

3.7.3 Exatidão e precisão	46
3.7.4 Limites de quantificação e de detecção	47
3.8 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	48
4.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	48
4.2 PREPARO DE AMOSTRA	52
4.2.1 Matriz branco	52
4.2.2 Adição de EDTA na amostra	52
4.2.3 Escolha do sorvente e ajuste do pH da amostra	54
4.2.4 Seleção do solvente e do volume de eluição	57
4.3 VALIDAÇÃO	60
4.3.1 Seletividade	60
4.3.2 Linearidade	60
4.3.3 Exatidão e precisão	62
4.3.4 Limites de detecção e quantificação	67
4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS REAIS	68
5 CONCLUSÕES	72
6 DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS	73
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
APÊNDICE A - INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE OS FÁRMACOS EM ESTUDO	81
ANEXOS	87

1 INTRODUÇÃO

A água consiste em um recurso natural essencial para a existência da vida humana, animal e vegetal. Todavia, a qualidade deste recurso encontra-se comprometida em função da contaminação originada por poluentes orgânicos antropogênicos. Entre os principais poluentes destacam-se os contaminantes emergentes, dos quais fazem parte fármacos, agrotóxicos, produtos de cuidado pessoal, entre outros (HERMES et al., 2018).

Os fármacos pertencem a uma das classes mais estudadas de contaminantes, sendo a segunda mais explorada no Brasil (MONTAGNER; VIDAL; ACABAYA, 2017). Efluentes urbanos e industriais, assim como o descarte inapropriado de substâncias, são considerados as principais fontes de entrada de fármacos em ambientes aquáticos (HERMES et al., 2018).

Grande parte destes compostos e de seus metabólitos não são completamente removidos nas estações de tratamento de águas residuais convencionais, de modo que acabam sendo lançados diretamente em rios, lagos ou até mesmo no mar. Por este motivo, a presença de fármacos em níveis de traço (ng L^{-1}) já foi relatada em amostras de águas residuais, superficiais, subterrâneas e, ainda que em menor quantidade, em água potável (PAÍGA; SANTOS; DELERUE-MATOS, 2017).

Apesar de não existir uma legislação específica para estes contaminantes, o monitoramento da sua ocorrência é necessário a fim de que, no futuro, possam ser incluídos nos programas de monitoramento da qualidade da água destinada ao consumo humano (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). De encontro a este problema, surge a necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis e confiáveis para a detecção e a quantificação de fármacos em amostras aquosas (PAÍGA; SANTOS; DELERUE-MATOS, 2017).

O preparo de amostra é considerado uma das etapas mais importantes de um procedimento analítico. A extração em fase sólida (SPE) é uma das técnicas mais utilizadas para o preparo de amostras líquidas. Além de ser bastante simples, a SPE permite a remoção de interferentes da matriz e a concentração dos analitos, de modo que contaminantes em concentrações muito baixas (ng L^{-1}) podem ser detectados por métodos como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a cromatografia gasosa (GC) (JARDIM, 2010).

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS) é considerada uma técnica sensível e de alta especificidade. Entre as vantagens da utilização da LC-MS/MS para a análise de fármacos em amostras ambientais destacam-se os baixos limites de quantificação e detecção, os quais podem chegar à ordem de ng L^{-1} ou menos (PETROVIC et al., 2010).

Com o desenvolvimento de novas metodologias analíticas, torna-se possível obter informações a respeito das diversas fontes de entrada de fármacos no meio ambiente e, ao mesmo tempo, avaliar o impacto e a distribuição destes compostos em corpos hídricos (PAÍGA; SANTOS; DELERUE-MATOS, 2017).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método para a determinação simultânea multiclasse de fármacos em água de consumo humano empregando a técnica de extração em fase sólida com posterior análise por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série. Posteriormente, o método otimizado e validado foi aplicado para a análise de amostras de água coletadas em diferentes cidades e regiões do Rio Grande do Sul.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ÁGUA NO PLANETA

A hidrosfera engloba todas as partes do planeta Terra que são formadas por água, esteja ela no seu estado sólido, líquido ou gasoso. O oceano possui um volume de cerca de 1,3 bilhões de km³ e compreende 97,40% da água do planeta. A fração de água restante, que abrange cerca de 36 milhões de km³, está distribuída em vários compartimentos de água doce, sendo que a maior parte desta água encontra-se na forma de calotas de gelo ou em áreas subterrâneas profundas. A água doce que se encontra disponível para uso humano está distribuída entre águas subterrâneas rasas, lagos, reservatórios, rios e outros cursos de água, correspondendo a apenas 4,6 milhões de km³ (BOYD, 2015).

A água consiste em um dos recursos naturais mais importantes da humanidade, porém há diversas demandas conflitantes sobre a sua utilização. A gestão hábil dos corpos hídricos é de suma importância, visto que estes são utilizados para os mais diversos propósitos como abastecimento doméstico e industrial, irrigação, transporte, recreação, dessedentação animal, pesca, geração de energia e descarte de resíduos (ABEL, 2002).

A poluição da água, assim como outros problemas ambientais, tem sido foco de amplo interesse público há décadas. Embora esse interesse tenha vários benefícios óbvios, a percepção pública a respeito da poluição da água nem sempre está de acordo com a realidade científica. Essa percepção equivocada pode levar a ações imprudentes ou ineficazes na tentativa de lidar com os problemas que, por sua vez, são menos sérios do que outros que são pouco divulgados nas grandes mídias ou menos fáceis de serem compreendidos (ABEL, 2002).

Como resultado do desenvolvimento humano, a poluição dos corpos hídricos causada por uma gama de diferentes compostos alcançou proporções a nível global (RADOVIC et al., 2014). Fármacos, produtos de higiene pessoal, agrotóxicos e resíduos químicos industriais são lançados no ambiente aquático por diversas vias, incluindo efluentes de estações de tratamento de águas residuais urbanas e industriais, esgoto sem tratamento, descarte inadequado de substâncias, bem como várias outras fontes difusas. Conseqüentemente, essas substâncias orgânicas

antropogênicas podem ser detectadas em águas superficiais, subterrâneas e até mesmo em água potável (HERMES et al., 2018).

Os fármacos fazem parte de uma das classes mais pesquisadas de poluentes ambientais, de modo que sua ocorrência já foi relatada em diversas amostras de água, sedimentos e lodo. A quantificação precisa de fármacos, especialmente em amostras ambientais, pode ser um desafio analítico devido à complexidade das matrizes e dos seus baixos níveis de ocorrência (ng L^{-1}) (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2010; PAÍGA et al., 2015; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

2.2 FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE

Os fármacos pertencem ao grupo de compostos denominados “contaminantes emergentes”, do qual também fazem parte produtos de higiene pessoal, agrotóxicos, corantes, entre outros. A ocorrência e o impacto ecotoxicológico de muitas destas substâncias ainda são pouco conhecidos, sendo esta uma das razões para não estarem incluídas em programas de monitoramento da qualidade da água e nas normas ou legislações de controle ambiental (RIVERA-JAIMES et al., 2018; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

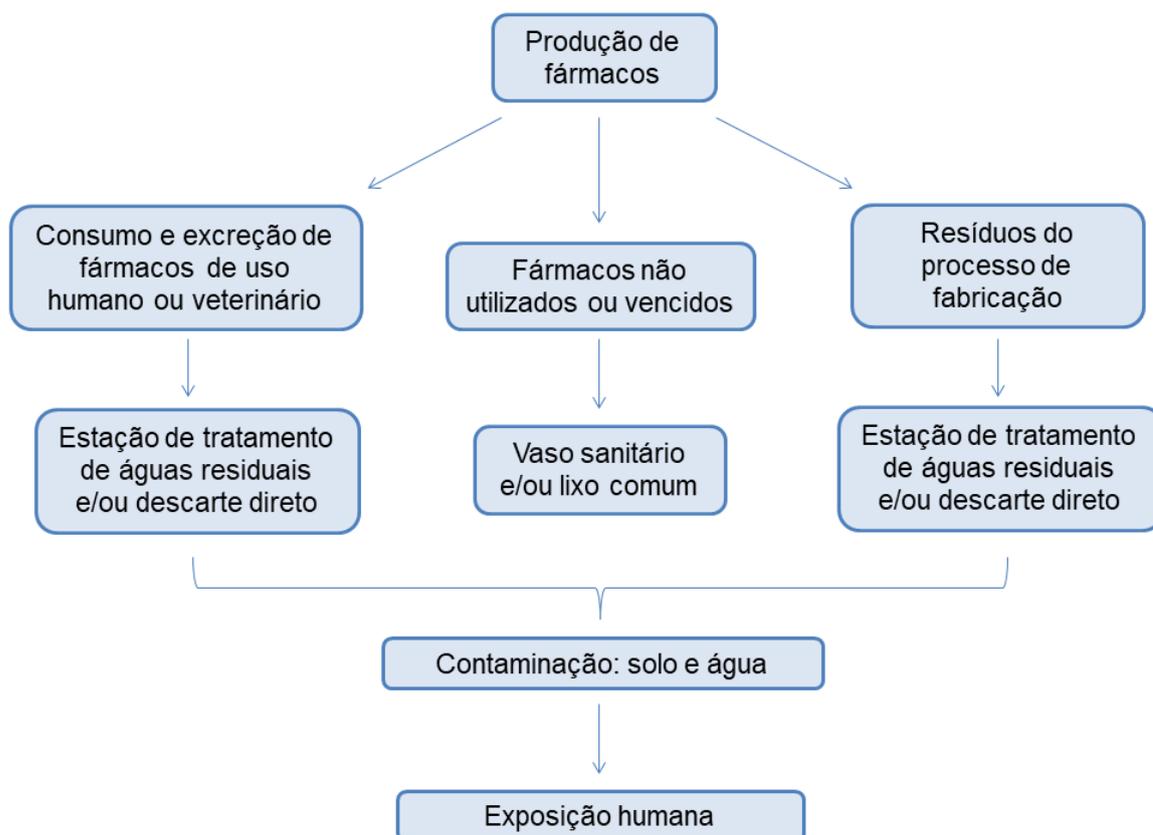
No Brasil, a qualidade da água de consumo humano requerida está definida nas concentrações máximas permitidas para determinadas substâncias, conforme especificado na Resolução CONAMA Nº 357/2005 alterada pelas resoluções 410/2009 e 430/2011, que dispõe sobre a classificação dos corpos hídricos e as diretrizes ambientais para o seu enquadramento, além de estabelecer as condições e os padrões de lançamento de efluentes, e também na Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. De modo geral, os indicadores da qualidade da água são divididos sob aspectos físicos, químicos e biológicos, nos quais os fármacos não estão incluídos (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011; FUNASA, 2014).

Extensamente utilizados na medicina humana e veterinária, tanto para prevenir como para tratar doenças (EBELE; ABDALLAH; HARRAD, 2017), os fármacos são liberados no meio ambiente principalmente a partir de resíduos dos processos de fabricação, do descarte incorreto de produtos não utilizados ou

vencidos e ainda através da excreção nas fezes e/ou na urina, tanto na forma de metabólitos quanto na sua forma inalterada (BOTTONI; CAROLI; CARACCILO, 2010; DÍAZ-CRUZ; ALDA; BARCELÓ, 2003).

A Figura 1 apresenta as principais rotas percorridas pelos fármacos desde a sua produção até a chegada aos diferentes receptores no meio ambiente.

Figura 1 – Rotas dos fármacos no meio ambiente.



Fonte: Adaptado de DÍAZ-CRUZ; ALDA; BARCELÓ (2003).

Ao contrário de outros contaminantes, os fármacos não precisam necessariamente persistir no ambiente para causarem efeitos prejudiciais, pois além de serem liberados de forma contínua, são substâncias biologicamente ativas. Diversos compostos podem transformar-se em outros produtos, geralmente desconhecidos, que podem ser mais persistentes e mais tóxicos do que o composto original (RIVERA-JAMES et al., 2018).

As propriedades físico-químicas dos fármacos associadas às características do ambiente receptor proporcionam o transporte e a distribuição destes compostos através da água, do solo ou de sedimentos, onde podem se acumular e induzir efeitos adversos em organismos terrestres e/ou aquáticos (PAÍGA et al., 2015). As alterações geradas pela acumulação desses contaminantes na biota de um ecossistema podem permanecer indetectáveis até que se tornem irreversíveis (DÍAZ-CRUZ; ALDA; BARCELÓ, 2003).

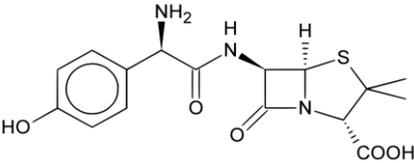
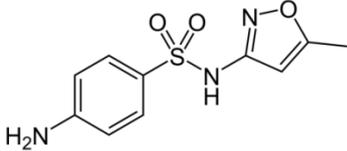
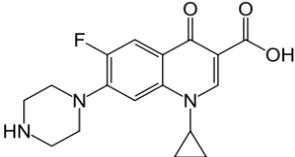
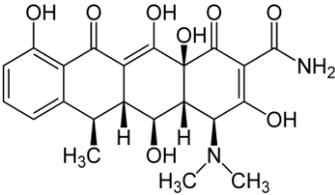
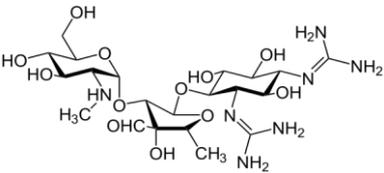
Embora se utilize uma ampla gama de compostos na medicina, apenas algumas classes terapêuticas são consideradas de importância ambiental devido às suas altas taxas de consumo, toxicidade e persistência no meio ambiente. Entre as principais classes estão: antibióticos, hormônios esteroides, analgésicos e anti-inflamatórios, β -bloqueadores, quimioterápicos, compostos neuroativos, hipolipemiantes e antiparasitários (MORLEY, 2009; BOTTONI; CAROLI; CARACCILO, 2010).

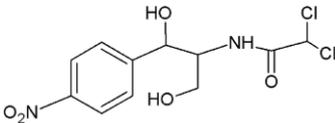
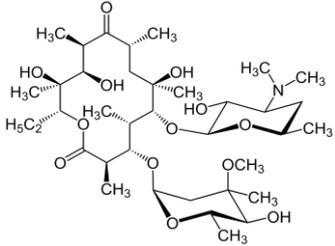
2.2.1 Antibióticos

Os antibióticos são amplamente utilizados na medicina devido às suas propriedades antimicrobianas. Além disso, estes compostos também podem ser empregados como agentes antitumorais, imunossupressores, hipocolesterolêmicos, inibidores enzimáticos e antiparasitários (LIANG et al., 2016).

A presença destes fármacos no meio ambiente é motivo de grande preocupação, visto que uma das consequências do seu consumo crescente é o desenvolvimento de bactérias multirresistentes, as quais podem trazer sérios riscos à saúde humana e animal como, por exemplo, a ocorrência de infecções sem resposta aos tratamentos com antibióticos convencionais (GRENNI; ANCONA; CARACCILO, 2018). A Tabela 1 exemplifica as principais classes de antibióticos.

Tabela 1 – Principais classes de antibióticos.

(continua)	
Classe	Exemplo
β-lactâmicos	 <p style="text-align: center;">Amoxicilina</p>
Sulfonamidas	 <p style="text-align: center;">Sulfametoxazol</p>
Quinolonas	 <p style="text-align: center;">Ciprofloxacino</p>
Tetraciclinas	 <p style="text-align: center;">Doxiciclina</p>
Aminoglicosídeos	 <p style="text-align: center;">Estreptomicina</p>

(conclusão)	
Classe	Exemplo
Anfenicóis	 <p style="text-align: center;">Cloranfenicol</p>
Macrolídeos	 <p style="text-align: center;">Eritromicina</p>

Fonte: Adaptado de KÜMMERER (2009).

2.2.2 Hormônios esteroides

Os hormônios esteroides consistem em um grupo de compostos biologicamente ativos que são sintetizados a partir do colesterol. Os esteroides naturais são secretados pelo córtex adrenal, testículos, ovários e placenta, tanto em humanos como em animais, e incluem progestagênios, androgênios, estrogênios, glicocorticoides e mineralocorticoides (YING; KOOKANA; RU, 2002). Já os esteroides sintéticos, também conhecidos como anabolizantes, são aqueles produzidos artificialmente por indústrias farmacêuticas.

Sejam naturais ou sintéticos, os hormônios esteroides são conhecidos devido aos seus efeitos como disruptores endócrinos. Estes compostos são capazes de interromper as funções hormonais envolvidas no crescimento, no metabolismo e em outras funções de organismos aquáticos e terrestres, especialmente durante estágios críticos de crescimento (MANICKUM; JOHN, 2014; DAMKJAER et al., 2018).

2.2.3 Analgésicos e anti-inflamatórios

Anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e analgésicos estão entre os fármacos mais consumidos no mundo, sendo amplamente utilizados para o controle de inflamações e amenização de dores (PAÍGA et al., 2015). Entre os principais princípios ativos utilizados nas formulações estão o paracetamol, a dipirona, o diclofenaco e o ibuprofeno.

Os fármacos desta classe são frequentemente detectados no meio ambiente, representando um risco iminente principalmente para os organismos aquáticos. Alterações citológicas no fígado, rins, brânquias e intestino de algumas espécies de peixes quando expostas ao diclofenaco já foram descritas anteriormente na literatura por Triebkorn et al. (2004).

2.2.4 β -Bloqueadores

Amplamente utilizados no tratamento da hipertensão, angina e outros distúrbios do sistema cardiovascular, os β -bloqueadores são fármacos cujo efeito se dá sobre os receptores β -adrenérgicos. Estes fármacos podem ser classificados como seletivos ou não seletivos, sendo que os seletivos atuam preferencialmente sobre os receptores β_1 -adrenérgicos, enquanto os não seletivos atuam sobre os receptores β_1 - e β_2 -adrenérgicos (HERNANDO et al., 2007). Os β -bloqueadores fazem parte do grupo de fármacos mais consumidos no Brasil (ANVISA, 2018).

Ao longo dos anos, a ecotoxicidade de alguns β -bloqueadores (metoprolol, atenolol e propranolol) foi alvo de estudos com diferentes espécies de algas, plantas, crustáceos e peixes (SUN et al., 2015; GODOY; KUMMROW; PAMPLIN, 2015; CLEUVERS, 2005). Khan et al. (2018) demonstraram recentemente que a exposição de bivalves marinhos ao metoprolol e ao propranolol nas concentrações de 200 e 10 ng L⁻¹, respectivamente, gerou extenso dano lisossomal e alterações na atividade enzimática nos tecidos expostos.

2.2.5 Quimioterápicos

Os quimioterápicos, também chamados de antineoplásicos, são compostos utilizados no tratamento do câncer. Além de atacar as células tumorais, estes

fármacos também agem sobre as demais células e tecidos normais em crescimento, sendo esta a causa dos efeitos colaterais associados à quimioterapia (BREZOVĚK; ELERĚK; FILIPIČ, 2014). Os principais grupos de quimioterápicos incluem: agentes alquilantes, antimetabólitos, antibióticos, alcaloides de plantas, inibidores mitóticos e agentes antitumorais diversos (INCA, 2018).

Estes medicamentos demonstraram possuir um potencial citotóxico, genotóxico, mutagênico e teratogênico em vários organismos, uma vez que foram criados para interromper ou impedir a proliferação celular, geralmente interferindo na síntese do DNA (SANDERSON et al., 2004; FERRANDO-CLIMENT; RODRIGUEZ-MOZAZ; BARCELÓ, 2013; BREZOVĚK; ELERĚK; FILIPIČ, 2014).

2.2.6 Compostos neuroativos

Antidepressivos, antiepilépticos, antipsicóticos, ansiolíticos e estimulantes fazem parte do segundo grupo de fármacos mais consumidos no Brasil: os compostos neuroativos (ANVISA, 2018). Entre as muitas drogas que interagem com o sistema nervoso central (SNC), apenas algumas são consideradas quanto à sua ocorrência no meio aquático.

2.2.6.1 Antidepressivos

Antidepressivos são medicamentos utilizados para tratar transtornos de humor, como é o caso da depressão e da ansiedade. Estes fármacos podem ser divididos, simplificada, nas seguintes classes: inibidores da monoaminoxidase (IMAOs), antidepressivos heterocíclicos (tricíclicos e tetracíclicos), inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS) e inibidores seletivos da recaptção de serotonina-noradrenalina (ISRSN) (MORENO; MORENO; SOARES, 1999).

Estudos de Brooks et al. (2005) utilizando tecidos do cérebro, do fígado e dos músculos de peixes, os quais viviam em um riacho dominado por efluentes municipais, constataram que os animais estavam contaminados com os ISRS fluoxetina e sertralina e também com os metabólitos norfluoxetina e desmetilsertralina, todos em concentrações maiores que 0,1 ng g⁻¹. Farias et al. (2019) verificaram recentemente que a exposição de embriões de peixe-zebra à

baixas concentrações de fluoxetina (ng L^{-1}) foi capaz de induzir efeitos no desenvolvimento, no comportamento e também na atividade da acetilcolinesterase.

2.2.6.2 Antiepilépticos

Antiepilépticos são medicamentos utilizados para o tratamento da epilepsia e de transtornos bipolares. A epilepsia não possui cura, entretanto as convulsões originadas pela doença podem ser controladas por fármacos a fim de estabilizar a atividade elétrica do cérebro (QIANG et al., 2016).

O diazepam e a carbamazepina, ambos antiepilépticos, podem ser classificados como potencialmente nocivos para os organismos aquáticos (FENT; WESTON; CAMINADA, 2006). Recentemente, Qiang et al. (2016) demonstraram que a exposição à carbamazepina ocasionou distúrbios no crescimento e no desenvolvimento de embriões e larvas de peixe-zebra.

2.2.7 Hipolipemiantes

Fármacos hipolipemiantes, também conhecidos como reguladores lipídicos, são um grupo de compostos naturais ou sintéticos usados para reduzir a concentração de lipídios no sangue, principalmente o colesterol. Os fármacos mais comumente utilizados são as estatinas e os derivados do ácido clofíbrico (fibratos) (REZKA; BALCERZAK, 2015).

Barros et al. (2018) demonstraram que a sinvastatina, um hipolipemiante da classe das estatinas, foi capaz de induzir vários efeitos em peixes-zebra que não seguiram uma relação dose-resposta. O desenvolvimento embrionário e os marcadores bioquímicos e moleculares foram significativamente afetados nas menores concentrações do fármaco (8 ng L^{-1} , 40 ng L^{-1} e/ou 200 ng L^{-1}), destacando a importância de abordar os efeitos toxicológicos em concentrações ambientalmente relevantes.

2.2.8 Antiparasitários

Os antiparasitários, também conhecidos como anti-helmínticos, são fármacos que agem contra as infecções helmínticas, ou seja, infecções causadas por vermes.

Apesar de também serem utilizados por humanos, é na medicina veterinária que os antiparasitários apresentam maior consumo. A ação terapêutica de centenas de substâncias químicas que atuam como agentes antiparasitários têm sido investigada contra os parasitas de mamíferos, aves e peixes, porém seus efeitos ligados à contaminação ambiental ainda não são bem conhecidos (HORVAT et al., 2012).

Informações sobre as concentrações de antiparasitários no meio ambiente ainda são muito limitadas, entretanto já se sabe que a perturbação do ecossistema aquático causada por compostos antiparasitários apresenta várias implicações para as relações hospedeiro-parasita. A exposição a agentes antiparasitários no ambiente, mesmo em baixas concentrações, pode também estimular o desenvolvimento de cepas resistentes de parasitas (MORLEY, 2009; HORVAT et al., 2012).

2.3 PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUA

O preparo de amostra consiste na etapa em que se realiza o isolamento e/ou a concentração dos analitos de uma determinada matriz. A utilização de amostras com menor quantidade de interferentes, obtidas através do preparo de amostra, ajuda a manter o bom funcionamento dos equipamentos e por sua vez diminui o custo relacionado a manutenções. Idealmente, a técnica de preparo de amostras deve ser rápida, de baixo custo, de fácil execução e ser compatível com o instrumento analítico escolhido (BORGES; PEREIRA; MANO, 2015).

Os métodos tradicionais de preparo de amostras, como por exemplo a extração líquido-líquido (LLE), demandam grandes volumes de solventes orgânicos e apresentam custo elevado, além de serem demasiadamente trabalhosos. Nesse sentido, novas técnicas mais simples e econômicas vêm sendo desenvolvidas e aplicadas em amostras aquosas. Dentre estas técnicas, destacam-se a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid-phase extraction*), a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*), a extração sortiva em barra magnética (SBSE, do inglês *stir-bar sorptive extraction*) e a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) (CALDAS et al., 2011).

A escolha da técnica de preparo de amostra ideal baseia-se nas propriedades físico-químicas dos constituintes da amostra (analitos e interferentes), tais como polaridade, solubilidade, estabilidade, coeficiente de partição, entre outras. Além disso, é necessário conhecer ou estimar a concentração dos analitos a serem determinados, quais são os interferentes presentes e quais são as características do instrumento de medição a ser utilizado (BORGES; PEREIRA; MANO, 2015).

Uma vez que os fármacos geralmente estão presentes no ambiente aquático em concentrações muito baixas, o preparo de amostra é uma etapa fundamental para melhorar a sensibilidade de detecção e eliminar os efeitos de matriz. A SPE ainda é a técnica de extração mais comumente utilizada, visto que permite não apenas a concentração simultânea de analitos, mas também a limpeza da amostra (PAÍGA et al., 2015).

2.3.1 Extração em fase-sólida (SPE)

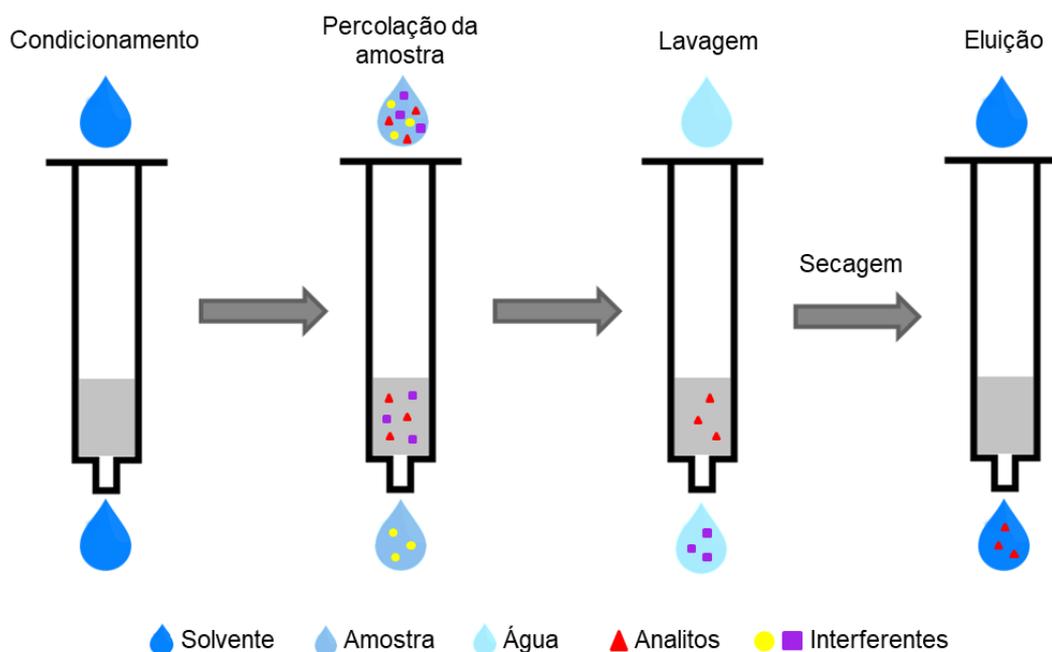
A extração em fase sólida consiste em uma técnica de separação líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão (CALDAS et al., 2011). Entre os principais objetivos desta técnica estão a remoção de interferentes da matriz, a estocagem de amostra e a concentração e o isolamento de analitos (LANÇAS, 2004; JARDIM, 2015).

Quando comparada com a extração líquido-líquido clássica, a SPE apresenta as seguintes vantagens: menor consumo de solvente orgânico, não formação de emulsões, facilidade de automação, altas porcentagens de recuperação do analito, volume reduzido de resíduos, capacidade de concentração dos analitos e disponibilidade comercial de muitos equipamentos e sorventes (JARDIM, 2015).

O procedimento de SPE normalmente é executado com o auxílio de um sistema *manifold*, o qual permite a extração de várias amostras simultaneamente. Os cartuchos, por sua vez, são inicialmente condicionados com um ou mais solventes a fim de ativar o sorvente (fase sólida). As amostras são acondicionadas em balões volumétricos e, com o auxílio de tubulações de politetrafluoretileno sob vácuo, são transferidas para os cartuchos. Posteriormente, uma etapa de lavagem é realizada para retirar possíveis interferentes retidos no sorvente. O solvente utilizado na lavagem é removido durante a etapa de secagem à vácuo. Por fim, a eluição dos analitos é realizada com um solvente apropriado, o qual é escolhido de acordo com

as características dos analitos e do sorvente (LANÇAS, 2004; ANDRADE-EIROA et al., 2016). A Figura 2 representa de forma simplificada as etapas envolvidas na SPE.

Figura 2 – Etapas envolvidas no processo de SPE.



Fonte: Adaptado de CALDAS (2011).

A escolha do tipo e da quantidade de sorvente, o volume de amostra e o solvente de eluição são alguns parâmetros que devem ser considerados (CALDAS et al., 2011).

2.3.1.1 Escolha do sorvente (fase sólida)

Para a escolha do sorvente mais adequado, deve-se levar em conta as informações a respeito dos analitos, da natureza da matriz e das impurezas a serem eliminadas (CALDAS et al., 2011). Os sorventes de SPE convencionais são divididos em três grupos principais: sílica quimicamente ligada, materiais de carbono e materiais poliméricos (JARDIM, 2015).

2.3.1.1.1 Sílica quimicamente ligada

Os sorventes ligados quimicamente à sílica, como C₈, C₁₈, C₂, cicloexil e fenil, são utilizados para a extração de analitos apolares e de média polaridade. Estes sorventes apresentam como desvantagem o fato de serem instáveis no intervalo de pH > 8 e pH < 2 e também por conterem grupos silanóis residuais que podem reter irreversivelmente compostos básicos ou biopolímeros (JARDIM, 2015).

2.3.1.1.2 Materiais de carbono

Apesar da baixa resistência mecânica, as fases sólidas à base de carbono grafitizado são altamente homogêneas, com área superficial específica baixa (100-200 m² g⁻¹). Além disso, possuem estrutura cristalina e podem atuar como fases reversas na SPE, tanto para *clean-up* como para concentração, tendo retenções superiores às obtidas com a fase C₁₈ (JARDIM, 2015). Os óxidos de grafeno, por exemplo, podem ser utilizados para a extração de substâncias hidrofílicas e polares. Nos novos materiais disponíveis encontram-se os nanotubos de carbono, os quais compreendem um vasto intervalo de formas alotrópicas de carbono (ANDRADE-EIROA et al., 2016).

2.3.1.1.3 Materiais poliméricos

As fases poliméricas, tais como o copolímero poliestireno divinilbenzeno, destacam-se pela área superficial específica elevada (700 a 1200 m² g⁻¹), estabilidade na faixa de pH 1–14 e maior capacidade de retenção de compostos polares do que as fases C₁₈ (JARDIM, 2010). Uma vantagem importante deste tipo de fase é o fato de que a recuperação não é afetada caso ocorra a secagem do sorvente entre a etapa de condicionamento e equilíbrio, ao contrário das fases C₁₈, onde isto pode diminuir de forma crítica a recuperação (LANÇAS, 2004).

Como exemplo de sorvente de fase polimérica pode-se destacar o Strata™-X (Phenomenex), o qual não possui grupos silanóis residuais, resultando em poucas interações secundárias. Devido à ausência destes grupos, ocorre somente o mecanismo de retenção, resultando em procedimentos de extração mais simples (JARDIM, 2015). O Strata™-X consiste em um esqueleto de estireno de superfície

modificada com um grupo pirrolidona, cujos mecanismos de retenção são hidrofóbicos, aromáticos e ainda englobam ligações de hidrogênio. Este sorvente pode ser aplicado na extração de compostos ácidos, básicos e neutros de média a alta polaridade (ČIZMIĆ; BABIĆ; KAŁTELAN-MACAN, 2017). Outro exemplo de sorvente polimérico é o Oasis[®] HLB (Waters), o qual possui um copolímero de N-vinilpirrolidona-divinilbenzeno com equilíbrio hidrofílico-lipofílico (TYLOVÁ; FLIEGER; OLĽOVSKÁ, 2013; JARDIM, 2015). Este sorvente, assim como o Strata[™]-X, possui boa retenção para uma ampla gama de compostos.

2.3.1.2 Condicionamento do cartucho

A etapa de condicionamento tem como objetivo ativar o sorvente existente dentro do cartucho com um solvente ou ainda remover possíveis impurezas de fábrica. O solvente a ser utilizado depende de qual material será ativado. Um dos fatores mais importantes desta etapa é não deixar que o sorvente seque, especialmente no caso de sorventes à base de sílica, pois esta secagem pode resultar na formação de caminhos preferenciais que comprometerão a recuperação (LANÇAS, 2004).

2.3.1.3 Percolação da amostra

A etapa de percolação consiste em reter o analito no sorvente através da passagem de um determinado volume de amostra pelo cartucho, normalmente 100 ou 250 mL. Considerando que o pH da amostra pode ser crítico para obter uma retenção adequada dos analitos, o ajuste do mesmo pode ser necessário. Além disso, a velocidade de percolação também pode ser ajustada controlando a vazão ou a pressão aplicadas no processo (CALDAS et al., 2011).

2.3.1.4 Remoção de interferentes

Conhecida como limpeza ou lavagem (*clean-up*), esta etapa visa eliminar os possíveis interferentes com um solvente que não possui força suficiente para remover os analitos retidos no sorvente. Podem ser empregados solventes com força de eluição intermediária ou até mesmo o próprio solvente da amostra, desde

que os mesmos não removam os analitos. No caso de amostras aquosas, a água ultrapura pode ser uma boa opção de solvente de limpeza (LANÇAS, 2004; CALDAS et al., 2011). O solvente utilizado nesta etapa deve ser completamente removido durante o processo de secagem à vácuo.

2.3.1.5 Eluição dos analitos

A escolha do solvente de eluição é um parâmetro importante e está diretamente relacionada com a polaridade dos analitos e com as características do sorvente usado na SPE. Entre os solventes mais utilizados estão acetonitrila, metanol, acetona, acetato de etila, hexano e as misturas entre os mesmos (CALDAS et al., 2011). Idealmente, a eluição dos analitos deve ser realizada com um pequeno volume de solvente (1 ou 2 mL), de modo que o extrato já se encontre em concentração apropriada para a análise (LANÇAS, 2004).

2.3.2 Aplicações recentes da SPE

Na literatura encontram-se diversos trabalhos que utilizam a SPE para o preparo de amostras ambientais. A Tabela 2 apresenta um compilado de algumas aplicações dos últimos cinco anos empregando esta técnica.

Tabela 2 – Aplicações recentes da SPE em amostras ambientais.

(continua)

Matriz	Analitos	Sorvente	Separação/Deteccão	LOQ	Referência
Água profunda e superficial	Fármacos e agrotóxicos	Oasis® HLB (200 mg/6mL)	HPLC-MS/MS	3 -17 ng L ⁻¹	RADOVIC et al. (2014)
Afluente e efluente urbanos	Fármacos	Strata™-X (200 mg/3mL)	HPLC-MS/MS	3,21 - 639 ng L ⁻¹	DASENAKI e THOMAIDIS (2015)
Água do mar	Fármacos e metabólitos	Strata™-X (200 mg/3mL)	UHPLC-MS/MS	0,06 - 24,8 ng L ⁻¹	PAÍGA et al. (2015)
Água superficial	Antibióticos	Oasis® HLB (500 mg/6mL)	HPLC-DAD	1,95 - 3,27 µg mL ⁻¹	SORAN et al. (2016)
Afluente e efluente com e sem tratamento biológico	Biocidas	Oasis® HLB (200 mg/ 6 mL)	GC-MS	0,4 - 45,0 ng L ⁻¹	WLUKA et al. (2016)

(continuação)

Matriz	Analitos	Sorvente	Separação/Deteccção	LOQ	Referência
Água profunda, afluente e efluente urbanos	Fármacos	Oasis® HLB (60 mg/3 mL)	HPLC-MS/MS	3,4 - 1.785,7 ng L ⁻¹	ČIZMIĆ; BABIĆ e KAŁTELAN- MACAN (2017)
Água do mar, da torneira, de rio e engarrafada. Afluente e efluente urbanos.	Fármacos de uso humano e veterinário e metabólitos	Strata™-X (200 mg/3mL)	UHPLC-MS/MS	0,04 - 562 ng L ⁻¹	PAÍGA; SANTOS e DELERUE- MATOS (2017)
Afluente e efluente urbano e água superficial	Fármacos	Oasis® HLB (60 mg/3mL)	HPLC-MS/MS	0,8 - 262 ng L ⁻¹	RIVERA-JAIMES et al. (2018)
Afluente e efluente urbanos e água de rio	Hormônios esteroides	Bond Elut C ₁₈ (500 mg/3mL)	GC-MS/MS	0,016 - 0,868 ng L ⁻¹ 1	DAMKJAER et al. (2018)

					(conclusão)
Matriz	Analitos	Sorvente	Separação/Deteccção	LOQ	Referência
Efluente urbano	Fármacos psicoativos, drogas ilícitas e metabólitos	Oasis [®] MCX (150 mg/6 mL)	UHPLC-MS/MS	0,3 - 83 ng L ⁻¹	GONZÁLEZ-MARIÑO et al. (2018)
Água superficial e efluente urbano	Fármacos e agrotóxicos	Strata [™] -X (200 mg/6mL)	HPLC-qTOF-MS	0,01 - 1,0 µg L ⁻¹	ARSAND et al. (2018)
Água superficial e água potável	Cafeína, atrazina, atenolol e DEET	Oasis [®] HLB (500 mg/6mL)	HPLC-MS/MS	0,53 - 2,37 ng L ⁻¹	SODRÉ et al. (2018)
Água de piscina	Produtos de cuidado pessoal	Supelclean [™] ENVI-18	GC-MS	0,67 - 0,85 ng L ⁻¹	LEMPART et al. (2018)
Água tratada e mineral	Parabenos	Strata [™] C ₁₈ -E	HPLC-MS/MS	0,04 - 0,08 µg L ⁻¹	MARTA-SANCHEZ et al. (2018)
Afluente e efluente urbano e água de rio	Analgésicos opióides e metabólitos	Oasis [®] MCX	HPLC-MS/MS	0,1 - 2,8 ng L ⁻¹	KRIZMAN-MATASIC et al. (2018)

2.4 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUA

O pré-requisito para o monitoramento adequado da qualidade da água consiste na disponibilidade de métodos multiclases que permitam a quantificação de analitos em níveis de ng L^{-1} ou abaixo disso. Um método único para a análise de vários fármacos possui diversas vantagens, tais como menor tempo de análise e redução geral de custos com solventes, energia elétrica, entre outros (PETROVIC et al., 2010). Entretanto, para que a análise simultânea de compostos com diferentes propriedades físico-químicas seja realizada, é necessário um comprometimento na seleção das condições experimentais a fim de determinar com exatidão e precisão todos os analitos (FATTA-KASSINOS; MERIC; NIKOLAOU, 2010).

Nos últimos anos, a técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) tornou-se uma importante ferramenta analítica para a determinação de resíduos e contaminantes em geral. A combinação entre a aplicabilidade da LC aliada à grande capacidade de detecção dos analisadores de massas possibilitou o desenvolvimento de métodos que possuem maior seletividade, sensibilidade e especificidade (CALDAS et al., 2011).

3.4.1 Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência

A LC convencional já dispõe de diversas melhorias, como é o caso da cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC, do inglês *ultra-high performance liquid chromatography*), que utiliza colunas curtas, de diâmetro mais estreito e empacotadas com partículas de menor diâmetro ($\leq 2 \mu\text{m}$). A UHPLC permite análises mais rápidas, com melhor resolução e picos mais estreitos quando comparados às metodologias convencionais de HPLC (PAÍGA et al., 2015).

3.4.2 Espectrometria de massas

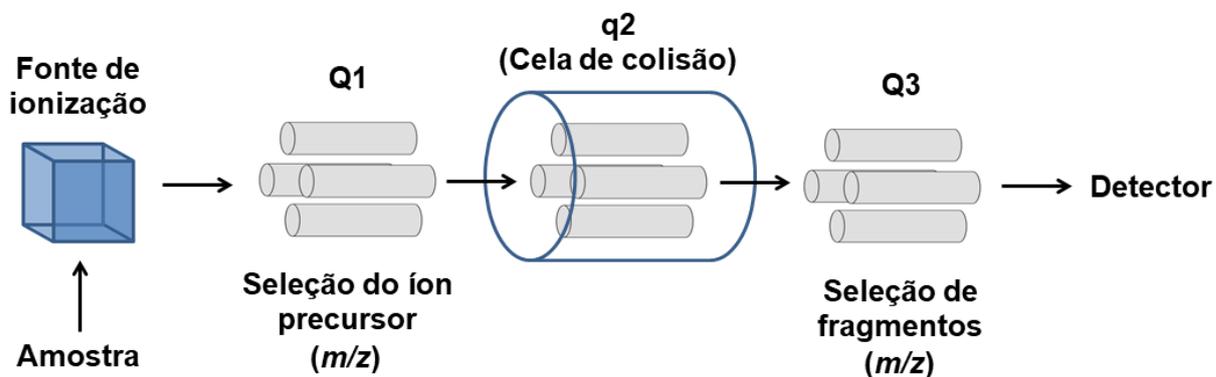
O princípio básico da MS consiste na geração de íons oriundos de compostos orgânicos ou inorgânicos através de qualquer método adequado, a fim de separar estes íons por sua razão massa-carga (m/z) e detectá-los qualitativa e quantitativamente por suas respectivas m/z e abundância. O esquema mais básico

de um espectrômetro de massas consiste em uma fonte de íons, um analisador de massas e um detector (GROSS, 2004).

A fonte de ionização mais empregada em LC-MS é a “*electrospray*”. A ionização é produzida pela aplicação de um campo elétrico forte, sob pressão atmosférica, a um líquido passando por um tubo capilar com um fluxo baixo. Este campo induz uma acumulação de carga na superfície do líquido localizado no final do capilar, gerando assim um “*spray*” de gotículas altamente carregadas. Essas gotículas passam então através de uma “cortina” de gás inerte aquecido (nitrogênio, por exemplo) ou através de um capilar aquecido para remover as moléculas de solvente, restando apenas os íons livres. Estes íons serão introduzidos no analisador de massas para posterior separação e detecção (HOFFMAN; STROOBANT, 2007).

Atualmente a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS), onde são utilizados dois espectrômetros de massa separados por uma cela de colisão, é a técnica analítica de escolha para a determinação de fármacos em amostras ambientais (PAÍGA et al., 2015). Nesta técnica, a molécula ionizada chega ao primeiro quadrupolo (Q1) onde é realizada a seleção do íon precursor. Em seguida, este íon segue para a cela de colisão (q2) onde é fragmentado. Os fragmentos chegam ao terceiro quadrupolo (Q3) onde ocorre a seleção dos íons produto para finalmente serem detectados. A seletividade e a sensibilidade da LC-MS/MS permitem a determinação de compostos em níveis menores ou iguais a ng L^{-1} (PETROVIC et al., 2010). A Figura 3 representa, de modo simplificado, um espectrômetro de massas em série.

Figura 3 – Esquema de um espectrômetro de massas em série.



Fonte: Adaptado de Waters (2012).

2.5 VALIDAÇÃO

Dados analíticos confiáveis são essenciais para a interpretação correta dos resultados de estudos científicos ou de trabalhos de rotina. Resultados não confiáveis podem levar a interpretações e conclusões equivocadas (PETERS; DRUMMER; MUSSHOF, 2007).

Os métodos analíticos são a base para a obtenção de dados de alta qualidade e confiabilidade. Nesse contexto, os métodos analíticos exigem um desenvolvimento cuidadoso seguido por uma validação completa do método final. A validação visa comprovar, a partir de evidências objetivas, que o método analítico atende os requisitos específicos para uma determinada aplicação (PETERS; DRUMMER; MUSSHOF, 2007; INMETRO, 2016).

Os principais parâmetros envolvidos no processo de validação estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros envolvidos no processo de validação de métodos analíticos.

Parâmetro	Definição	Aplicação
Seletividade	Distinção dos analitos entre si	Extração de uma matriz “branco”
Linearidade	Correlação entre o sinal instrumental e a concentração do analito	Curva analítica ($y = ax+b$)
Limite de detecção (LOD)	Menor quantidade de analito que pode ser detectada	S/R = 3
Limite de quantificação (LOQ)	Menor quantidade do analito que pode ser quantificada	S/R = 10
Precisão	Concordância entre uma série de medidas obtidas de uma amostra	Repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade
Exatidão	Comparação dos resultados em relação a um valor de referência	Ensaio de recuperação Material de referência certificado
Robustez	Capacidade do método em resistir a pequenas variações	Variações nas condições analíticas

S/R = sinal/ruído. Fonte: Adaptado de INMETRO (2016).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento da parte experimental deste trabalho foi realizado no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), o qual está localizado no Departamento de Química (DQ) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

- ✓ Agitador vórtex Phoenix, modelo AP56 (Brasil);
- ✓ Balança analítica, modelo AUW 220D (Shimadzu, Japão);
- ✓ Balança analítica, modelo UX-420H (Shimadzu, Japão);
- ✓ Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand – Alemanha e Eppendorf - Canadá);
- ✓ Sistema de purificação de água Milli-Q Direct 3UV[®] (Millipore, 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 *electrospray* (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 de alta pressão (EUA);
 - Sistema de injeção com agulha de Poliéter-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);
- ✓ Bomba a vácuo (Tecnal, Brasil);
- ✓ Sistema de *manifold* para SPE (Varian, EUA);
- ✓ pHmetro modelo pH 500 series Cole Parmer equipado com eletrodo de vidro combinado (Vernon Hills, EUA).

3.2 MATERIAIS, REAGENTES E SOLVENTES

- ✓ Frascos de vidro (*vial*) de 2 mL;
- ✓ Frascos de vidro de 4 mL;
- ✓ Tubos tipo Eppendorf de 2 mL;
- ✓ Mangueiras de politetrafluoretileno;
- ✓ Vidrarias comuns de laboratório;
- ✓ Cartuchos para SPE Strata™-X 200 mg/3 mL (Phenomenex, EUA);
- ✓ Cartuchos para SPE Oasis® HLB 60 mg/3 mL (Waters, EUA);
- ✓ Cartuchos para SPE Bond Elut C₁₈ 200 mg/3 mL (Agilent, EUA);
- ✓ Cartuchos para SPE Bond Elut Nexus 60 mg/3 mL (Agilent, EUA);
- ✓ Padrões sólidos de fármacos (LGC Standards, Alemanha);
- ✓ Padrões de controle deuterados ácido nalidíxico-d₅ e sulfadimetoxina-d₆ (Witega, Alemanha);
- ✓ Padrão interno trifenilfosfato (Sigma Aldrich, EUA);
- ✓ Acetonitrila grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- ✓ Metanol grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- ✓ Água ultrapura, purificada em sistema Milli-Q Direct 3UV® (resistividade de 18,2 MΩ cm);
- ✓ Titriplex® III - ácido etilenodiaminotetracético dissódico dihidratado (Merck, Alemanha);
- ✓ Formiato de amônio (Sigma Aldrich, EUA);
- ✓ Hidróxido de amônio 28-30% (Sigma Aldrich, EUA);
- ✓ Ácido fórmico ≥ 98% (Sigma Aldrich, EUA);
- ✓ Ácido fosfórico P.A. 85% (Merck, Brasil);
- ✓ Ácido acético glacial (J.T. Baker, EUA).

3.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

As soluções estoque individuais de cada fármaco foram preparadas na concentração de 1000 mg L⁻¹ a partir dos padrões sólidos, considerando a pureza de cada um. Tanto a solução de mistura dos fármacos como a solução de mistura dos padrões de controle foram preparadas em metanol, ambas com concentração final de 10 mg L⁻¹. Com exceção da solução de mistura dos padrões de controle, a qual

foi armazenada entre -0,3 e 10 °C, todas as demais soluções foram armazenadas em temperaturas menores que -10°C.

3.4 FÁRMACOS SELECIONADOS

Para este estudo foram selecionados fármacos de diferentes classes: analgésicos e anti-inflamatórios, hormônios, antibióticos, β -bloqueadores, antiparasitários e antiepiléticos. Informações a respeito da estrutura, fórmula e massa molecular, classe, pureza, pKa e log K_{ow} podem ser observadas no Apêndice A.

3.5 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

A otimização cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna Acquity UPLC™ BEH C₁₈ (2,1x50 mm; 1,7 μ m) e como fase móvel A uma solução de água:metanol (98:2 v/v) e B metanol, ambas contendo 5 mmol L⁻¹ de formiato de amônio e 0,1% (v/v) de ácido fórmico. Tanto a coluna como a fase móvel A:B já eram utilizadas previamente no laboratório para a análise de outros fármacos. Conforme mostra a Tabela 4, foram realizados três testes utilizando diferentes tempos de corrida e mantendo a mesma vazão de fase móvel, a fim de avaliar a melhor condição de separação e a intensidade do sinal de cada analito.

Tabela 4 – Otimização do tempo da corrida cromatográfica.

Testes	Tempo de corrida (min.)	Gradiente (min. – %A:%B)
Teste 1	3	0 – 95:5
		0,25 – 95:5
		1,50 – 0:100
		2,50 – 0:100
		2,60 – 95:5
		3,0 – 95:5
Teste 2	4	0 – 95:5
		0,25 – 95:5
		1,50 – 0:100
		2,50 – 0:100
		2,60 – 95:5
		4,0 – 95:5
Teste 3	10	0 – 95:5
		0,25 – 95:5
		7,75 – 0:100
		8,50 – 0:100
		8,51 – 95:5
		10,00 – 95:5

3.6 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA

3.6.1 Escolha da matriz branco

O branco de amostra consiste na matriz sem o analito de interesse (INMETRO, 2016). Neste trabalho, foram avaliadas água ultrapura e água da torneira do próprio laboratório para a escolha da matriz branco.

3.6.2 Adição de EDTA

Na literatura é possível encontrar diversos trabalhos onde é relatada a adição de um complexante em amostras aquosas para a determinação de fármacos. A adição de EDTA, por exemplo, aumenta a extração de alguns tipos de antibióticos (DASENAKI; THOMAIDIS, 2015; LIANG et al., 2016). Sendo assim, realizou-se um

teste a fim de comparar a eficiência de extração em amostras com e sem a adição de EDTA.

3.6.3 Escolha do sorvente para a SPE

Os testes preliminares para a otimização do método de SPE foram realizados com o cartucho Strata™-X (200 mg/3 mL), uma vez que este sorvente já havia sido utilizado no laboratório para a extração de alguns fármacos em efluente. Posteriormente, foram avaliados outros três sorventes, os quais podem ser observados na Tabela 5.

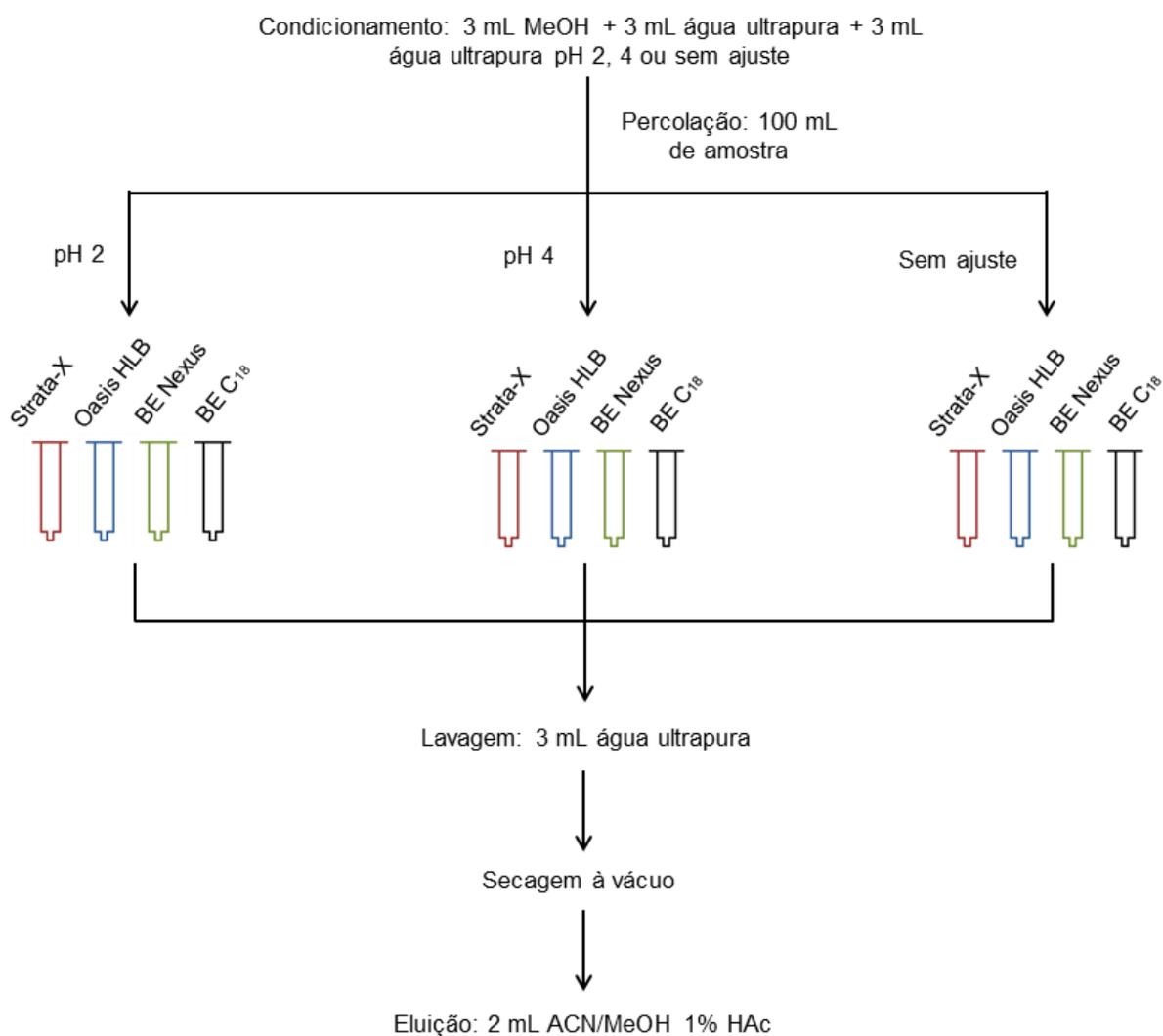
Tabela 5 – Sorventes avaliados para a extração dos analitos em estudo.

Cartucho	Tipo de sorvente
Strata™-X (200 mg/3 mL)	Polimérico
Oasis® HLB (60 mg/3 mL)	Polimérico
Bond Elut Nexus (60 mg/3 mL)	Polimérico
Bond Elut C ₁₈ (200 mg/3 mL)	Sílica quimicamente ligada

3.6.4 Ajuste do pH da amostra

Simultaneamente à escolha do sorvente, foram avaliados três diferentes pHs de amostra: 2, 4 e sem ajuste (pH entre 5,5-6,0). Quando necessário, o ajuste do pH foi realizado utilizando uma solução de ácido fosfórico (1:1, v/v). A Figura 4 representa esquematicamente como foram realizados os testes de forma simultânea.

Figura 4 – Fluxograma dos diferentes sorventes e pHs das amostras avaliados.



O volume de amostra (100 mL) não foi modificado durante as etapas de otimização. Todos os sorventes avaliados foram condicionados e eluídos com os mesmos solventes e volumes, de modo que a diferença entre os procedimentos esteve apenas no tipo de sorvente e no pH da amostra.

3.6.5 Escolha do solvente e do volume de eluição

Para a escolha do solvente de eluição foram testados quatro diferentes solventes: acetonitrila, metanol, acetonitrila/metanol (1:1 v/v) e acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético. Inicialmente foram injetados no equipamento apenas pontos na concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ preparados em cada um dos solventes, a fim

de avaliar o sinal analítico de cada fármaco. Os dois solventes que apresentaram os melhores resultados em termos de formato de pico e área foram selecionados para o teste com diferentes volumes de eluição (1 e 2 mL), o qual pretendia avaliar a possibilidade de aumentar ainda mais o fator de concentração do método. Após a eluição, todos os extratos foram diluídos duas vezes em água ultrapura para posterior análise.

3.7 VALIDAÇÃO

A validação do método foi realizada seguindo os critérios do INMETRO (2016) e da SANTE/11813/2017 (2017). Os parâmetros avaliados foram seletividade, linearidade, precisão, exatidão, LOD e LOQ.

Nesta etapa foram empregados os padrões de controle ácido nalidíxico-d5 e sulfadimetoxina-d6, além do metabólito 5-OH-tiabendazol, o qual consiste no principal metabólito do tiabendazol. Os padrões deuterados foram adicionados antes da etapa de extração a fim de avaliar a eficiência do procedimento de extração. A estabilidade do instrumento foi verificada a partir da utilização do padrão interno trifenilfosfato.

3.7.1 Seletividade

A seletividade consiste na capacidade do método de avaliar, de forma inequívoca, os analitos na presença de outros constituintes da amostra que podem interferir na sua determinação (RIBANI et al., 2004). Neste trabalho, a seletividade foi avaliada por meio da análise da matriz branco e da matriz branco fortificada.

3.7.2 Linearidade

A linearidade está relacionada com a capacidade do método em fornecer um sinal analítico diretamente proporcional à concentração do analito, dentro de uma determinada faixa de aplicação (RIBANI et al., 2004). A expressão matemática utilizada para calcular a concentração dos analitos consiste em uma função de primeiro grau, também conhecida como equação da reta (Equação 1), conforme estabelecido pelo INMETRO (2016):

$$y = ax + b \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

y = resposta medida (área do pico);

x = concentração;

a = coeficiente angular (inclinação da curva analítica);

b = coeficiente linear (interseção com o eixo y, quando x = 0).

Sendo assim, a linearidade foi avaliada através de uma curva analítica preparada em solvente, o qual era o mesmo utilizado na etapa de eluição da SPE. Esta curva foi preparada em sete níveis de concentração distintos: 0,5, 1, 2, 5, 10, 20 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.7.3 Exatidão e precisão

A exatidão pode ser avaliada em termos de recuperação, onde resultados encontrados em um determinado ensaio são comparados a um valor de referência assumido como “verdadeiro”. A recuperação pode ser estimada a partir da análise de amostras fortificadas com concentrações conhecidas de analito, sendo que os ensaios devem ser realizados em pelo menos três diferentes concentrações da faixa de uso do método (RIBANI et al., 2004; INMETRO, 2016).

A precisão, por sua vez, geralmente é expressa pelo desvio padrão (DP) e pelo coeficiente de variação (CV). O coeficiente de variação, também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), é calculado a partir da Equação 2 (INMETRO, 2016):

$$CV = DPR = \frac{DP}{CDM} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

CMD = concentração média determinada.

Para avaliar a exatidão (ensaios de recuperação) e a precisão (DPR) do método, foram assumidos os seguintes níveis de fortificação: 0,01, 0,02, 0,1, 0,4 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=6). A precisão intermediária foi estimada a partir de uma nova execução do estudo de repetibilidade do nível de fortificação de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ em um dia diferente.

3.7.4 Limites de quantificação e de detecção

O limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) é definido como a menor concentração de analito que pode ser medida com exatidão e precisão aceitáveis. Normalmente, o LOQ do método corresponde ao padrão de calibração de menor concentração. Entre os métodos utilizados para o cálculo do LOQ destacam-se: avaliação visual, relação sinal/ruído e ainda a estimativa a partir da curva analítica (INMETRO, 2016).

O limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) consiste na menor quantidade de analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. A Equação 3 é um dos métodos utilizados para estimar o LOD:

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

Neste trabalho, o LOQ do método foi definido como sendo o nível de mais baixa concentração na matriz branco fortificada que pode ser medido com exatidão e precisão aceitáveis. O LOD foi calculado a partir da divisão do LOQ por 3,33.

3.8 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS

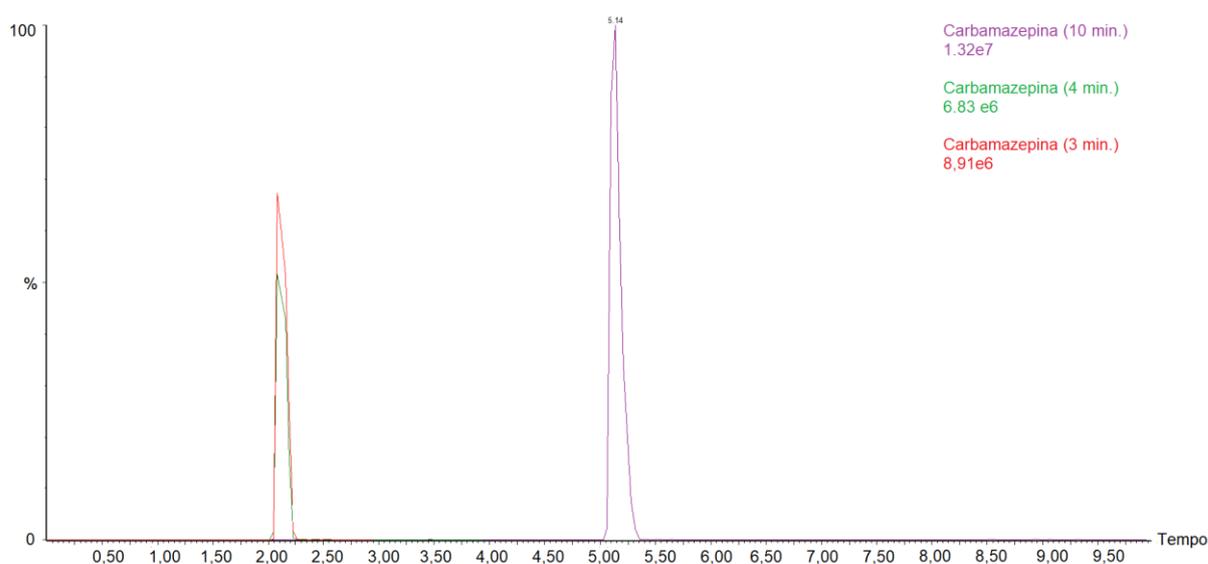
O método validado foi aplicado a 12 amostras de água de consumo humano de diferentes cidades e regiões do Rio Grande do Sul. As amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar de 250 mL, transportadas até o laboratório sob refrigeração e mantidas na geladeira até a extração. Cabe salientar que o tempo percorrido entre as coletas e a extração de cada amostra não excedeu sete dias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

A coluna cromatográfica, a fase móvel e a vazão não sofreram alterações em relação ao método que já era utilizado previamente no laboratório. A partir dos testes envolvendo o tempo de corrida, optou-se pela utilização do tempo de 10 minutos, visto que alguns fármacos como a carbamazepina e o propranolol tiveram uma diminuição considerável de área nos tempos de 4 e 3 minutos. Na Figura 5 é possível observar, a partir dos cromatogramas de íons totais (TIC, do inglês *total ion chromatogram*), a diferença entre as áreas da carbamazepina nos diferentes tempos de corrida.

Figura 5 – Sobreposição dos cromatogramas de íons totais da carbamazepina, na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, em diferentes tempos de corrida.



Sendo assim, as condições cromatográficas adotadas estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6 – Condições cromatográficas otimizadas.

Parâmetros	Condições cromatográficas
Coluna	Acquity UPLC™ BEH C18 (2,1 x 50 mm; 1,7 µm)
Temperatura da coluna	40 °C
Fase móvel	(A) água:metanol (98:2, v/v) e (B) metanol, ambas contendo 5 mmol L ⁻¹ de formiato de amônio e 0,1% (v / v) de ácido fórmico
Gradiente (min. - %A:%B)	0 – 95:5 0,25 – 95:5 7,75 – 0:100 8,50 – 0:100 8,51 – 95:5 10,00 – 95:5
Volume de injeção	10 µL
Vazão	0,225 mL min ⁻¹

O detector empregado neste estudo foi um espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo. A fonte de ionização utilizada foi do tipo *electrospray* com modo de ionização positivo (ESI+). As condições empregadas no espectrômetro de massas foram:

- Capilar: 2,0 kV;
- Gás de dessolvatação: Nitrogênio;
- Temperatura de dessolvatação: 500 °C;
- Vazão no cone: 80,0 L h⁻¹;
- Gás de colisão: Argônio;
- Vazão do gás de colisão: 0,15 mL min⁻¹;

- Temperatura da fonte: 150 °C.

O modo de ionização e as transições para a quantificação e a identificação dos analitos já haviam sido previamente escolhidas utilizando monitoramento de reações selecionadas (SRM, do inglês *selected reaction monitoring*). A transição de maior intensidade foi utilizada para a quantificação e a segunda de maior intensidade para a identificação de cada um dos analitos. Os parâmetros tempo de retenção, energia do cone e energia de colisão para cada transição SRM estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Compostos analisados com seus respectivos tempos de retenção, energia do cone e energia de colisão para cada uma das transições SRM.

(continua)

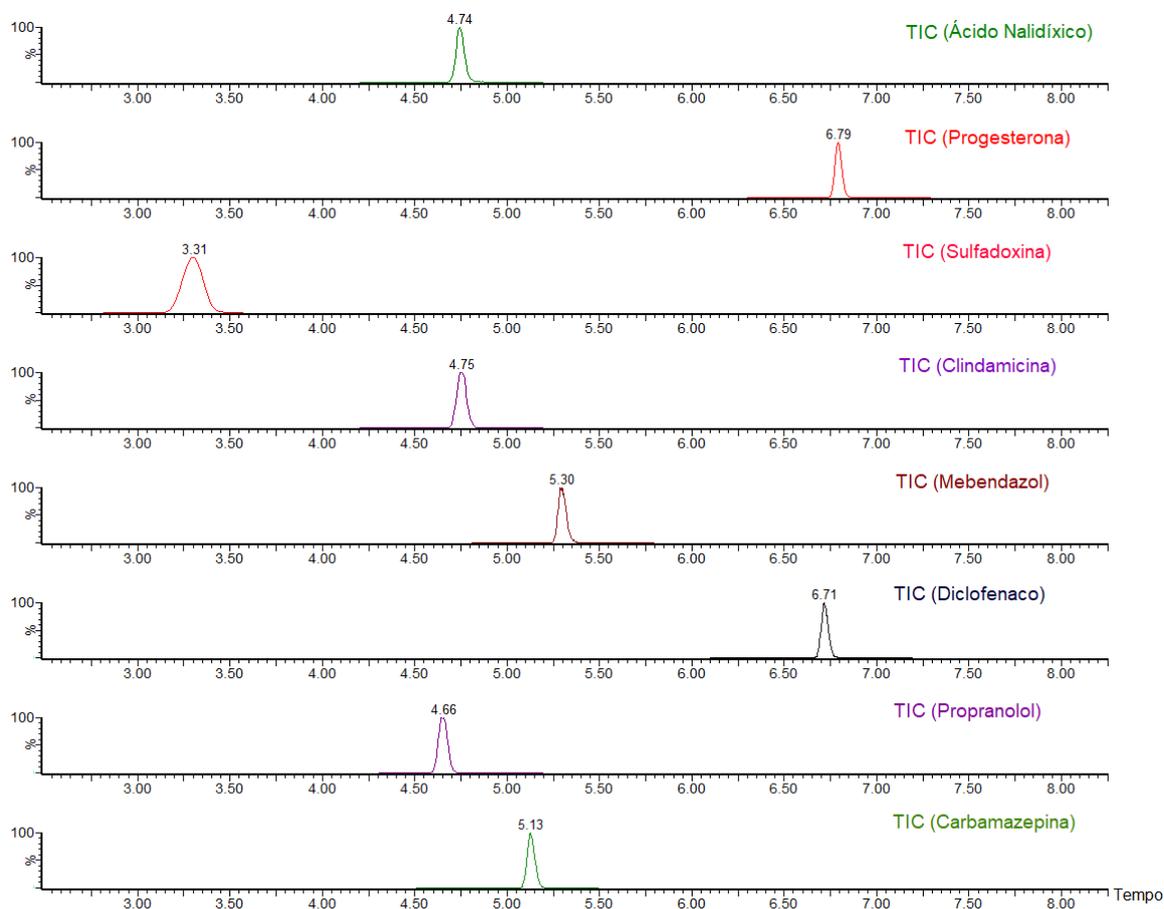
Composto	t_R (min.)	Energia do cone (V)	Transições SRM, m/z (Energia de colisão, eV)	
			Quantificação	Identificação
Ácido Nalidíxico	4,74	27,0	233>215 (14)	233>187 (25)
Androstenediona	5,96	30,0	287,1>97 (22)	287,1>109 (24)
Atenolol	0,61	25,0	267>145 (25)	267>190 (25)
Cafeína	2,78	25,0	195,3>138 (20)	195,3>110 (20)
Carbamazepina	5,13	36,0	236,9>194,1 (12)	236,9>167,4 (40)
Clindamicina	4,75	45,0	425,3>126,2 (40)	425,3>377,4 (20)
Clortetraciclina	3,94	27,0	479,3>444,2 (20)	479,3>462,2 (18)
Diclofenaco	6,71	20,0	296>215 (20)	296>250,1 (12)
Doxiciclina	4,46	25,0	445,2>428,2 (20)	445,2>154 (28)
Mebendazol	5,30	35,0	296,2>104,9 (30)	296,2>264,2 (30)
Metronidazol	1,96	22,0	172>128 (15)	172>82 (21)
Paracetamol	1,88	22,0	152>110 (15)	152>65 (30)
Progesterona	6,79	30,0	315,2>97 (22)	315,2>109 (24)
Propranolol	4,66	30,0	260>116 (18)	260>183 (20)
Sulfadiazina	1,98	25,0	251>156 (15)	251>92 (27)
Sulfadoxina	3,31	27,0	311>156 (15)	311>92 (32)
Sulfametoxazol	3,14	25,0	254>156 (16)	254>92 (26)

(conclusão)

Composto	t_R (min.)	Energia do cone (V)	Transições SRM, m/z (Energia de colisão, eV)	
			Quantificação	Identificação
Testosterona	6,18	29,0	289,2>97 (22)	289,2>109 (21)
Tetraciclina	2,76	22,0	445,3>410,2 (20)	445,3>154 (26)
Tiabendazol	3,08	42,0	202>175 (25)	202>131 (30)
5-OH- tiabendazol	2,63	50,0	218>190,9 (26)	218>147 (32)

Na Figura 6 é possível visualizar os cromatogramas de íons totais dos compostos representativos das diferentes classes de fármacos analisadas neste trabalho.

Figura 6 – Cromatogramas de íons totais dos compostos representativos de cada classe de fármacos na concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$.



4.2 PREPARO DE AMOSTRA

4.2.1 Matriz branco

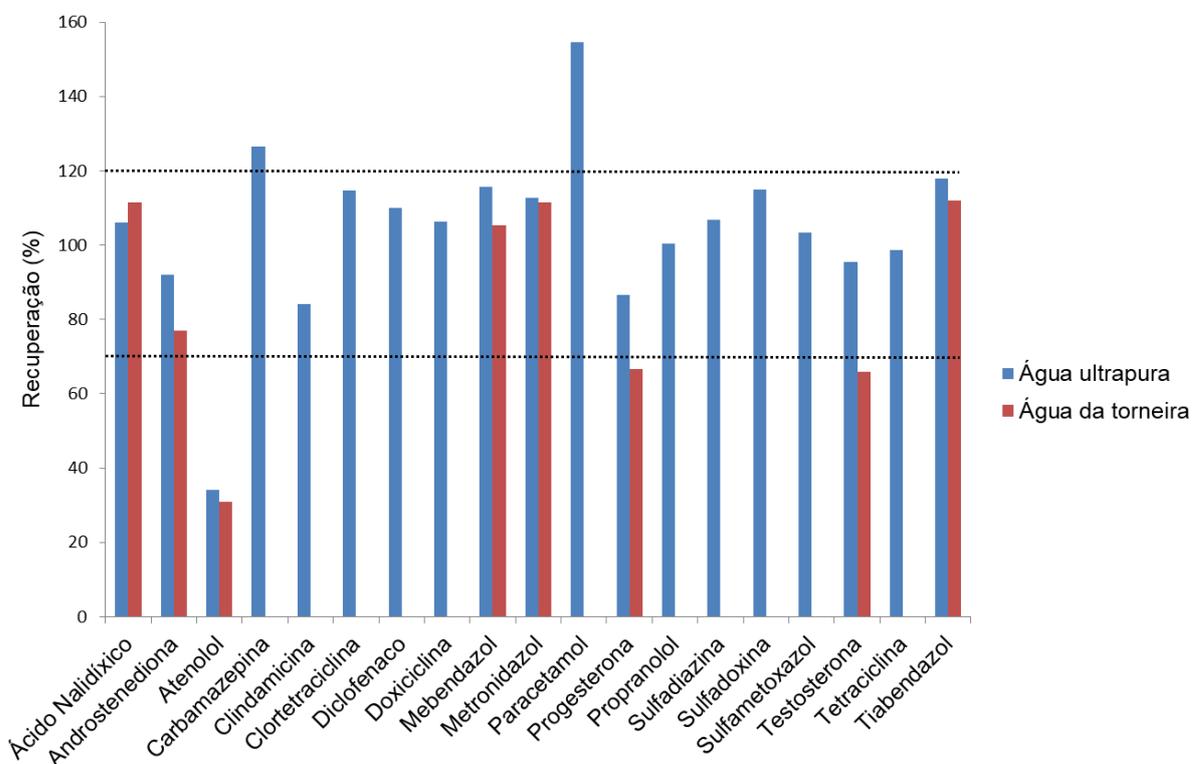
Água ultrapura e água da torneira foram avaliadas durante a escolha da matriz branco. Os resultados das análises demonstraram que ambas poderiam ser consideradas branco para os compostos em estudo, com exceção da cafeína, a qual é considerada um indicador de contaminação por efluente urbano (SEILER et al., 1999) e estava presente tanto na água da torneira como na água ultrapura.

Considerando que a água da torneira possui uma melhor representatividade da matriz em termos de possíveis interferentes, optou-se por utilizar a mesma como matriz branco para a otimização e a validação do método de SPE.

4.2.2 Adição de EDTA na amostra

A necessidade da adição de um complexante à amostra foi verificada durante a comparação dos resultados das análises de água ultrapura e água da torneira, ambas fortificadas no nível de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ com pH 2,0. Este pH inicial foi escolhido com base em trabalhos encontrados na literatura (DASENAKI; THOMAIDIS, 2015; PAÍGA; SANTOS; DELERUE-MATOS, 2017). A Figura 7 apresenta o percentual das recuperações em água ultrapura e água da torneira para o nível de fortificação de $2 \mu\text{g L}^{-1}$.

Figura 7 – Recuperações em água ultrapura e água da torneira para o nível de fortificação de $2 \mu\text{g L}^{-1}$, sem adição de EDTA.

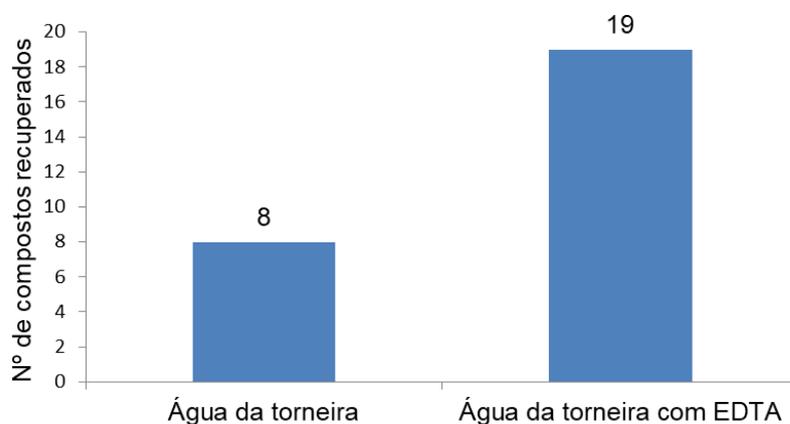


Utilizando a água ultrapura é possível observar que todos os compostos recuperaram, ainda que nem todas as recuperações tenham sido adequadas (70-120%) (RIBANI et al., 2004; SANTE, 2017), como é o caso do atenolol, da carbamazepina e do paracetamol. Por outro lado, ao utilizar água da torneira, fármacos de diversas classes (em especial os antibióticos) não apresentaram recuperação alguma.

Dasenaki e Thomaidis (2015) já haviam descrito que a adição de EDTA em amostras aquosas antes da extração teve grande influência na recuperação de tetraciclina e sulfonamidas. Sabe-se que a principal aplicação do EDTA é como agente complexante, sendo este capaz de se ligar fortemente a diferentes íons metálicos (HARRIS, 2005). Nesse sentido, é importante destacar que uma das propriedades da água é a dureza, a qual está associada à concentração de diferentes cátions em solução. Os cátions mais frequentemente associados à dureza são os de cálcio e os de magnésio (Ca^{2+} e Mg^{2+} , respectivamente) (FUNASA, 2014).

Com base na literatura, foram adicionados 0,1 g de EDTA para cada 100 mL de amostra de água da torneira antes da extração por SPE (DASENAKI; THOMAIDIS, 2015; LIANG et al., 2016; PAÍGA; SANTOS; DELERUE-MATOS, 2017). A Figura 8 apresenta o número de compostos recuperados sem e com a adição de EDTA antes da extração para o nível de fortificação de $2 \mu\text{g L}^{-1}$, a qual evidencia a necessidade da adição do agente complexante na amostra.

Figura 8 – Número de compostos recuperados sem e com a adição de EDTA.



Considerando que a ausência de recuperação dos fármacos foi solucionada apenas com a adição de EDTA à amostra, é possível inferir que estes compostos possuem algum tipo de interação com os cátions presentes na amostra. A água da torneira naturalmente possui mais íons em solução do que a água ultrapura, uma vez que esta não passou por um processo de deionização.

4.2.3 Escolha do sorvente e ajuste do pH da amostra

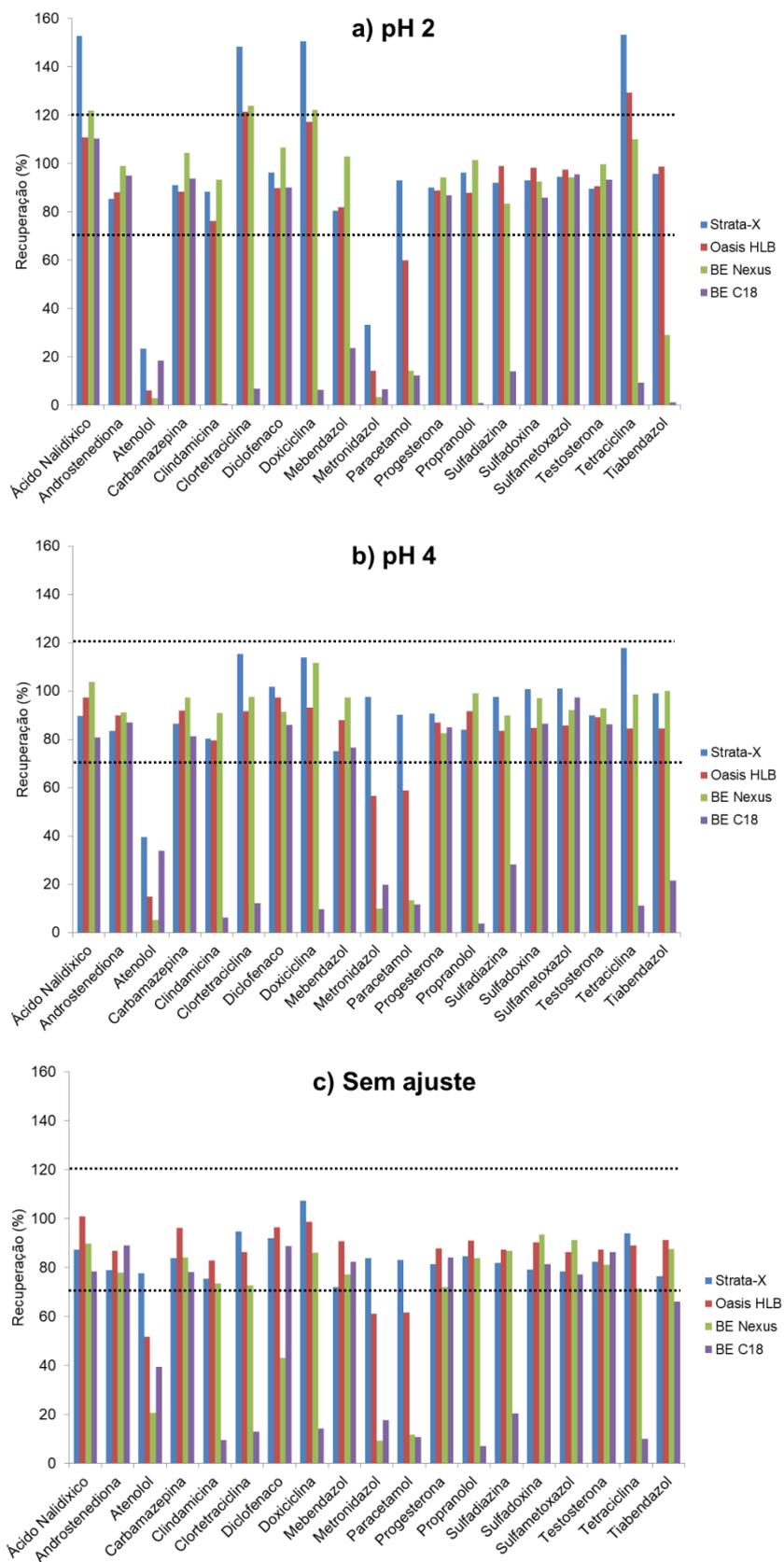
A escolha do sorvente e o ajuste do pH da amostra são parâmetros importantes para a SPE. Sendo assim, foram testados quatro sorventes diferentes (Strata™-X, Oasis® HLB, Bond Elut Nexus e Bond Elut C₁₈), sendo três constituídos por sorventes poliméricos e um por sílica quimicamente ligada. A escolha destes sorventes foi baseada em métodos de preparo de amostra descritos na literatura (DASENAKI; THOMAIDIS, 2015; ČIZMIĆ; BABIĆ; KAŁTELAN-MACAN, 2017; RIVERA-JAIMES et al., 2018).

Optou-se por avaliar simultaneamente o pH e os sorventes a fim de garantir que todas as amostras estivessem exatamente com o mesmo pH durante a extração. Desta forma foram preparados três frascos distintos com 500 mL de água da torneira com 0,1% (m/v) de EDTA para cada um dos pHs avaliados (2, 4 e sem ajuste de pH). Todos os pHs foram medidos com o auxílio de um pHmetro e, quando necessário, realizou-se o ajuste utilizando ácido fosfórico 1:1 (v/v).

Após o ajuste do pH cada solução foi particionada em quatro balões volumétricos de 100 mL, resultando em doze balões no total. A amostra de cada balão foi fortificada no nível de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ com a solução de mistura dos fármacos.

O procedimento de extração foi idêntico para todos os testes. A eluição dos analitos foi realizada utilizando 2 mL de uma solução de acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético. Na Figura 9 é possível visualizar os resultados obtidos em termos de recuperação para cada pH em cada um dos sorventes testados.

Figura 9 – Recuperações obtidas para cada fármaco em diferentes pHs e sorventes no nível de fortificação de $2 \mu\text{g L}^{-1}$.



O sorvente Bond Elut C₁₈ apresentou os resultados menos satisfatórios em todos os níveis de pH avaliados. Os sorventes do tipo C₁₈ são frequentemente utilizados para compostos com log K_{ow} superior a 1, ou seja, compostos mais apolares (ČIZMIĆ; BABIĆ; KAŁTELAN-MACAN, 2017). Considerando a ampla diferença entre as polaridades dos analitos em estudo, era esperado que este sorvente não fosse o mais adequado para a retenção de todos os compostos.

Apesar das recuperações terem sido mais satisfatórias para os compostos clindamicina, clortetraciclina, doxiciclina, propranolol, sulfadiazina, tetraciclina e tiabendazol, o sorvente Bond Elut Nexus, assim como o Bond Elut C₁₈, não proporcionou bons resultados para os compostos atenolol, paracetamol e metronidazol em nenhum dos níveis de pH avaliados.

Os sorventes Oasis[®] HLB e Strata[™]-X proporcionaram resultados muito semelhantes para todos os compostos nos três pHs avaliados. Estes sorventes poliméricos possuem uma capacidade de retenção mais ampla do que os à base de sílica (ČIZMIĆ; BABIĆ; KAŁTELAN-MACAN, 2017). As estruturas desses dois sorventes podem ser observadas no Anexo A.

Em função da similaridade dos resultados entre Oasis[®] HLB e Strata[™]-X, a definição do sorvente e do pH da amostra se deu por meio da avaliação das recuperações dos analitos atenolol, metronidazol e paracetamol. A recuperação desses três compostos foi adequada (70-120%) utilizando o sorvente Strata[™]-X e, para o atenolol, apenas com a amostra sem ajuste de pH (5,5-6,0), de modo que esta foi a condição escolhida. O comportamento do atenolol nos diferentes pHs foi semelhante ao observado por Jakubus et al. (2019). Cabe salientar que o cartucho Strata[™]-X continha 200 mg de sorvente, enquanto o Oasis[®] HLB apenas 60 mg. Desta forma não se descarta a possibilidade de que esta diferença na quantidade de sorvente possa ter exercido alguma influência na capacidade de retenção.

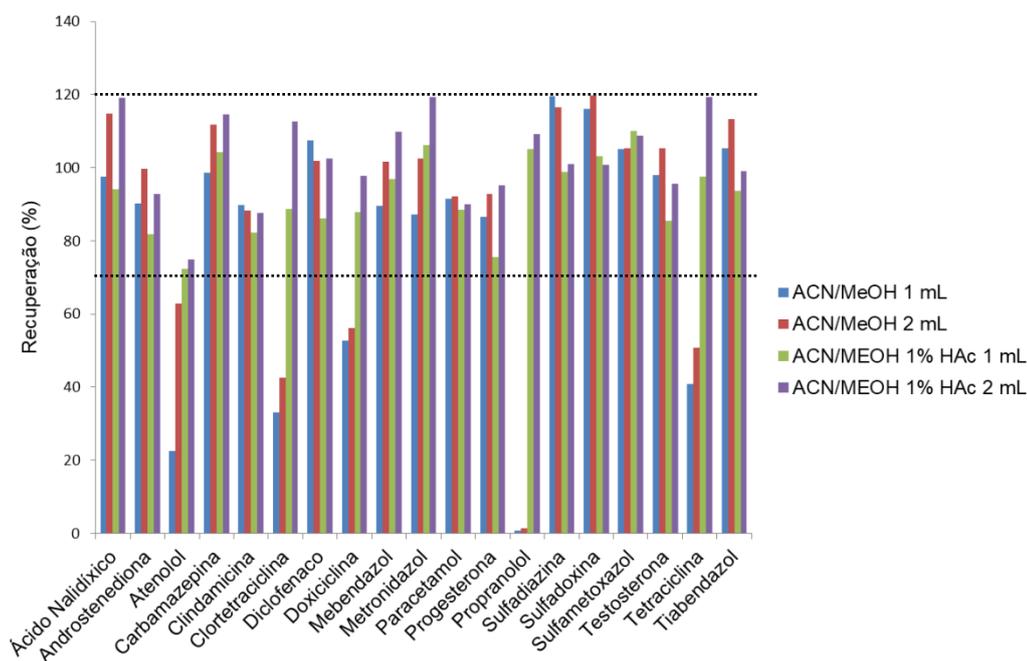
4.2.4 Seleção do solvente e do volume de eluição

Os solventes de eluição escolhidos para os testes foram metanol, acetonitrila, acetonitrila/metanol (1:1 v/v) e acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético. Esta escolha foi baseada em trabalhos encontrados na literatura (PAÍGA; SANTOS; DELERUE-MATOS, 2017; RIVERA-JAIMES et al., 2018) e também na compatibilidade destes solventes com o sistema UHPLC-MS/MS.

A fim de evitar a utilização desnecessária de cartuchos, optou-se inicialmente por avaliar apenas o sinal analítico de cada fármaco em pontos na concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ preparados em cada um dos solventes escolhidos. Em metanol e em acetonitrila, observaram-se sinais analíticos alargados e uma perda significativa de área para alguns compostos. Por outro lado, com as misturas de acetonitrila/metanol (1:1 v/v) e acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético, todos os fármacos apresentaram sinais analíticos menos alargados e áreas superiores quando comparados com os solventes individuais. Com base nestes resultados, as duas misturas de solventes foram selecionadas para a escolha do volume de eluição.

Todos os testes até esta etapa haviam sido realizados utilizando 2 mL como volume de eluição. A fim de aumentar ainda mais o fator de concentração do método, realizou-se um teste utilizando o volume de apenas 1 mL. Cabe salientar que todas as eluições foram realizadas utilizando balões volumétricos de 1 ou 2 mL. A Figura 10 apresenta as recuperações obtidas para os níveis de fortificação de 0,4 e $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ utilizando os volumes de eluição de 1 e 2 mL, respectivamente, para os solventes acetonitrila/metanol (1:1 v/v) e acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético.

Figura 10 – Recuperações das fortificações nos níveis de 0,4 e $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ para os volumes de eluição de 1 e 2 mL, respectivamente, utilizando os solventes acetonitrila/metanol (1:1 v/v) e acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético.

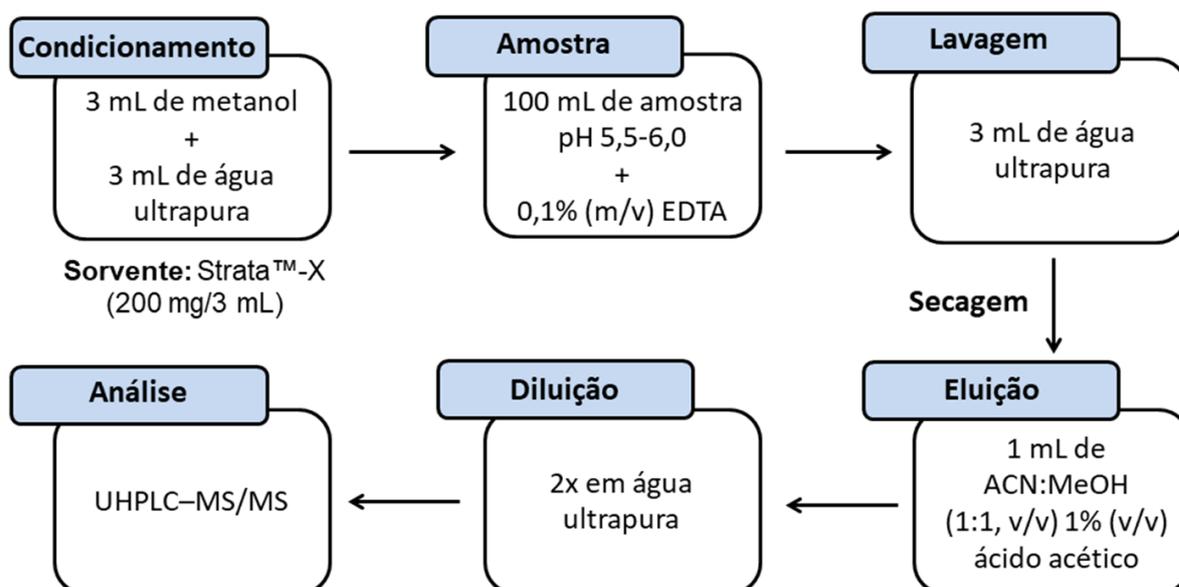


Os compostos atenolol, clortetraciclina, doxiciclina, propranolol e tetraciclina não apresentaram recuperações satisfatórias com o solvente acetonitrila/metanol (1:1 v/v). No caso do propranolol, as recuperações tanto em 1 como em 2 mL foram inferiores a 2%, demonstrando que sua eluição só ocorre com o solvente acidificado. Em virtude disso, o solvente escolhido foi a mistura de acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético.

Após a escolha do solvente, foram avaliados os volumes de eluição. Ao observar a Figura 10, é possível concluir que as recuperações tanto para 1 como para 2 mL foram satisfatórias (70-120%) para todos os compostos. Considerando que ao eluir com apenas 1 mL o fator de concentração do método torna-se duas vezes maior, optou-se por utilizar este volume de eluição.

Por fim, os parâmetros de extração otimizados foram os seguintes: adição de 0,1% (m/v) de EDTA na amostra, cartucho Strata™-X (200 mg/3 mL), amostra sem ajuste de pH (5,5-6,0), solvente de eluição acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético e volume de eluição 1 mL. O extrato final foi diluído duas vezes em água ultrapura a fim de melhorar o sinal analítico dos compostos. A Figura 11 apresenta esquematicamente o método de SPE empregado neste trabalho.

Figura 11 – Método de SPE otimizado para a extração dos analitos em estudo.

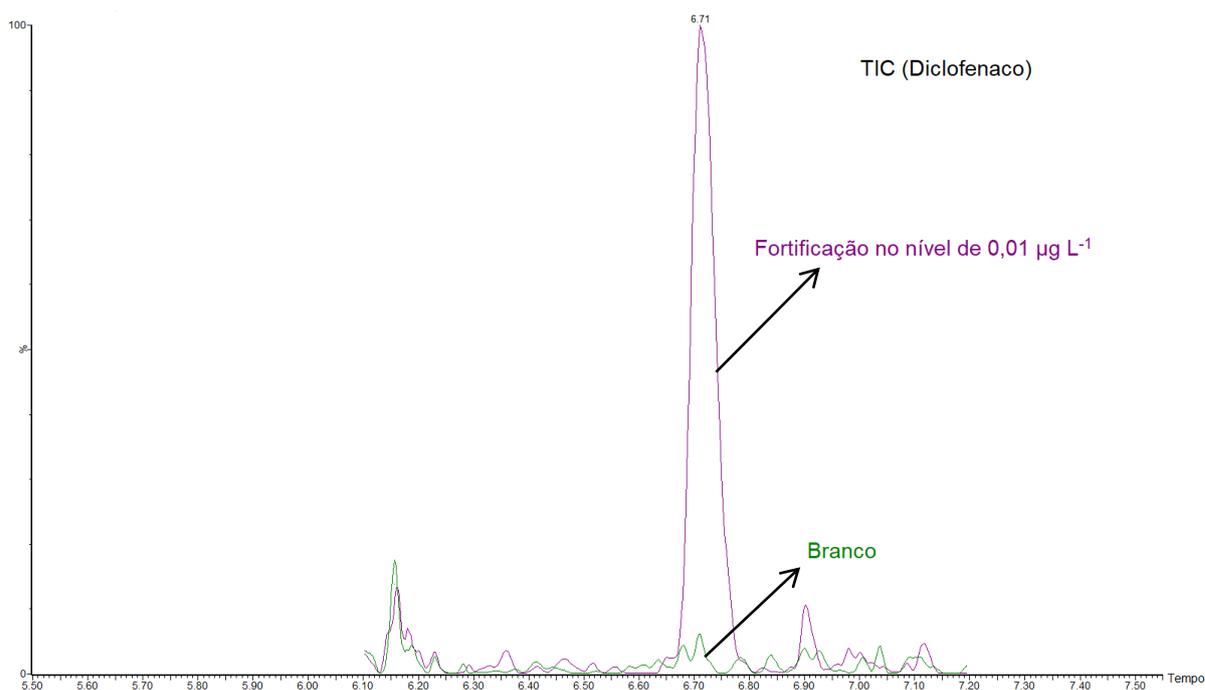


4.3 VALIDAÇÃO

4.3.1 Seletividade

A seletividade do método proposto neste estudo foi satisfatória, visto que além da matriz branco estar isenta dos fármacos avaliados, não houve interferentes com os mesmos íons de quantificação e identificação. A Figura 12 apresenta o cromatograma de íons totais do diclofenaco fortificado no nível do seu LOQ ($0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) sobreposto ao branco (água da torneira + 0,1% m/v de EDTA), de modo que é possível observar que a matriz branco estava de fato isenta deste fármaco.

Figura 12 – Cromatograma de íons totais do diclofenaco no nível de fortificação de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ sobreposto ao branco.

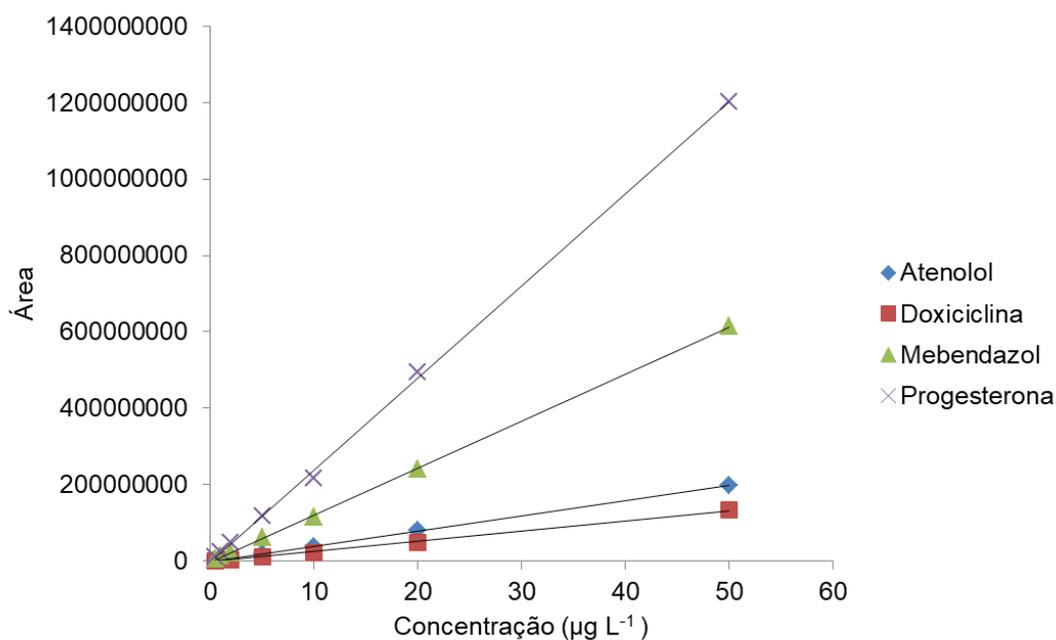


4.3.2 Linearidade

A linearidade foi avaliada a partir do preparo de uma curva analítica no mesmo solvente utilizado na etapa de eluição, ou seja, acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético.

A Figura 13 apresenta as curvas analíticas obtidas para os compostos atenolol, doxiciclina, mebendazol e progesterona, onde é possível observar que a progesterona possui a curva de maior inclinação e conseqüentemente as maiores áreas.

Figura 13 – Curvas analíticas dos compostos atenolol, doxiciclina, mebendazol e progesterona.



A faixa linear e o coeficiente de determinação (r^2) de cada fármaco, obtidos a partir do preparo da curva analítica, podem ser observados na Tabela 8.

Tabela 8 – Faixa linear e coeficiente de determinação para a curva analítica preparada em solvente.

Composto	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r^2
Ácido Nalidíxico	0,5-50	0,9990
Androstenediona	0,5-50	0,9996
Atenolol	0,5-50	0,9996
Carbamazepina	0,5-50	0,9992
Clindamicina	5,0-50	0,9987
Clortetraciclina	5,0-50	0,9964
Diclofenaco	0,5-50	0,9980
Doxiciclina	0,5-50	0,9982
Mebendazol	0,5-50	0,9998
Metronidazol	0,5-50	0,9988
Paracetamol	0,5-50	0,9999
Progesterona	0,5-50	0,9994
Propranolol	0,5-50	0,9989
Sulfadiazina	1,0-50	0,9982
Sulfadoxina	1,0-50	0,9937
Sulfametoxazol	1,0-50	0,9935
Testosterona	0,5-50	0,9996
Tetraciclina	5,0-50	0,9994
Tiabendazol	0,5-50	0,9979
5-OH-tiabendazol	0,5-50	0,9998

A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a linearidade de todos os compostos em estudo foi adequada, uma vez que todos apresentaram $r^2 > 0,99$.

4.3.3 Exatidão e precisão

A exatidão e a precisão do método foram avaliadas a partir da análise de cinco níveis de fortificação com seis repetições cada, utilizando os cálculos de

recuperação e desvio padrão relativo. A Tabela 9 apresenta os resultados referentes aos ensaios de exatidão (recuperação) e precisão (DPR).

Tabela 9 – Resultados dos ensaios de exatidão (recuperação) e precisão (DPR) com n=6.

(continua)

Composto	Recuperação±DPR (%)					
	Repetibilidade					Precisão intermediária
	Níveis ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
	0,01	0,02	0,1	0,4	1,0	0,1
Ácido Nalidíxico	80±19	77±8	80±8	84±8	76±11	100±7
Androstenediona	70,±8,0	71±5	73±5	82±4	80±5	72±8
Atenolol	71±12	70±5	76±7	87±4	77±5	71±7
Carbamazepina	82±14	84±3	85±5	92±3	88±3	84±5
Clindamicina	-	-	74±16	76±7	84±2	74±5
Clortetraciclina	-	-	76±11	80±7	97±18	101±12
Diclofenaco	91±11	97±10	103±4	109±6	107±6	91±8
Doxiciclina	119±8	90±8	85±10	90±9	91±9	111±8
Mebendazol	71±10	73±5	75±4	82±2	79±2	70±6
Metronidazol	94±19	96±8	96±6	103±3	96±3	92±6
Paracetamol	103±14	83±9	91±10	94±5	79±2	71±3
Progesterona	74±12	78±4	80±3	85±4	87±4	75±4
Propranolol	87±17	91±7	90±4	93±7	90±7	83±6
Sulfadiazina	-	84±19	104±10	112±6	114±7	95±9

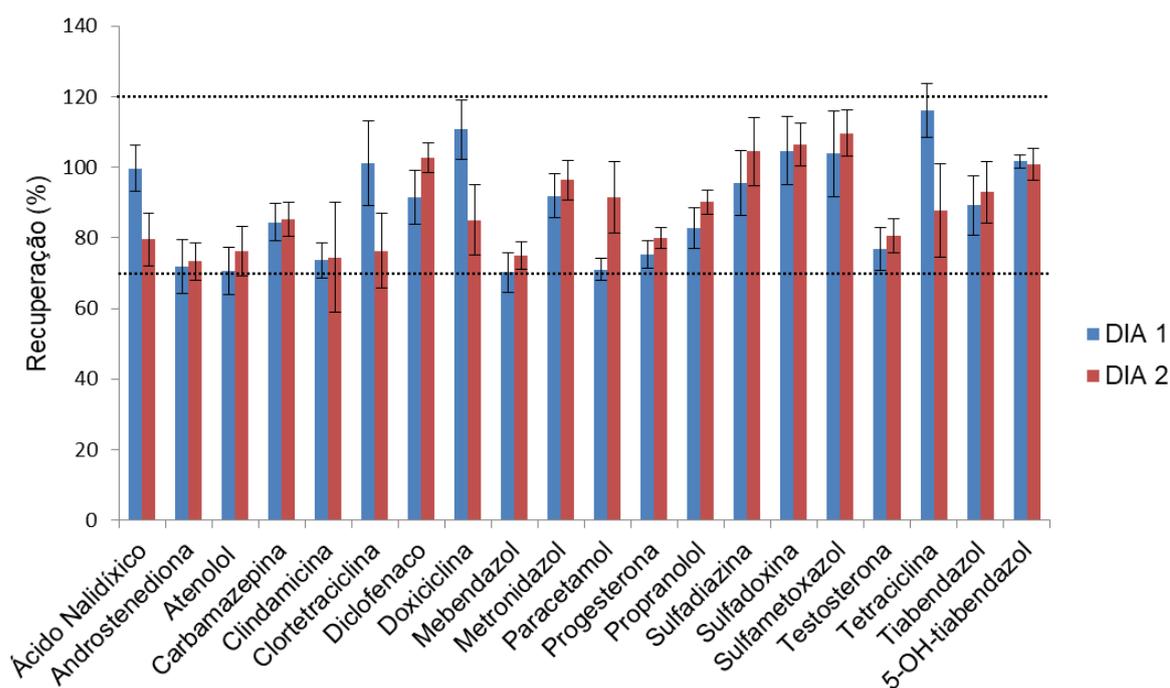
(conclusão)

Composto	Recuperação±DPR (%)					
	Repetibilidade					Precisão intermediária
	Níveis ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
	0,01	0,02	0,1	0,4	1,0	0,1
Sulfadoxina	-	96±7	106±6	111±8	108±6	105±10
Sulfametoxazol	-	92±18	110±6	115±11	113±5	104±12
Testosterona	78±11	76±3	80±5	89±4	88±4	77±6
Tetraciclina	-	-	88±13	92±8	102±11	116±8
Tiabendazol	90±7	92±6	93±9	101±8	97±6	89±8
5-OH-tiabendazol	92±16	89±9	101±5	106±5	104±4	102±2

Os ensaios de exatidão e precisão forneceram resultados satisfatórios para todos os compostos avaliados em pelo menos três dos cinco níveis de fortificação, visto que as recuperações variaram entre 70 e 119% com DPR $\leq 19\%$. A clindamicina, a clortetraciclina e a tetraciclina não foram validadas nos níveis de 0,01 e 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ devido aos sinais analíticos serem de difícil integração nas concentrações mais baixas. A sulfadiazina, a sulfadoxina e o sulfametoxazol apresentaram a mesma dificuldade de integração na concentração de 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A Figura 14 apresenta graficamente os resultados da precisão intermediária, a qual foi realizada em dias diferentes, para o nível de fortificação de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=6).

Figura 14 – Resultados da precisão intermediária para o nível de fortificação de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$.



Os resultados da precisão intermediária foram satisfatórios, uma vez que os valores de recuperação mantiveram-se entre 70 e 116% com DPR $\leq 12\%$ para todos os compostos.

4.3.4 Limites de detecção e quantificação

Neste trabalho, o LOQ foi calculado a partir do menor nível de fortificação que pode ser validado com recuperações entre 70-120% e DPR \leq 20%. Levou-se ainda em consideração os fatores de diluição, sendo o volume de eluição de 1 mL e a diluição de duas vezes do extrato final em água ultrapura, de modo que o fator de concentração final do método foi de 50 vezes. O LOD, por sua vez, foi calculado a partir da divisão do LOQ por 3,33. Os limites de quantificação e detecção do método podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 10 – Limites de quantificação e detecção do método.

Composto	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ácido Nalidíxico	0,01	0,003
Androstenediona	0,01	0,003
Atenolol	0,01	0,003
Carbamazepina	0,01	0,003
Clindamicina	0,1	0,03
Clortetraciclina	0,1	0,03
Diclofenaco	0,01	0,003
Doxiciclina	0,01	0,003
Mebendazol	0,01	0,003
Metronidazol	0,01	0,003
Paracetamol	0,01	0,003
Progesterona	0,01	0,003
Propranolol	0,01	0,003
Sulfadiazina	0,02	0,006
Sulfadoxina	0,02	0,006
Sulfametoxazol	0,02	0,006
Testosterona	0,01	0,003
Tetraciclina	0,1	0,03
Tiabendazol	0,01	0,003
5-OH-tiabendazol	0,01	0,003

Com exceção dos compostos clindamicina, clortetraciclina, sulfadiazina, sulfadoxina, sulfametoxazol e tetraciclina, todos os analitos fortificados no nível de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ foram quantificados, de modo que este foi o menor valor de LOQ obtido.

Em comparação com o estudo de Dasenaki e Thomaidis (2015), onde também foi realizada a adição de EDTA em amostras aquosas antes da SPE, este trabalho obteve limites de quantificação menores para os fármacos doxicilina, sulfadiazina, sulfadiazina, sulfadoxina, sulfametoxazol, diclofenaco, progesterona, atenolol, propranolol, paracetamol e carbamazepina. Já para a clortetraciclina e a tetraciclina, os limites aqui apresentados foram maiores.

Liang et al. (2016), que também realizaram a adição de EDTA para a extração de antibióticos em amostras aquosas por SPE, obtiveram limites de quantificação maiores para os compostos tetraciclina, sulfadiazina, doxicilina e sulfametoxazol. O método proposto neste trabalho obteve limites em média dez vezes menores.

4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS REAIS

O método desenvolvido neste trabalho foi aplicado para a análise de 12 amostras de água de consumo humano de diferentes cidades e regiões do estado do Rio Grande do Sul. A Tabela 11 apresenta os locais de coleta e de captação das águas analisadas, bem como se as mesmas passam por algum tratamento antes do consumo.

Tabela 11 – Locais de coleta das amostras analisadas.

Local de coleta	Água tratada por órgão estadual responsável?	Local de captação
Arroio do Tigre – RS	Sim	Poço
Caçapava do Sul - RS	Sim	Rio
Caçapava do Sul - RS	Não	Poço
Frederico Westphalen – RS	Sim	Rio
Gaurama – RS	Não	Poço
Getúlio Vargas – RS	Sim	Rio
Giruá – RS	Sim	Poço
Jaguari – RS	Sim	Rio
Santa Maria - RS	Sim	Rio
São Martinho da Serra – RS	Não	Vertente
Torres – RS	Sim	Rio
Torres – RS	Não	Vertente

Todas as amostras foram coletadas diretamente da torneira de residências localizadas nas respectivas cidades, com exceção da água de vertente de Torres-RS, a qual foi coletada da própria vertente. Quando necessário, o pH das amostras foi ajustado para a faixa de 5,5-6,0 com uma solução de hidróxido de amônio 5% (v/v). Foram encontradas três amostras de água tratada positivas para três fármacos diferentes, sendo duas captadas de rios (A4 E A10) e uma de poço (A3). Cabe salientar que o número atribuído às amostras positivas não tem relação direta com a ordem das cidades descritas na Tabela 11. A Tabela 12 apresenta os valores de concentração encontrados para cada fármaco.

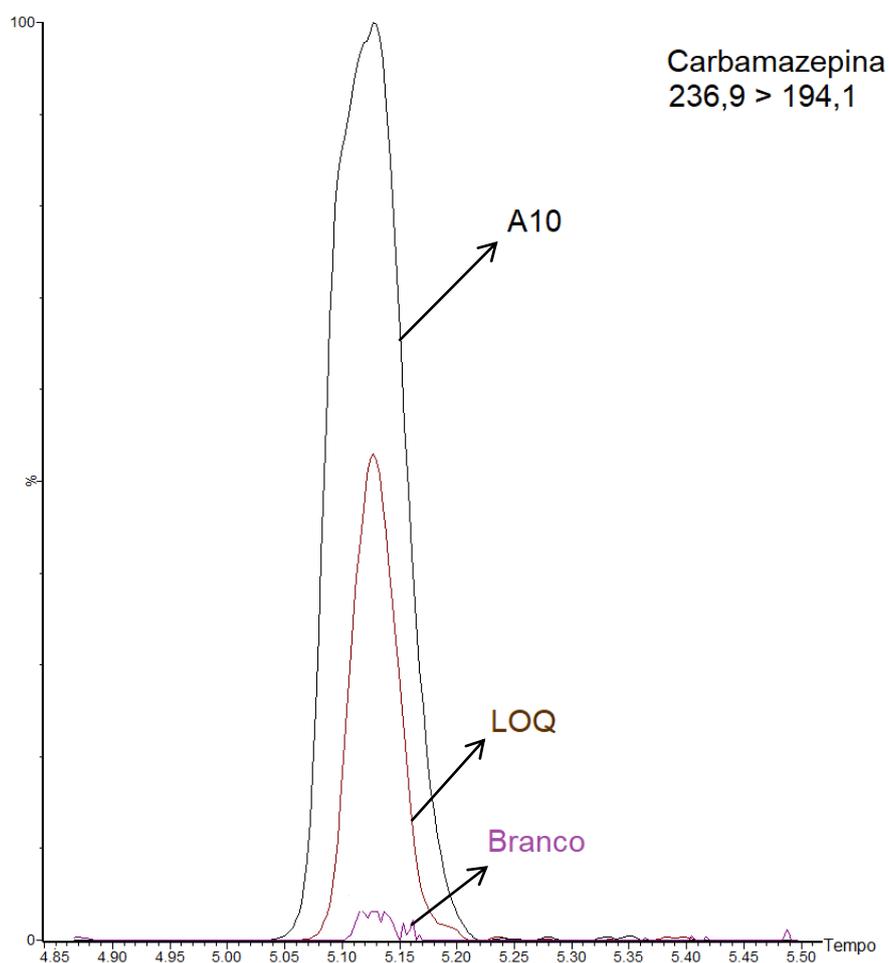
Tabela 12 – Concentrações dos fármacos encontrados em amostras reais.

Fármaco	Amostra		
	A3	A4	A10
Atenolol	n.d.	n.d.	0,026 $\mu\text{g L}^{-1}$
Carbamazepina	0,013 $\mu\text{g L}^{-1}$	n.d.	0,027 $\mu\text{g L}^{-1}$
Paracetamol	n.d.	0,016 $\mu\text{g L}^{-1}$	n.d.

n.d. = não detectado.

Na Figura 15 é possível visualizar o cromatograma da carbamazepina na amostra A10 sobreposto ao seu LOQ (0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$) e branco.

Figura 15 – Cromatograma da amostra A10, positiva para a carbamazepina, sobreposto ao seu LOQ (0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$) e branco.



Ressalta-se ainda que todas as águas analisadas, incluindo a matriz branco, estavam contaminadas com cafeína. Este composto é considerado um indicador de contaminação por efluente urbano, principalmente devido à sua natureza antrópica. A persistência da cafeína na água é associada à sua alta solubilidade, baixo $\log K_{ow}$ e volatilidade insignificante. Sua principal fonte de entrada em corpos hídricos se dá pela excreção após o consumo de café, chás, refrigerantes ou medicamentos (FERREIRA; LOURDES; CUNHA, 2005).

Segundo o trabalho recente de Sodré, Dutra e Santos (2018), o atenolol e a cafeína estão entre os cinco compostos mais encontrados em amostras de água superficial no Brasil. Já a carbamazepina e o paracetamol foram encontrados em aproximadamente 50 e 20% das amostras analisadas, respectivamente. As faixas de concentração encontradas para estes compostos foram 0,48-90 (atenolol), 0,12-652 (carbamazepina) e 13,4-13440 $\mu\text{g L}^{-1}$ (paracetamol), sendo estas superiores aos valores encontrados nas análises realizadas neste trabalho. A maior concentração de fármacos em águas superficiais pode ser atribuída ao fato destas constituírem o principal meio receptor de efluentes.

De acordo com uma breve consulta em farmácias da cidade de Santa Maria-RS, apenas para a compra da carbamazepina é necessária a retenção de receita médica. Apesar disso, este foi o composto encontrado em maior concentração e no maior número de amostras neste trabalho.

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho descreveu a otimização do método de extração em fase sólida para a determinação simultânea de fármacos de diferentes classes em água de consumo humano empregando a técnica de UHPLC-MS/MS. Os testes para a escolha do sorvente, da adição de EDTA na amostra, do ajuste de pH, do solvente e do volume de eluição foram realizados para garantir a melhor condição de extração.

Verificou-se que o sorvente Strata™-X (200 mg/ 3mL) foi o mais adequado para a extração de todos os compostos. A adição de EDTA na amostra mostrou-se necessária, uma vez que proporcionou um aumento no número de compostos recuperados. Quanto ao pH, constatou-se que só foi possível obter recuperações adequadas para o atenolol quando a amostra não sofreu ajustes no pH, ficando na faixa de 5,5-6,0. Já em relação ao solvente de eluição, observou-se que só foi possível eluir o propranolol com o solvente acidificado, o que resultou na escolha do solvente acetonitrila/metanol (1:1 v/v) 1% (v/v) ácido acético. Com a diminuição do volume de eluição para 1 mL, foi possível dobrar o fator de concentração do método para 50 vezes, o que permitiu atingir baixos limites de quantificação e detecção.

O método de SPE otimizado demonstrou ser adequado para a extração simultânea de fármacos de diferentes classes em água de consumo humano. Além disso, a análise por UHPLC-MS/MS apresentou alta sensibilidade e seletividade, o que possibilitou a determinação simultânea de 20 fármacos em um intervalo de 10 minutos.

Entre as 12 amostras reais analisadas, 3 apresentaram resultados positivos para os compostos atenolol, carbamazepina e paracetamol. Finalmente, o método proposto neste trabalho demonstrou ser simples, eficaz e confiável, podendo ser aplicada em análises de rotina, visto que atendeu a todos os parâmetros de validação estabelecidos.

6 DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS

Os resíduos sólidos e líquidos gerados durante o desenvolvimento deste trabalho foram devidamente separados e identificados no próprio laboratório, sendo posteriormente encaminhados ao almoxarifado do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria. Estes resíduos são encaminhados a uma empresa terceirizada que realiza o tratamento e o descarte adequado.

O armazenamento dos resíduos sólidos foi realizado utilizando sacos plásticos adequados para resíduos contaminados, enquanto os resíduos líquidos foram divididos em frascos identificados como halogenados e não halogenados, de acordo com recomendação do próprio departamento.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Ampliar o escopo de fármacos para a análise por UHPLC-MS/MS;
- ✓ Avaliar a aplicabilidade do método em outras amostras de água tais como: água de rio sem tratamento, água mineral, água de açude, efluente, entre outras;
- ✓ Analisar amostras de água de consumo humano de outras regiões do país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, P. D. *Water Pollution Biology*. 2. ed. Sunderland: Taylor & Francis e-Library, 2002. 296 p.

ANDRADE-EIROA, A. et al. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **Trends In Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641-654, 2016.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico**, 2018.

ARSAND, J. B. et al. Wide-scope determination of pharmaceuticals and pesticides in water samples: Qualitative and confirmatory screening method using LC-qTOF-MS. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 229, n. 12, p. 1-20, 2018.

BARROS, S. et al. Chronic environmentally relevant levels of simvastatin disrupt embryonic development, biochemical and molecular responses in zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 201, p. 47-57, 2018.

BORGES, K. B.; PEREIRA, A. C.; MANO, V. Introdução ao preparo de amostras. In:_____. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. Organização: Eduardo Costa de Figueiredo, Keyller Bastos Borges, Maria Eugênia C. Queiroz. 1ª ed, Rio de Janeiro: LTC, 2015. p. 2-8.

BOTTONI, P.; CAROLI, S.; CARACCILO, A. Pharmaceuticals as priority water contaminants. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 92, n. 3, p. 549-565, 2010.

BOYD, C. E. *Water Quality: An Introduction*. 2. ed. Auburn: ©Springer International Publishing Switzerland, 2015. 357 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução CONAMA Nº 357, de 17/03/2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2914, de 12/12/2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em: <http://site.sabesp.com.br/uploads/file/asabesp_doctos/kit_arsesp_portaria2914.pdf> Acesso em: 19 fev. 2019.

BREZOVĚK, P.; ELERĚK, T.; FILIPIČ, M. Toxicities of four anti-neoplastic drugs and their binary mixtures tested on the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* and the cyanobacterium *Synechococcus leopoliensis*. **Water Research**, v. 52, p.168-177, 2014.

BROOKS, B. W. et al. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 464-469, 2005.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p.1604-1617, 2011.

ČIZMIĆ, M.; BABIĆ, S.; KAŁTELAN-MACAN, M. Multi-class determination of pharmaceuticals in wastewaters by solid-phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry with matrix effect study. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 25, p. 20521-20539, 2017.

CLEUVERS, M. Initial risk assessment for three β -blockers found in the aquatic environment. **Chemosphere**, v. 59, n. 2, p.199-205, 2005.

DAMKJAER, K. et al. Occurrence, removal and risk assessment of steroid hormones in two wastewater stabilization pond systems in Morogoro, Tanzania. **Chemosphere**, v. 212, p.1142-1154, 2018.

DASENAKI, M. E.; THOMAIDIS, N. S.. Multianalyte method for the determination of pharmaceuticals in wastewater samples using solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 15, p.4229-4245, 2015.

DÍAZ-CRUZ, M. S.; ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 6, p.340-351, 2003.

Drugbank. Drug & drug target database. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/>>. Acesso em: 21 dez. 2018.

EBELE, A. J.; ABDALLAH, M. A.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, v. 3, n. 1, p.1-16, 2017.

FARIAS, N. O. et al. Exposure to low concentration of fluoxetine affects development, behaviour and acetylcholinesterase activity of zebrafish embryos. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 215, p.1-8, 2019.

FATTA-KASSINOS, D.; MERIC, S.; NIKOLAOU, A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 1, p.251-275, 2010.

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, v. 76, n. 2, p.122-159, 2006.

FERRANDO-CLIMENT, L.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D.. Development of a UPLC-MS/MS method for the determination of ten anticancer drugs in hospital and urban wastewaters, and its application for the screening of human metabolites assisted by information-dependent acquisition tool (IDA) in sewage samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 18, p.5937-5952, 2013.

FERREIRA, A. P.; LOURDES, C.; CUNHA, N. Anthropoc pollution in aquatic environment: Development of a caffeine indicator. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 15, n. 4, p.303-311, 2005.

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS. **Ministério da Saúde**. Brasília, 2014.

GODOY, A. A.; KUMMROW, F.; PAMPLIN, P. A. Z. Ecotoxicological evaluation of propranolol hydrochloride and losartan potassium to *Lemna minor* L. (1753) individually and in binary mixtures. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 5, p.1112-1123, 2015.

GONZÁLEZ-MARIÑO, I. et al. Multi-residue determination of psychoactive pharmaceuticals, illicit drugs and related metabolites in wastewater by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1569, p. 91-100, 2018.

GRENNI, P.; ANCONA, V.; CARACCILO, A. B. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. **Microchemical Journal**, v. 136, p.25-39, 2018.

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

HARRIS, D. C., Análise Química Quantitativa, 6ª Edição, LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro-RJ, 2005.

HERMES, N. et al. Quantification of more than 150 micropollutants including transformation products in aqueous samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using scheduled multiple reaction monitoring. **Journal of Chromatography A**, v. 1531, p.64-73, 2018.

HERNANDO, M. D. et al. LC-MS analysis of basic pharmaceuticals (beta-blockers and anti-ulcer agents) in wastewater and surface water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, p.581-594, 2007.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. Mass Spectrometry: Principles and Applications. 3 ed. England: Wiley. 2007. 489 p.

HORVAT, A.J.M. et al. Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p.61-84, 2012.

INCA - Instituto Nacional do Câncer. Disponível em:
<http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=101>. Acesso em: 08 out. 2018.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008, rev. 5, 2016.

JAKUBUS, A. et al. Dispersive solid-phase extraction using multi-walled carbon nanotubes combined with liquid chromatography–mass spectrometry for the analysis of β -blockers: Experimental and theoretical studies. **Microchemical Journal**, v. 146, p.258-269, 2019.

JARDIM, I.C.S.F. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n.1, p. 13-25, 2010.

JARDIM, I.C.S.F. Princípios da extração em fase sólida. In:_____. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. Organização: Eduardo Costa de Figueiredo, Keyller Bastos Borges, Maria Eugênia C. Queiroz. 1ª ed, Rio de Janeiro: LTC, 2015. p. 62-78.

KHAN, B. et al. Cellular responses to in vitro exposures to β -blocking pharmaceuticals in hard clams and Eastern oysters. **Chemosphere**, v. 211, p.360-370, 2018.

KRIZMAN-MATASIC, I. et al. Simultaneous analysis of opioid analgesics and their metabolites in municipal wastewaters and river water by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1533, p.102-111, 2018.

KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. **Chemosphere**, v. 75, n. 4, p.417-434, 2009.

LANÇAS, F.M. Extração em Fase Sólida (SPE). São Carlos, RiMa, 2004.

LEMPART, A. et al. The Presence of Compounds from the Personal Care Products Group in Swimming Pool Water. **Journal Of Ecological Engineering**, v. 19, n. 3, p.29-37, 2018.

LIANG, N. et al. Solid-phase extraction in combination with dispersive liquid-liquid microextraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis: the ultra-trace determination of 10 antibiotics in water samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 6, p.1701-1713, 2016.

MANICKUM, T; JOHN, W. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). **Science of the Total Environment**, v. 468-469, p.584-597, 2014.

MARTA-SANCHEZ, A. V. et al. Trace analysis of parabens preservatives in drinking water treatment sludge, treated, and mineral water samples. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 15, p.14460-14470, 2018.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, p.1094-1110, 2017.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, n. 1, p.24-40, 1999.

MORLEY, N. J. Environmental risk and toxicology of human and veterinary waste pharmaceutical exposure to wild aquatic host–parasite relationships. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 27, n. 2, p.161-175, 2009.

PAÍGA, P. et al. 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. 106, p.61-70, 2015.

PAÍGA, P.; SANTOS, L.H.M.L.M.; DELERUE-MATOS, C. Development of a multi-residue method for the determination of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in aqueous environmental matrices by SPE-UHPLC–MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 135, p.75-86, 2017.

PETERS, F. T.; DRUMMER, O. H.; MUSSHOF, F. Validation of new methods. **Forensic Science International**, v. 165, n. 2-3, p.216-224, 2007.

PETROVIC, M. et al. Recent trends in the liquid chromatography–mass spectrometry analysis of organic contaminants in environmental samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 25, p.4004-4017, 2010.

PubChem. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 21 dez. 2018.

QIANG, L. et al. Environmental concentration of carbamazepine accelerates fish embryonic development and disturbs larvae behavior. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 7, p.1426-1437, 2016.

RADOVIĆ, T. et al. Determination of pharmaceuticals and pesticides in river sediments and corresponding surface and ground water in the Danube River and tributaries in Serbia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 1, p.1-17, 2014.

REZKA, P.; BALCERZAK, W. The occurrence of selected hypolipidemic drugs in the aquatic environment. **Czasopismo Techniczne**, p. 103-110, 2015.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIVERA-JAIMES, J. A. et al. Study of pharmaceuticals in surface and wastewater from Cuernavaca, Morelos, Mexico: Occurrence and environmental risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 613-614, p.1263-1274, 2018.

SANDERSON, H. et al. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. **Toxicology**, v. 203, n. 1-3, p.27-40, 2004.

SANTE, EUROPEAN COMMISSION. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. Document nº SANTE/11813/2017, 2017.

SEILER R.L. et al. Caffeine and pharmaceuticals as indicators of wastewater contamination in wells. **Ground Water**, v. 37, n. 3, p. 405-10, 1999.

SODRÉ, F. et al. Seasonal and Spatial Distribution of Caffeine, Atrazine, Atenolol and DEET in Surface and Drinking Waters from the Brazilian Federal District. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 9, p.1854-1865, 2018.

SODRÉ, F. F.; DUTRA, P. M.; SANTOS, V. P. Pharmaceuticals and personal care products as emerging micropollutants in Brazilian surface waters: a preliminary snapshot on environmental contamination and risks. **Eclética Química Journal**, v. 43, n. 1, p. 22-34, 2018.

SORAN, M. I. et al. Determination of Antibiotics in Surface Water by Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array and Mass Spectrometry Detection. **Analytical Letters**, v. 50, n. 7, p.1209-1218, 2016.

SUN, L. et al. Transcriptional Responses in Adult Zebrafish (*Danio rerio*) Exposed to Propranolol and Metoprolol. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 6, p.1352-1361, 2015.

TRIEBSKORN, R. et al. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. **Aquatic Toxicology**, v. 68, n. 2, p.151-166, 2004.

TYLOVÁ, T.; FLIEGER, M.; OLŠOVSKÁ, J. Determination of antibiotics in influents and effluents of wastewater-treatment-plants in the Czech Republic – development and application of the SPE and a UHPLC-ToFMS method. **Analytical Methods**, v. 5, n. 8, p. 2110-2118, 2013.

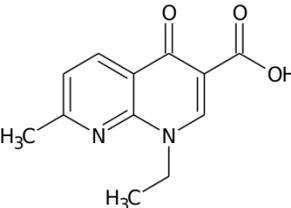
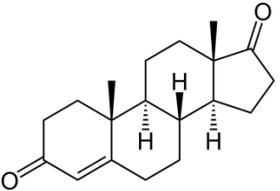
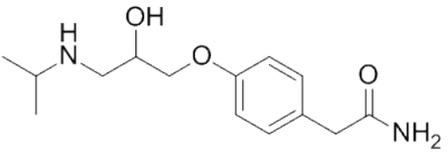
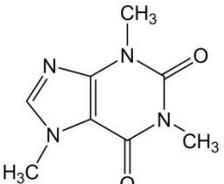
WATERS. Introdução ao Acoplamento Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massas. Disponível em:
<<http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/17MET/minicursos/minicursoamadeu-iglesias.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

WLUKA, A. et al. Analytical method development for the determination of eight biocides in various environmental compartments and application for monitoring purposes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 21, p. 21894-21907, 2016.

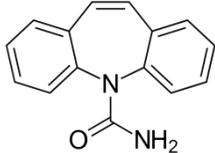
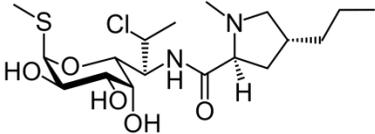
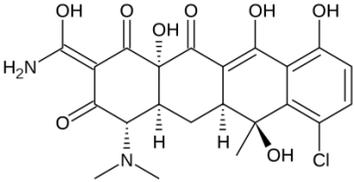
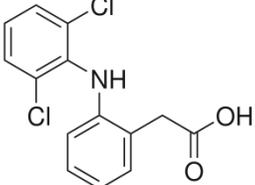
YING, G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environment International**, v. 28, n. 6, p.545-551, 2002.

APÊNDICE A - INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE OS FÁRMACOS EM ESTUDO

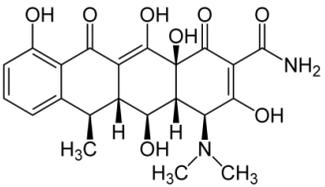
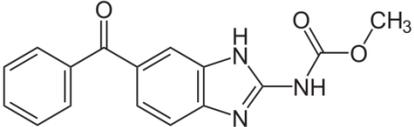
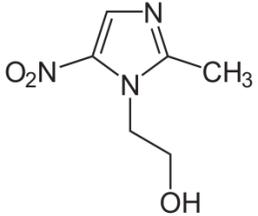
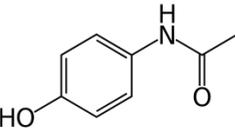
(continua)

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	Classe	pKa	log K _{ow}
Ácido nalidíxico		C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	232,2	99,5	Antibiótico	5,95/4,68	1,41
Androstenediona		C ₁₉ H ₂₆ O ₂	286,4	99,5	Hormônio	-4,8/19,03	2,75
Atenolol		C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	266,3	99,6	β-bloqueador	14,08/9,67	0,16
Cafeína		C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,2	99,0	Estimulante	14,0	-0,07

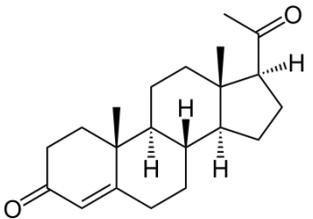
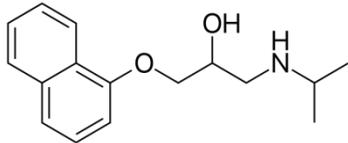
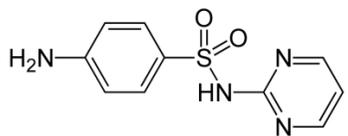
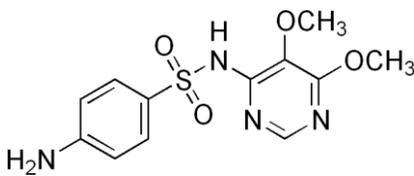
(continuação)

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	Classe	pKa	log K _{ow}
Carbamazepina		C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236,2	99,6	Antiepiléptico	15,96/-3,8	2,45
Clindamicina		C ₁₈ H ₃₃ ClN ₂ O ₅ S	424,9	93,0	Antibiótico	12,41/7,55	2,16
Clortetraciclina		C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₈	478,8	99,0	Antibiótico	3,3/7,6/9,3	-
Diclofenaco		C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	296,1	99,5	Anti-inflamatório	4,0/-2,1	4,51

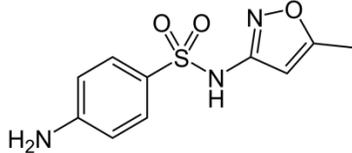
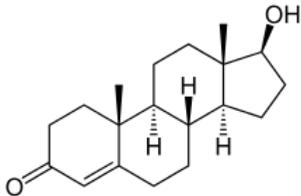
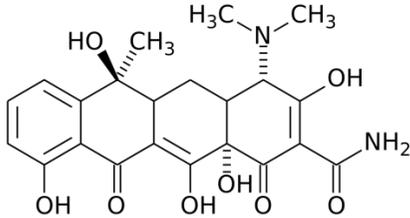
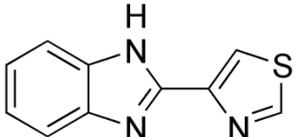
(continuação)

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	Classe	pKa	log K _{ow}
Doxiciclina		C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	444,4	98,7	Antibiótico	3,0/8,0/9,2	-
Mebendazol		C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	295,3	97,0	Antiparasitário	8,44/3,93	2,83
Metronidazol		C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	171,1	99,8	Antiparasitário	15,44/3,09	-0,02
Paracetamol		C ₈ H ₉ NO ₂	151,1	99,5	Analgésico	9,46/-4,4	0,46

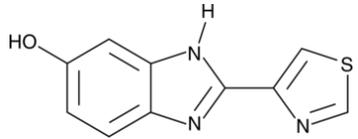
(continuação)

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	Classe	pKa	log K _{ow}
Progesterona		C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314,4	99,2	Hormônio	-4,8/18,92	3,87
Propranolol		C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	259,3	99,0	β-bloqueador	14,09/9,67	3,48
Sulfadiazina		C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	250,2	99,0	Antibiótico	6,99/2,01	-0,09
Sulfadoxina		C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	310,3	98,0	Antibiótico	2,55/6,12	-

(continuação)

Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	Classe	pKa	log K _{ow}
Sulfametoxazol		C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253,2	99,0	Antibiótico	1,6/5,7	0,89
Testosterona		C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288,4	98,5	Hormônio	-0,88/18,52	3,32
Tetraciclina		C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	444,4	96,0	Antibiótico	3,3/7,8/9,6	-1,37
Tiabendazol		C ₁₀ H ₇ N ₃ S	201,2	99,0	Antiparasitário	10,28/4,08	2,47

(conclusão)

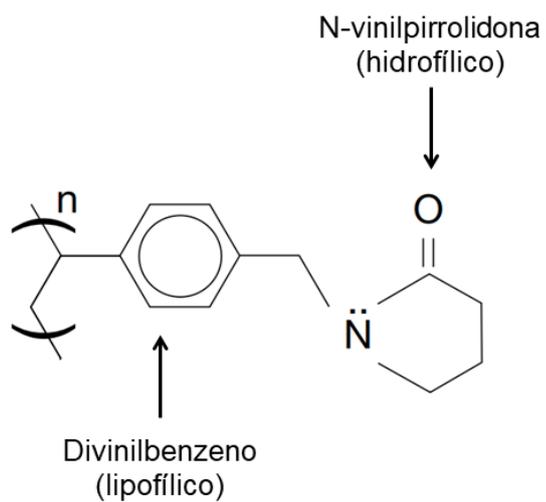
Composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Pureza (%)	Classe	pKa	log K _{ow}
5-OH-tiabendazol		C ₁₀ H ₇ N ₃ OS	217,2	99,5	Metabólito principal do Tiabendazol	-	-

Fonte: DrugBank; PubChem.

ANEXOS

ANEXO A – ESTRUTURAS DOS SORVENTES STRATA™-X E OASIS® HLB

a) Estrutura do sorvente Strata™-X



b) Estrutura do sorvente Oasis® HLB

