



FURG

Tese de Doutorado

**Estudo de métodos empregando VA-MSPD e LC-MS/MS
para avaliar a presença de PPCPs em lodo de Estação
de Tratamento de Esgoto (ETE)**

Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2017

**Estudo de métodos empregando VA-MSPD e LC-MS/MS para
avaliar a presença de PPCPs em lodo de Estação de
Tratamento de Esgoto (ETE)**

por

Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal
do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção
do título de DOUTOR EM QUÍMICA.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2017

Universidade Federal do Rio Grande - FURG

Escola de Química e Alimentos

Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a Tese de Doutorado

**Estudo de métodos empregando VA-MSPD e LC-MS/MS para
avaliar a presença de PPCPs em lodo de Estação de
Tratamento de Esgoto (ETE)**

elaborada por

Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

Como requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Química

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel (Universidade Federal do Rio Grande - RS)

Dra. Sergiane Caldas Barbosa (Universidade Federal do Rio Grande – RS)

Profa. Dra. Mary Rosa Rodrigues de Marchi (Universidade Estadual Paulista - SP)

Profa. Dra. Andreia Neves Fernandes (Universidade Federal do Rio Grande do Sul - RS)

Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong (Universidade Federal do Rio Grande – RS)

Prof. Dr. Bruno Meira Soares (Universidade Federal do Rio Grande - RS)

Rio Grande, 28 de julho de 2017

Dedico:

Aos amores da minha vida Helena, Flávio,

Samuel e Alexandre

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador **Prof. Ednei Gilberto Primel**, pela orientação durante os nove anos de LACOM. Agradeço por todas as oportunidades, ensinamentos, conselhos e pela confiança em meu trabalho, sempre me motivando e acreditando que eu era capaz. Muito obrigada professor!

À minha co-orientadora e amiga **Dra. Sergiane Caldas Barbosa**, agradeço pela amizade, ensinamentos, paciência e por estar sempre disposta a me ajudar. Sergi, não existem palavras pra dizer o quanto sou grata a você. Que nossa parceria siga por muitos anos. Obrigada por tudo!!!

À **Prof. Eliana Badiale Furlong**, agradeço pelas contribuições no exame de qualificação e na defesa. Profe muito obrigada por me acolher no seu laboratório, por toda a torcida e carinho.

Ao **Prof. Bruno Meira** agradeço pelas contribuições durante os seminários de grupo, no exame de qualificação e defesa. Muito obrigada pela parceria durante esse período em que estive no LACOM.

À **Prof. Mary Rosa de Marchi** agradeço pelas valiosas contribuições dada no exame de qualificação e defesa. Muito obrigada professora!

À **Prof. Andreia Fernandes** muito obrigada pelas sugestões dadas na defesa da tese.

Aos meus pais **Helena e Flávio**, não existem palavras que expressem todo amor e gratidão que tenho por vocês. Sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas e não pouparam esforços em relação a minha formação. Fico triste por não ter vocês do meu lado para comemorar essa conquista, mas acredito que devem estar orgulhosos e tenho certeza que um dia iremos nos reencontrar. Amo vocês o infinito.

Ao meu amado filho **Samuel** agradeço por todo amor, ajuda e apoio para que eu pudesse concluir essa etapa da nossas vidas. Essa conquista é pra você. Te amo muito meu pequeno!!!

Ao meu marido **Alexandre**, muito obrigada pelo amor, incentivo e apoio durante todos esses anos, desenvolvendo o papel de pai, mãe e filho. Sem teu apoio eu não teria chegado tão longe. Te amo muito Alê!!!

Ao **pessoal do LACOM**, agradeço a todos os amigos e colegas com os quais convivi durante esses nove anos. Guardo um pouco de cada um, pois como diz Antonie de Saint-Exupéry: “aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”

Agradeço à **Larine** pela ajuda dada durante o desenvolvimento do método do AAS e AS. Obrigada pelo incentivo e pela parceria.

Ao time MSPD (**Álisson, Ana Victória, Elisane, Gabi, Jahir, Júlia, Karina, Laísa, Larine, Larissa, Lizi, Sergi e Sônia**) agradeço por sempre terem atendido ao meu pedido de ajuda e por fazerem com que os cinco minutos de maceração fossem muito divertido. Obrigada time!!!

À minha amiga **Liziane** agradeço pela amizade, conselhos, pelos momentos de estudo e de descontração. Obrigada por ter sempre uma palavra amiga pra me consolar e por todo apoio que me deu! Obrigada Lizi!!!

À minha amiga **Elisane**, amiga desde os tempos de ETFPEL e nos encontramos novamente no doutorado. Obrigada pela amizade, por todos os momentos compartilhados. Obrigada xuxu!!!

Às minhas amigas **Gabi e Karina**, obrigada pela amizade, por todos os momentos vividos, por toda a ajuda que vocês me deram durante o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada por vocês terem sempre uma palavra amiga e me mostrarem que tudo tem um lado bom. Obrigada gurias!!!

À minha amiga **Tamara**, minha afilhada, madrinha e comadre... Nossa amizade surgiu no primeiro ano de graduação e desde então só fortaleceu. Obrigada por dividir comigo todas as alegrias e aflições durante estes dez anos de Química. Obrigada pela amizade e por todo apoio que você me deu.

À minha amiga **Renata**, obrigada pela amizade e pela parceria durante o mestrado e o doutorado. Obrigada Rê!!!

Às minhas chefas **professoras Eliana, Jaqueline e Leonor**, muito obrigada por me receberem de braços abertos no LAMCA. Agradeço pela oportunidade, pelo carinho, apoio e torcida. Contem comigo sempre!!!

À minha nova **família do LAMCA**, agradeço a todos vocês que também me receberam de braços abertos. Agradeço pela ajuda nos momentos em que tive que me ausentar.

Valeu pessoal!!!

Agradeço às minhas parceiras de estágio docência **Naralice e amiga Kelly**. Obrigada meninas!!!

À **Rosane**, secretária do PPGQTA, agradeço por todos os esclarecimentos e atenção dispensada quando necessário.

À **FURG** pela oportunidade, por proporcionar um ensino gratuito e de qualidade.

Aos **professores do Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental**, os quais contribuíram para a minha formação acadêmica.

À **Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN)**, por disponibilizar as amostras de lodo e em especial ao **Daniel Tavares** pela a atenção.

Agradeço a **Deus** por ter alcançado mais essa conquista e por ter me amparado nos momentos em que eu fraquejei.

E por fim, agradeço a todos que torceram por mim. Obrigada!!!

*Foi o tempo que dedicaste à tua rosa
que a fez tão importante.*

(Antoine de Saint-Exupéry)

RESUMO

Título: Estudo de métodos empregando VA-MSPD e LC-MS/MS para avaliar a presença de PPCPs em lodo de Estação de Tratamento de Esgoto (ETE)

Autor: Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

Orientador: Prof.Dr. Ednei Gilberto Primel

Co-orientadora: Dra. Sergiane Caldas Barbosa

A presença de fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs) em matrizes ambientais tem despertado interesse na comunidade científica nas últimas décadas, uma vez que estes compostos vem sendo classificados como pseudo-persistentes devido sua entrada contínua no meio ambiente. Dependendo das propriedades físico-químicas dos PPCPs, estes podem ficar aderidos ao lodo resultante do tratamento de esgoto, o que pode acarretar danos ao meio ambiente se este resíduo for utilizado como aditivo de solo na agricultura e remediação de solos degradados. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de métodos analíticos verdes para a determinação de PPCPs em lodo de ETE, empregando a dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex (VA-MSPD) e determinação por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS). Neste trabalho foram desenvolvidos dois métodos. Um dos métodos foi estudado para a determinação de 27 PPCPs. Nas condições selecionadas para a VA-MSPD (2 g de amostra; 5 mL de metanol) os valores de recuperação ficaram entre 45 e 120%, com desvio padrão relativo inferiores a 20%. Os limites de quantificação (LOQ) do método variaram entre 1,25 e 1250 $\mu\text{g kg}^{-1}$. O método apresentou efeito matriz (-32 a 100%). Dos 27 compostos determinados, amitriptilina, carbamazepina, diclofenaco, haloperidol, propranolol, cetoconazol, miconazol, albendazol, mebendazol, tiabendazol, triclosan e triclocarban foram detectados em concentrações entre 2,5 e 5400 $\mu\text{g kg}^{-1}$. O outro método estudado foi para a determinação de ácido salicílico (AS) e ácido acetilsalicílico (AAS). Nas condições selecionadas (0,5 g de amostra; 0,5 g de concha de mexilhão; 10 mL de água) os valores de recuperação ficaram entre 70 e 120%, com desvio padrão relativo inferiores a 20%. O LOQ_m foi de 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para os dois analitos. Os valores de efeito matriz foram de 44 e -55% para AS e AAS, respectivamente. Durante a aplicabilidade do método, foi detectado AS em uma das amostras em uma concentração inferior a 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Quando comparado com os métodos de referência e com outros trabalhos publicados na literatura, os métodos propostos apresentaram as vantagens de serem rápidos, de baixo custo e menos impactante ao meio ambiente. Com a otimização, os métodos permitiram a utilização de uma pequena massa de amostra e materiais obtidos a partir de fontes renováveis, além do emprego de água como solvente de extração.

Palavras-chaves: fármacos; suportes sólidos alternativos; água; métodos verdes; VA-MSPD e LC-MS/MS

ABSTRACT

Title: Study of methods using VA-MSPD and LC-MS / MS to evaluate the presence of PPCPs in sludge from a Wastewater Treatment Plant (WWTP)

Author: Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira, M.Sc

Advisor: Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel, Ph.D.

Co-advisor: Dr. Sergiane Caldas Barbosa, Ph.D.

The presence of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in environmental matrices has attracted attention in the scientific community over the last decades, since these compounds have been classified as pseudo-persistent due to their continuous entry into the environment. Depending on the physicochemical properties of PPCPs, they may be adhered to the sludge resulting from sewage treatment, which can lead to damage to the environment if this residue is used as soil additive in agriculture and remediation of degraded soils. The objective of this work was the development of green analytical methods for the determination of PPCPs in sewage sludge using vortex-assisted matrix solid-phase dispersion (VA-MSPD) and determination by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry LC-MS/MS). Two methods were developed in this work. One of the methods was studied for the determination of 27 PPCPs. Under the conditions selected for the method for the determination of 27 PPCPs (2 g sample, 5 mL of methanol), the recovery values were between 45 and 120%, with a relative standard deviation of less than 20%. The limits of quantification of the method (LQM) varied between 1.25 and 1,250 $\mu\text{g kg}^{-1}$. The method presented a matrix effect (-32 to 100%). Of the 27 compounds analyzed, amitriptyline, carbamazepine, diclofenac, haloperidol, propranolol, ketoconazol, miconazole, albendazole, mebendazole, thiabendazole, triclosan e triclocarban were detected in the sludge samples analyzed in concentrations between 2.5 and 5,400 $\mu\text{g kg}^{-1}$. The other method studied was for the determination of salicylic acid (SA) and acetylsalicylic acid (ASA). Under the conditions selected for the method for the determination of SA and ASA (0.5 g sample, 0.5 g mussel shell, 10 mL water), the recovery values were between 68 and 120%, with relative standard deviation being less than 20%. The LQM was 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for the two analytes. The matrix effect values were 44 and -55% for SA and ASA, respectively. During the applicability of the method, SA was detected in one of the analyzed samples at a concentration of less than 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$. When compared to the reference methods and other published studies, the proposed methods showed the advantages of being fast, inexpensive and environmentally friendly. With the optimization, the methods allow the use of a small mass of the sample and the use of materials derived from renewable sources, as well as use of water as solvent extraction.

Keywords: pharmaceuticals; alternative solid supports; water; green methods; VA-MSPD and LC-MS/MS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de trabalhos que investigaram a presença de PPCPs em águas .	22
Tabela 2. Exemplos de valores de concentrações de PPCPs encontradas em lodo de ETE	24
Tabela 3. Exemplos de métodos para a determinação de PPCPs em lodo de ETE	25
Tabela 4. Revisão na literatura de trabalhos empregando MSPD para extração de PPCPs em lodo de ETE	29
Tabela 5. Estruturas, número CAS, valores de coeficiente de partição octanol-água (Kow), coeficiente de partição de carbono orgânico (Koc), solubilidade em água, pka, e uso dos PPCPs em estudo	38
Tabela 6. Parâmetros otimizados para os compostos estudados por LC-MS/MS.....	54
Tabela 7. Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS	55
Tabela 8. Condições de eluição empregadas no modo gradiente.....	55
Tabela 9. Avaliação dos suportes sólidos	61
Tabela 10. Valores de LOD e LOQ instrumental e do método	68
Tabela 11. Resultados obtidos para as curvas analíticas e faixa linear	70
Tabela 12. Recuperação (R%) e precisão em termos de repetibilidade e precisão intermediária (RSD) para os compostos em estudo (n=9)	72
Tabela 13. Resultados da aplicabilidade do método	76
Tabela 14. Parâmetros otimizados para os compostos estudados por LC-MS/MS.....	80
Tabela 15. Avaliação dos suportes sólidos	82
Tabela 16. Avaliação da proporção massa de amostra:suporte sólido	83
Tabela 17. Resultados obtidos para as curvas analíticas e faixa linear	84
Tabela 18. Recuperação (R%) e precisão em termos de repetibilidade (RSD) e precisão intermediária.....	85
Tabela 19. Comparação dos métodos propostos com outros métodos	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas da VA-MSPD.....	31
Figura 2. Relação entre HILIC e as demais modalidades principais de cromatografia .	32
Figura 3. Vista superior da ETE – CORSAN Parque Marinha, Rio Grande/RS.....	45
Figura 4. Leito de secagem do lodo	45
Figura 5. Cromatogramas das transições de quantificação dos analitos no modo SRM empregando acetonitrila: formiato de amônio 100 mM conforme condições descritas na Tabela 8. Concentração da mistura de 1000 µg L ⁻¹	56
Figura 6. Espectro de energia dispersiva da amostra de lodo de ETE.....	57
Figura 7. Avaliação do solvente extrator	59
Figura 8. Avaliação do efeito matriz empregando diferentes suportes sólidos.....	62
Figura 9. Avaliação da etapa de maceração	64
Figura 10. Imagens de MEV para a amostra: (a) sem etapa de maceração e (b) com etapa de maceração.....	65
Figura 11. Avaliação da massa de amostra	66
Figura 12. VA-MSPD otimizada para a determinação de 27 PPCPs	67
Figura 13. Exemplo do gráfico de linearidade para o fármaco flurazepam	69
Figura 14. Efeito matriz	74
Figura 15. Cromatogramas do fármaco propranolol: (a) padrão no extrato concentração 2,5 µg kg ⁻¹ ; (b) amostra 1; (c) amostra 2 e (d) amostra 3.....	77
Figura 16. Cromatogramas do fármaco haloperidol: (a) padrão no extrato concentração 1,25 µg kg ⁻¹ ; (b) amostra 1; (c) amostra 2 e (d) amostra 3.....	78
Figura 17 . Cromatograma de íons total dos compostos em uma concentração de 0,1 mg L ⁻¹	80
Figura 18. VA-MSPD otimizada para determinação de AS e AAS.....	83
Figura 19. Fluxograma do método 1694 da US-EPA	89
Figura 20. Comparação das etapas com o método oficial 1694 proposto pela US-EPA	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ACN - Acetonitrila

C₁₈ - Sílica modificada com hidrocarboneto linear C₁₈, octadecilsilano

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CORSAN – Companhia Riograndense de Saneamento

EM – Efeito matriz

ESI - Ionização por Eletrospray, do inglês *Electrospray Ionization*

US-EPA – Agência de Proteção Ambiental, do inglês *United States Environmental Protection Agency*

ETA – Estação de Tratamento de Água

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

EQA – Escola de Química e Alimentos

eV – elétron-Volt

FE - Fase Estacionária

FURG – Universidade Federal do Rio Grande

GC - Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

K_{ow}- Coeficiente de partição octanol-água

K_{oc} – Coeficiente de partição do carbono orgânico

LACOM – Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais

LC – Cromatografia Líquida, do inglês *Liquid Chromatography*

LOD - Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*

LOQ - Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*

MS – Espectrometria de Massas, do inglês *Mass Spectrometry*

MSPD – Dispersão da Matriz em Fase Sólida, do inglês *Matrix Solid-Phase Dispersion*

m/z– razão massa-por-carga

n – número de replicatas

NBR – Norma Brasileira

p.a.- grau pró-análise

PPCP – Produtos de Cuidado Pessoal, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*

pH - Potencial hidrogeniônico

pK_a- Potencial de dissociação ácida

PLE – Extração com Líquido Pressurizado, do inglês *Pressurized Liquid Extraction*

PSA - Amina primária secundária, do inglês *Primary Secondary Amine*

r – Coeficiente de correlação linear

RENAME – Relação Nacional de Medicamentos Essenciais

RS – Rio Grande do Sul

RSD – Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

RSD_{pi} – Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária

RSD_r – Desvio Padrão Relativo para Repetitividade

SPE - Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*

SRM – Monitoramento de Reações Seleccionadas, do inglês *Selected Reaction Monitoring*

s/n– relação sinal-ruído

t_R – tempo de retenção

TIC- Cromatograma de Íon Total, do inglês *Total Ion Chromatogram*

UAE – Extração Assistida por ultrassom, do inglês *Ultrasonic Assisted Extraction*

UHPLC– Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência, do inglês *Ultra High Performance Liquid Chromatography*

VA-MSPD – Dispersão da Matriz em Fase Sólida Assistida por Vórtex, do inglês *Vortex-Assisted Matrix Solid-Phase Dispersion*

v/v - volume por volume

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	13
1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVO.....	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1 FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL (PPCPs) NO AMBIENTE 21	
3.2 LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO (ETE).....	22
3.3 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA	25
3.3.1 Química Analítica Verde.....	26
3.3.2 Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD)	27
3.3.2.1 Suportes sólidos	30
3.3.2.2 Solventes.....	30
3.3.2.3 Modificações na etapa de eluição	31
3.4 LC-MS/MS NA DETERMINAÇÃO DE PPCPs.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1 INSTRUMENTAÇÃO	35
4.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS	36
4.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS.....	37
4.4 SELEÇÃO DOS ANALITOS PARA O ESTUDO	37
4.5 AMOSTRAS DE LODO DE ETE	45
4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	46
4.7 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS	46
4.7.1 Preparo da fase móvel.....	46
4.7.2 Escolha da coluna analítica, composição da fase móvel e modo de eluição 46	

4.7.3 Condições do sistema de detecção	46
4.8 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DA AMOSTRA POR VA-MSPD PARA EXTRAÇÃO DE 27 PPCPS EM LODO DE ETE	47
4.8.1 Avaliação do solvente de extração	47
4.8.2 Avaliação do suporte sólido	47
4.9 AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE VA-MSPD PARA EXTRAÇÃO DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (AAS) E ÁCIDO SALICÍLICO (AS) EM LODO DE ETE.....	48
4.9.1 Avaliação do suporte sólido	48
4.9.2 Avaliação da massa de suporte sólido	48
4.10 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS.....	48
4.10.1 Limites de detecção e de quantificação	49
4.10.2 Curva analítica e faixa de trabalho	49
4.10.3 Exatidão	50
4.10.4 Precisão	50
4.11 EFEITO MATRIZ.....	51
4.11.1 Controle de qualidade nas determinações	52
4.12 APLICABILIDADE.....	52
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	53
5.1 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS PARA OS 27 PPCPS	53
5.1.1 Condições do sistema de detecção	53
5.1.2 Coluna analítica e composição da fase móvel	55
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	57
5.3 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DA AMOSTRA POR MSPD PARA EXTRAÇÃO DE PPCPS EM LODO DE ETE.....	57
5.3.1 Avaliação do solvente extrator	57
5.3.2 Avaliação dos suportes sólidos	60
5.3.3 Avaliação da etapa de maceração	63
5.3.4 Avaliação da massa de amostra	65
5.3.5 VA-MSPD otimizada	67
5.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	67
5.4.1 Limites de detecção e quantificação	67
5.4.2 Curva analítica e faixa de trabalho	68

5.4.3 Exatidão e precisão	71
5.4.4 Efeito matriz	73
5.5 APLICABILIDADE DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE LODO	75
5.6 CONDIÇÕES DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE AAS E AS	79
5.7 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DA AMOSTRA POR MSPD PARA EXTRAÇÃO DE AAS E AS	80
5.7.1 Avaliação do tipo de suporte sólido	81
5.7.2 Avaliação da massa de suporte sólido	82
5.7.3 VA-MSPD otimizada.....	83
5.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	84
5.8.1 Limites de detecção e quantificação.....	84
5.8.2 Curva analítica e linearidade	84
5.8.3 Exatidão e precisão	84
5.8.4 Efeito matriz	85
5.9 APLICABILIDADE.....	85
5.10 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PROPOSTOS COM OUTROS MÉTODOS EMPREGADOS PARA EXTRAÇÃO DE PPCPS EM LODO DE ETE	86
5.11 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PROPOSTOS COM O MÉTODO OFICIAL PARA EXTRAÇÃO DE PPCPS EM LODO DE ETE	88
6. CONCLUSÕES	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92

1. INTRODUÇÃO

A presença de fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs, do inglês *pharmaceuticals and personal care products*) em matrizes ambientais tem despertado interesse na comunidade científica nas últimas décadas, uma vez que são substâncias biologicamente ativas e podem causar impactos adversos para a saúde humana e para os ecossistemas (HALLING-SØRENSEN *et al.*, 1998; FENT *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2016).

Devido a importância desses compostos, eles são muitas vezes indispensáveis e possuem consumo bastante elevado. Embora algumas destas substâncias não sejam persistentes, elas vem sendo classificadas com pseudo-persistentes devido a sua entrada contínua no meio ambiente, principalmente pela excreção humana.

Alguns PPCPs, devido as suas características físico-químicas, possuem maior afinidade pela fase orgânica, existindo uma maior probabilidade deles estarem aderidos ao sedimento ou à partículas presentes na coluna d'água. Além disso, eles podem ficar aderidos aos lodos durante o tratamento de esgoto.

Na literatura são relatados vários trabalhos investigando a ocorrência de compostos orgânicos (agrotóxicos, PPCPs, entre outros) em lodo de ETE, uma vez que esse resíduo pode ser utilizado como aditivo de solo na agricultura.

As técnicas de preparo de amostra utilizadas geralmente empregam equipamentos de alto custo e o uso de energia, tais como a extração assistida por ultrassom (UAE, do inglês *ultrasound-assited extraction*) (YU *et al.*, 2011; ALBERO *et al.*, 2015), extração assistida por micro-ondas (MAE, do inglês *microwave-assisted extraction*) (DORIVAL-GARCÍA *et al.*, 2013; PETRIE *et al.*, 2016) e extração por líquido pressurizado (PLE, do inglês *pressurized liquid extraction*) (PAMREDDY *et al.*, 2013; SALVIA *et al.*, 2015). Técnicas que não necessitam de equipamentos sofisticados e específicos também são relatadas na literatura, dentre elas estão o QuEChERS (PEYSSON e VULLIET, 2013; CERQUEIRA *et al.*, 2014a; CERQUEIRA *et al.*, 2014b; ROSSINI *et al.*, 2016) e a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD, do inglês *matrix solid phase dispersion*) (ALBERO *et al.*, 2013; CASADO *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2017).

A MSPD foi proposta por Barker em 1989 para a extração de fármacos em tecidos biológicos, e tem sido empregada para a determinação de diversos compostos em diferentes tipos de matrizes, tais como peixes (ESCARRONE *et al.*, 2014; HERTZOG *et al.*, 2015), mexilhão dourado (ROMBALDI *et al.*, 2015), cebola (RODRIGUES *et al.*, 2010). Além disso, a técnica já foi empregada para determinação de espécies de mercúrio em peixes (DUARTE *et al.*, 2013).

Desde a sua proposição, diversas modificações em relação à etapa de eluição vêm sendo realizadas, como por exemplo, a substituição da etapa de empacotamento em cartucho por uma extração assistida por vórtex (VA-MSPD, do inglês *vortex-assisted matrix solid phase dispersion*) (CALDAS *et al.*, 2013a). Além disso, estudos utilizando suportes sólidos alternativos obtidos de fontes renováveis, objetivando a diminuição de custos e a geração de resíduos menos agressivos ao meio ambiente vem sendo realizados. Na literatura é relatado o uso de terra diatomácea durante a extração de filtros solares (CASADO *et al.*, 2013) e triclosan em lodo de ETE (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2010), areia na análise de óleos essenciais em ervas (DAWIDOWICZ *et al.*, 2011), concha de mexilhão dourado para extração de agrotóxicos e PPCPs em tecidos de mexilhão dourado (ROMBALDI *et al.*, 2015), quitina para a extração de agrotóxicos em lodo de ETA (SOARES *et al.*, 2017) e C18 reutilizado para a extração de agrotóxicos em cebola (RODRIGUES *et al.*, 2010).

Com o objetivo de contribuir para o avanço da Química Analítica Verde, a hipótese desta tese é comprovar que a técnica VA-MSPD, considerando os preceitos da Química Analítica Verde, empregando solventes com menor toxicidade, biomateriais e redução do consumo de reagentes, pode ser utilizada para a extração de fármacos, produtos de cuidado pessoal (PPCPs) e produtos de degradação em lodo de esgoto, atingindo valores de exatidão e precisão indicados pelos guias de validação.

2. OBJETIVO

Propor métodos analíticos empregando a VA-MSPD, considerando os preceitos da Química Analítica Verde, utilizando biomateriais e minimizando o uso de reagentes, priorizando a eficiência do método e a segurança do analista.

Para desenvolver e validar os métodos foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Selecionar os analitos para estudo, considerando a diversidade de propriedades físico-químicas, as diferentes aplicações e a ocorrência em amostras ambientais;
- Estudar os principais parâmetros da extração por VA-MSPD e as condições de análise por LC-MS/MS;
- Validar o método empregando VA-MSPD e LC-MS/MS para determinação dos PPCPs em lodo de ETE, avaliando as principais figuras de mérito e estudando a influência do efeito matriz na exatidão dos métodos;
- Traçar um comparativo dos métodos propostos com os disponíveis para extração de PPCPs em amostras de lodo de ETE, assim como comparar com os métodos oficiais;
- Verificar a ocorrência dos PPCPs selecionados no lodo de ETE;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL (PPCPs) NO AMBIENTE

PPCPs compreendem milhares de substâncias químicas distintas de várias classes terapêuticas e de consumo. Eles geralmente ocorrem como poluentes ambientais como resultado de seu uso generalizado, contínuo e combinado em uma ampla variedade de atividades e práticas terapêuticas humanas e veterinárias (DAUGHTON, 2004; MANDARIC *et al.*, 2017)

Devido a importância destas substâncias, elas acabam sendo indispensáveis e tendo consumo bastante elevado. Após a administração, uma parte significativa dos fármacos é excretada por humanos no esgoto doméstico, e embora alguns destes compostos não sejam persistentes, eles vem sendo classificados com pseudo-persistentes devido a sua entrada contínua no meio ambiente, principalmente pela excreção humana.

A presença destes compostos em matrizes ambientais vem ganhando grande interesse devido ao fato de muitas dessas substâncias serem frequentemente encontradas em efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e águas, em concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} (VAZQUEZ-ROIG *et al.*, 2013).

As propriedades físico-químicas das substâncias e as características do meio (pH e matéria orgânica, por exemplo) afetam o particionamento entre as fases líquida e sólida (lodo) na ETE. Se o lodo for utilizado como aditivo, os PPCPs podem ficar dispersos no solo, uma vez que as suas moléculas, possuem diversos grupos funcionais, dentre eles, carboxilas, carbonilas, hidroxilas e aminos. Dependendo do pH, estes compostos podem ficar aderidos à matéria orgânica, ou formar quelatos com metais presentes no solo. Além disso, podem ser lixiviados e alcançarem as águas subterrâneas e superficiais, podendo causar danos à biota (JØRGENSEN e HALLING-SØRENSEN, 2000; KŘESINOVÁ *et al.*, 2016).

A presença de PPCPs em águas vem sendo relatada na literatura. Na Tabela 1 pode-se observar que a contaminação por PPCPs são da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ em diversos

países e no Brasil, alguns grupos de pesquisa já vem investigando a presença destes compostos.

Tabela 1. Exemplos de trabalhos que investigaram a presença de PPCPs em águas

Analitos	Matriz	Concentração encontrada	País	Referência
13 fármacos	Efluente, água superficial e de abastecimento	< 1,2 µg L ⁻¹	Brasil	(STUMPF <i>et al.</i> , 1999)
11 PPCPs	Água superficial e de abastecimento	< 0,12 µg L ⁻¹	Canadá	(BOYD <i>et al.</i> , 2003)
15 fármacos e disruptores endócrinos	Água superficial	0,005 – 18,3 µg L ⁻¹	Brasil	(SODRÉ <i>et al.</i> , 2007)
26 fármacos	Água superficial	< 2,1 µg L ⁻¹	Polônia e Ucrânia	(KASPRZYK-HORDERN <i>et al.</i> , 2007)
6 PPCPs	Água superficial e de abastecimento	< 134 µg L ⁻¹	Brasil	(SILVEIRA <i>et al.</i> , 2013)
24 PPCPs	Efluente, água superficial e subterrâneas	< 337 µg L ⁻¹	Singapura	(TRAN <i>et al.</i> , 2013a)
51 fármacos e PPCPs	Água superficial e de abastecimento	0,014 – 0,13 µg L ⁻¹	Brasil	(CALDAS <i>et al.</i> , 2013b)
22 PPCPs	Efluente, água superficial, abastecimento e água do mar	< 1,8 µg L ⁻¹	Itália	(CELANO <i>et al.</i> , 2014)
26 PPCPs e agrotóxicos	Água superficial e de abastecimento	< 0,5 µg L ⁻¹	Brasil	(MARUBE <i>et al.</i> , 2015)
58 PPCPs e agrotóxicos	Água superficial e de abastecimento	< 5,9 µg L ⁻¹	Brasil	(CALDAS <i>et al.</i> , 2016)

3.2 LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO (ETE)

O lodo de ETE é um resíduo gerado nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs). Este lodo é rico em matéria orgânica e nutrientes, e também pode conter metais pesados, compostos orgânicos persistentes e patógenos em concentrações nocivas à saúde e ao meio ambiente. Geralmente, o lodo é composto, por aproximadamente, 40% de matéria orgânica, 4% de nitrogênio, 2% de fósforo, os demais macro e micronutrientes, além de elementos potencialmente tóxicos (BETTIOL e CAMARGO, 2006).

Dentre os processos de tratamento de esgoto sanitário mais utilizados no Brasil, as lagoas de estabilização assumem posição de destaque (PNSB, 2008). Em relação à

quantidade de lodo gerado nas ETEs, o processo empregando lodo ativado é o que possui uma maior taxa quando comparado com os demais processos (PERS-RS, 2015). Segundo dados do Plano Estadual de Resíduos Sólidos do Rio Grande do Sul (PERS-RS), o município de Rio Grande é o terceiro maior gerador de lodo de ETE no estado.

As alternativas mais usuais para o aproveitamento ou disposição final do lodo de ETE são: disposição em aterros sanitários (aterro exclusivo ou co-disposição com resíduos sólidos urbanos), reuso industrial (produção de agregado leve, fabricação de tijolos e cerâmica e produção de cimento); incineração (incineração ou co-incineração com resíduos sólidos urbanos); conversão em óleo combustível; recuperação de solos (recuperação de áreas degradadas e de mineração); “*landfarming*” e uso agrícola e florestal (aplicação direta no solo, compostagem, fertilizante e solo sintético) (BETTIOL e CAMARGO, 2006; FYTILI e ZABANIOTOU, 2008; VOSOUGH *et al.*, 2016).

Dentre as alternativas citadas, para a disposição final do lodo, aquela para fins agrícola e florestal apresenta-se como uma das mais convenientes, pois como o lodo é rico em matéria orgânica, em macro e micronutrientes para as plantas, sua aplicação como condicionador de solo é recomendada. Porém, por apresentar em sua composição diversos poluentes, tais como: metais tóxicos, compostos orgânicos persistentes e organismos patogênicos ao homem, essa utilização deve ser feita com cuidado (BETTIOL e CAMARGO, 2006).

A Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), estabelece critérios e procedimentos para o uso, em áreas agrícolas, de lodo de esgoto gerado em estação de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, visando benefícios à agricultura e evitando riscos à saúde pública e ao ambiente. Nesta resolução, é regulamentada a presença de metais tóxicos, compostos orgânicos persistentes e patógenos, no entanto a presença de PPCPs não é contemplada.

Na literatura são relatados a presença de PPCPs em amostras de lodos de ETE. Na Tabela 2, pode-se observar exemplos dos compostos encontrados com maior frequência em diversos países. Os antissépticos triclosan e triclocarban são compostos que são detectados em maiores concentrações quando comparados com os demais

compostos. Isto pode ser devido ao fato destas substâncias estarem presentes em diversos produtos de cuidado pessoal.

Tabela 2. Exemplos de valores de concentrações de PPCPs encontradas em lodo de ETE

Analito	Concentração encontrada ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	País	Referência
Ácido salicílico	436	Espanha	(ALBERO <i>et al.</i> , 2014)
	32	Itália	(ROSSINI <i>et al.</i> , 2016)
Amitriptilina	93	França	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
	72	Espanha	(ALBERO <i>et al.</i> , 2014)
Carbamazepina	79	Espanha	(RADJENOVIĆ <i>et al.</i> , 2009)
	2,4	China	(YU <i>et al.</i> , 2011)
	211	Estados Unidos	(YU e WU, 2012)
	18	França	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
	0,1	China	(SUN <i>et al.</i> , 2016)
	38	França	(FERHI <i>et al.</i> , 2016)
Cetoconazol	22	Índia	(SUBEDI <i>et al.</i> , 2017)
	916	Espanha	(GARCÍA-VALCÁRCEL e TADEO, 2011)
Miconazol	2,6	Itália	(ROSSINI <i>et al.</i> , 2016)
	126	França	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
Diclofenaco	120	China	(SUN <i>et al.</i> , 2016)
	192	Espanha	(RADJENOVIĆ <i>et al.</i> , 2009)
	205	Estados Unidos	(YU e WU, 2012)
	24	França	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
	475	Espanha	(ALBERO <i>et al.</i> , 2014)
	7	China	(SUN <i>et al.</i> , 2016)
Ibuprofeno	140	França	(FERHI <i>et al.</i> , 2016)
	299	Espanha	(RADJENOVIĆ <i>et al.</i> , 2009)
	106	Estados Unidos	(YU e WU, 2012)
	237	Espanha	(ALBERO <i>et al.</i> , 2014)
	6,2	China	(SUN <i>et al.</i> , 2016)
Propranolol	65	França	(FERHI <i>et al.</i> , 2016)
	26	Espanha	(RADJENOVIĆ <i>et al.</i> , 2009)
	251	França	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
	3,1	China	(SUN <i>et al.</i> , 2016)
Tiabendazol	50	Índia	(SUBEDI <i>et al.</i> , 2017)
	6,8	Espanha	(GARCÍA-VALCÁRCEL e TADEO, 2011)
Triclocarban	3,5	Índia	(SUBEDI <i>et al.</i> , 2017)
	3467	China	(YU <i>et al.</i> , 2011)
	170	França	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
	1700	China	(SUN <i>et al.</i> , 2016)
	17000	Índia	(SUBEDI <i>et al.</i> , 2017)

Analito	Concentração encontrada ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	País	Referência
Triclosan	1526	Espanha	(GONZÁLEZ-MARIÑO <i>et al.</i> , 2010)
	883	China	(YU <i>et al.</i> , 2011)
	1416	Estados Unidos	(YU e WU, 2012)
	1317	França	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
	470	China	(SUN <i>et al.</i> , 2016)
	861	França	(FERHI <i>et al.</i> , 2016)

3.3 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA

Para a determinação de PPCPs, se faz necessário o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis, rápidos e sensíveis que permitam a sua determinação em diferentes matrizes ambientais, em concentrações de ng kg^{-1} e $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Por estes analitos estarem, geralmente, em concentrações muito baixas, apresentarem propriedades físico-químicas distintas, considerando também a complexidade das matrizes, uma etapa prévia de preparo da amostra é necessária. Os principais objetivos do preparo da amostra são promover a extração e a concentração dos analitos, e a remoção, tanto quanto possível, dos interferentes. No entanto, perdas de analito nesta etapa podem comprometer o resultado das análises. Neste sentido, o preparo da amostra é uma etapa crucial dentro de todo o processo analítico (PRESTES *et al.*, 2009).

Para a determinação de PPCPs em lodo de ETE diversas técnicas têm sido utilizadas, conforme observado na Tabela 3.

Tabela 3. Exemplos de métodos para a determinação de PPCPs em lodo de ETE

Analitos	Preparo de amostra	Determinação	Referência
Triclosan	Soxhlet	GC-MS	(BESTER, 2003)
27 PPCPs	PLE e SPE	LC-MS/MS	(BARRON <i>et al.</i> , 2008)
8 PPCPs	UAE e SPE	LC-MS/MS	(CHENXI <i>et al.</i> , 2008)
31 fármacos	PLE e SPE	LC-MS/MS	(RADJENOVIĆ <i>et al.</i> , 2009)
6 fragrâncias musk	MA-HS-SPME	GC-MS	(WU e DING, 2010)
20 PPCPs	UAE e SPE	UHPLC-MS/MS	(YU <i>et al.</i> , 2011)
136 PPCPs	QuEChERS	LC-MS/MS	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
13 fármacos e metabólitos	QuEChERS e SPE	LC-MS	(ROSSINI <i>et al.</i> , 2016)

PLE: extração com líquido pressurizado; SPE: extração em fase sólida; UAE: extração assistida por ultrassom; MA-HS-SPME: microextração em fase sólida por headspace assistida por micro-ondas

Dorival-García e colaboradores compararam três técnicas de extração para determinação de antibióticos em lodo de ETE, a extração assistida por ultrassom (UAE), extração assistida por micro-ondas (MAE) e extração com líquido pressurizado (PLE). Os autores consideraram a MAE e PLE como melhores opções de extração, pois apresentaram maiores valores de recuperação, fácil operação, tempos de análise mais curtos e elevado grau de automação. UAE ofereceu um procedimento de extração mais simples, exigindo volumes de solventes similares aos empregados na MAE e PLE, mas a técnica exige mais tempo de análise (DORIVAL-GARCÍA *et al.*, 2013).

Cada técnica de preparo de amostra tem seus próprios méritos e a escolha do procedimento de extração depende de vários fatores, incluindo custo de capital, custo operacional, simplicidade de operação, tipo e quantidade de amostra, praticidade e disponibilidade de técnicas baseadas na Química Analítica Verde. Neste trabalho foram propostas técnicas rápidas, de baixo custo e utilizando materiais menos impactantes ao meio ambiente.

3.3.1 Química Analítica Verde

Os princípios de química verde tem suas raízes no desenvolvimento sustentável. As primeiras atividades realizadas pelos químicos para a sustentabilidade foram focadas, principalmente em processos em escala industrial e produtos, conforme claramente postulado na definição mais conhecida da química verde proposta por Anastas (TOBISZEWSKI *et al.*, 2009; GAŁUSZKA *et al.*, 2013).

Em 2000, surge a química analítica verde com o objetivo de tornar as práticas de laboratórios menos impactantes ao meio ambiente. Neste sentido, esforços estão sendo realizados a fim de reduzir os impactos negativos das análises químicas sobre o meio ambiente e permitir a implementação de princípios de desenvolvimento sustentável para laboratórios analíticos (GAŁUSZKA *et al.*, 2013; MOHAMED, 2015).

Os 12 princípios da química analítica verde são:

1. Técnicas de análise direta devem ser aplicadas para evitar o preparo de amostras;
2. Diminuição da massa ou volume e número de amostras;
3. Medidas *in situ* devem ser realizadas;
4. Integração dos processos analíticos para economizar energia e reduzir o consumo de reagentes;

5. Métodos automatizados e miniaturizados devem ser selecionados;
6. Evitar a derivatização;
7. Evitar a geração de resíduos e providenciar ferramentas de manejo dos resíduos;
8. Métodos multi-analitos e multi-parâmetros são desejáveis;
9. O uso de energia deve ser minimizado;
10. Reagentes obtidos a partir de fontes renováveis são preferidos;
11. Os reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos;
12. Diminuição da exposição do analista (GAŁUSZKA *et al.*, 2013; MOHAMED, 2015).

Com isso, técnicas de preparo de amostras vêm sendo desenvolvidas baseadas nestes princípios.

3.3.2 Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD)

De acordo com os princípios da química analítica verde, surge como alternativa para a extração de PPCPs em lodo, a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD). Esta técnica foi proposta por Barker e colaboradores, em 1989 para extração de fármacos em tecidos biológicos (BARKER *et al.*, 1989). A técnica surgiu como uma alternativa à extração em fase sólida (SPE) para extração de contaminantes de amostras viscosas, sólidas e semissólidas, uma vez que na SPE a amostra necessita ser homogênea e estar em estado líquido antes da eluição pelo cartucho (BARKER, 2000).

A MSPD está baseada na dispersão da matriz com auxílio de um suporte sólido que atua como abrasivo causando a ruptura da estrutura física da amostra, a qual sofre uma dispersão na superfície do material suporte, formando uma nova fase o que proporciona o isolamento dos analitos em diversas matrizes (BARKER *et al.*, 1989; BARKER, 2000).

O princípio básico da MSPD está baseado na pesagem da amostra em um gral, que pode ser de porcelana, ágata ou vidro, seguido da maceração da mesma com o suporte sólido. A dispersão é realizada por um tempo suficiente para que ocorra a completa homogeneização da amostra no suporte sólido e a ruptura em pequenas partículas. Após a dispersão, a amostra e o suporte sólido formam uma fase única, que é então empacotada em uma coluna vazia, na qual é colocada uma frita (filtro de polietileno) antes e após o empacotamento. As colunas mais empregadas são seringas

vazias ou tubos de SPE. Após esta etapa, é realizada a eluição e o extrato está pronto para análise (BARKER, 2000; CALDAS *et al.*, 2013c).

Como pode-se observar, a instrumentação necessária para o emprego da técnica é bastante simples, necessitando somente de gral, pistilo, tubos para empacotamento da mistura e um sistema de vácuo, o qual é opcional, pois é possível seu emprego apenas com auxílio de uma seringa (CALDAS *et al.*, 2013c).

A Tabela 4 apresenta uma revisão da literatura de trabalhos empregando MSPD para determinação de PPCPs em lodo de ETE.

Tabela 4. Revisão na literatura de trabalhos empregando MSPD para extração de PPCPs em lodo de ETE

Analitos	Suporte sólido (massa de amostra: massa de suporte sólido)	Limpeza	Solvente	Técnica de determinação	Recuperação (%) (RSD - %)	Ref.
Triclosan e metiltriclosan	terra diatomácea (1:2)	Sílica impregnada com H ₂ SO ₄ 15%	diclorometano	GC-MS	86 – 113 (2 -13)	(González-Mariño <i>et al.</i> , 2010)
Triclosan e metiltriclosan	C18 (1:2)	Florisil	Acetonitrila	GC-MS	95 - 101	(Sánchez-Brunete <i>et al.</i> , 2010)
Parabenos e metabólitos clorados	C18 (1:2)	Florisil	Acetato de etila e metanol (90:10, v,v)	GC-MS/MS	80 – 125 (3 - 12)	(Albero, Pérez <i>et al.</i> , 2012)
Filtros UV (benzotriazóis)	terra diatomácea (1:4)	PSA	Acetato de etila	GC-MS	70 – 111 (1 - 13)	(Casado <i>et al.</i> , 2013)
Hormônios sexuais sintéticos e naturais	C18 (1:2)	-	Acetonitrila e metanol (90:10, v/v)	GC-MS/MS	80 – 110 (5 – 8)	(Albero <i>et al.</i> , 2013)
Antimicóticos	C18 (1:4)	PSA e SPE on-line	Metanol	LC-QTOF-MS	70 – 118 (< 14)	(Casado <i>et al.</i> , 2015)
Amiodarona e metabólito	C18 (1:4)	PSA e Florisil ativada (1:1) SPE on-line	Metanol	LC-ESI-QTOF-MS	95 - 111 (<11)	(Montes <i>et al.</i> , 2015)
45 PPCPs	C18 (1:4)	-	Metanol e Acetonitrila/ac. Oxálico 5% (8/2 v/v)	LC-MS	50 – 107	(Li <i>et al.</i> , 2016)
Anti-inflamatórios	Florisil (1:5)	Sílica	Hexano:Acetona (1:2)	LC-QTOF-MS	86 - 105	(Triñanes <i>et al.</i> , 2016)

3.3.2.1 Suportes sólidos

O suporte sólido empregado possui várias funções e a seletividade da MSPD está diretamente relacionada com a combinação entre o suporte sólido e o solvente empregado (KRISTENSON *et al.*, 2006). O suporte sólido atua primeiramente como um abrasivo, o qual promove, juntamente com a maceração, a ruptura da estrutura geral da amostra. Além disso, quando uma fase lipofílica do tipo C18 é empregada, o suporte sólido age como um solvente (CAPRIOTTI *et al.*, 2013). Além de C18 (SÁNCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2010; ALBERO *et al.*, 2012; ALBERO *et al.*, 2013; CASADO *et al.*, 2015; MONTES *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2016), alumina e Florisil (TRIÑANES *et al.*, 2016) também são utilizados como suportes sólidos, assim como areia (DAWIDOWICZ *et al.*, 2011) e terra diatomácea (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2010; CASADO *et al.*, 2013), suportes que atuam somente como abrasivos.

A substituição do uso de C18 como suporte sólido por materiais obtidos de fontes renováveis é uma grande vantagem na MSPD. A utilização da concha de mexilhão dourado como suporte sólido na extração de contaminantes orgânicos em tecidos de mexilhão é uma abordagem bastante interessante (ROMBALDI *et al.*, 2015), assim como a utilização da quitina, um biopolímero obtido a partir de casca de camarão. Este suporte sólido foi utilizado para extração de agrotóxicos em lodo de ETA (SOARES *et al.*, 2017).

3.3.2.2 Solventes

Diferentes tipos de solventes vem sendo empregados na MSPD para extração de PPCPs em lodo de ETE (Tabela 4). Metanol (CASADO *et al.*, 2015; MONTES *et al.*, 2015), acetonitrila (SÁNCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2010), a mistura destes solventes também foi utilizada com eficiência (ALBERO *et al.*, 2013). Acetato de etila (CASADO *et al.*, 2013) e a mistura de acetato de etila e metanol também foi utilizada (ALBERO *et al.*, 2012). Diclorometano foi utilizado para extração de triclosan e metiltriclosan (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2010).

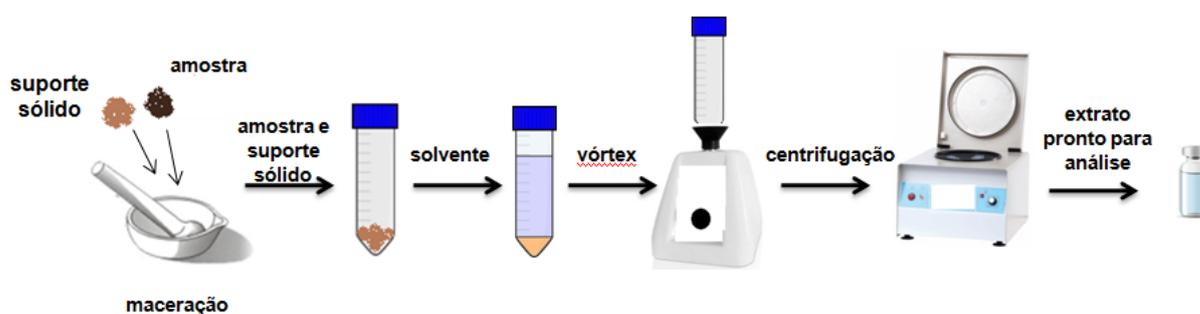
Em relação à utilização de solventes menos tóxicos, foram relatados na literatura técnicas empregando água como solventes extrator na MSPD. Nestes trabalhos, foram

extraídos antibióticos de tecidos biológicos (BOGIALLI *et al.*, 2007; BOGIALLI *et al.*, 2008; BOGIALLI *et al.*, 2009) e corantes sintéticos de pimenta em pó (CHEN *et al.*, 2015).

3.3.2.3 Modificações na etapa de eluição

Buscando diminuir o tempo durante o empacotamento e as variações decorrentes deste processo, modificações têm sido realizadas. Como exemplo, podemos citar a MSPD assistida por vórtex (VA-MSPD) (Figura 1), onde a etapa de empacotamento em cartuchos foi substituída por uma agitação em vórtex (CALDAS *et al.*, 2013a).

Figura 1. Etapas da VA-MSPD



Adaptado de (CALDAS *et al.*, 2013a)

3.4 LC-MS/MS NA DETERMINAÇÃO DE PPCPs

A maioria das técnicas para a separação e detecção de PPCPs e seus produtos de degradação são baseadas no acoplamento da cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*) ou líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) à espectrometria de massas em série (MS/MS). Como a maioria dos PPCPs são compostos polares e não voláteis, a análise por GC exige uma etapa prévia de derivatização, que pode introduzir erros ou ser difícil de implementar em análises mutirresíduos. Deste modo, a LC torna-se mais aplicável para este tipo de análise (PEYSSON e VULLIET, 2013).

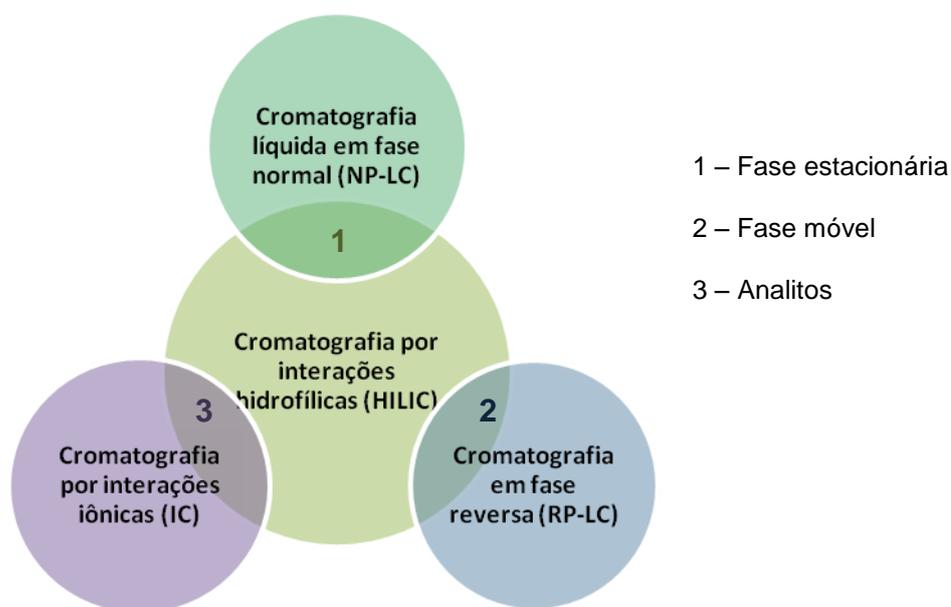
A cromatografia líquida em fase reversa (RP-LC, do inglês *reversed phase liquid chromatography*), onde se emprega uma fase estacionária mais apolar que a fase móvel é a técnica analítica de separação mais utilizada. No entanto, uma das

limitações do uso da fase reversa é a baixa retenção de moléculas polares ou iônicas (DEJAEGER e VANDER HEYDEN, 2010; LANÇAS, 2010; DA SILVA *et al.*, 2016).

O uso da cromatografia líquida no modo de fase normal (NP-LC, do inglês *normal phase liquid chromatography*), na qual se emprega fase estacionárias mais polares que as fases móveis, pode solucionar essa limitação. Porém, a solubilidade de moléculas polares em fase móveis apolares não aquosas é limitada, restringindo a aplicabilidade desta. E em alguns casos, a cromatografia de íons não pode ser aplicada devido a ausência de cargas dos solutos (DEJAEGER e VANDER HEYDEN, 2010; LANÇAS, 2010; DA SILVA *et al.*, 2016).

Para minimizar esses problemas, na década de 90, Alpert introduziu a cromatografia por interações hidrofílicas (HILIC, do inglês *hydrophilic interaction liquid chromatography*). De uma maneira simples, pode-se dizer que HILIC é uma forma de cromatografia líquida que utiliza a separação do tipo fase normal, empregando fase estacionária polar, porém com elementos de fase reversa, em especial a fase móvel. A fase móvel no modo HILIC geralmente contém água, tampão e uma concentração elevada de solvente orgânico miscível com água (Figura 2) (ALPERT, 1990; DEJAEGER e VANDER HEYDEN, 2010; LANÇAS, 2010; DA SILVA *et al.*, 2016).

Figura 2. Relação entre HILIC e as demais modalidades principais de cromatografia



Adaptado de (DA SILVA *et al.*, 2016)

Em HILIC a fase móvel utilizada é similar à utilizada no modo em RP, descrita como uma mistura de água/solvente orgânico, porém, diferentemente da RP, com alta concentração de solvente orgânico e pouca concentração de água (ou tampão aquoso) (entre 5-40%) (LANÇAS, 2010).

A separação em HILIC se dá através de interações hidrofílicas por meio de um equilíbrio de partição entre a camada de água superficialmente imobilizada ou adsorvida sobre a superfície da fase estacionária. Da mesma forma, acredita-se que podem ocorrer também interações do tipo ligação de hidrogênio entre os grupos funcionais polares dos analitos e da fase estacionária e interações eletrostáticas entre a fase estacionária e grupos funcionais ionizados dos analitos (LANÇAS, 2010; DA SILVA *et al.*, 2016)

Acetonitrila é considerada o “solvente clássico” da HILIC, uma vez que, sua estrutura não favorece interações por ligações de hidrogênio e não proporciona competição com a água pelos sítios ativos da fase estacionária, o que diminui a estabilidade da camada de água utilizada para separação dos compostos em HILIC (LANÇAS, 2010; DA SILVA *et al.*, 2016). Aditivos iônicos, tais como formiato e acetato de amônio, são bastante empregados para controlar o pH da fase móvel e a força iônica do meio e resolver o problema da baixa ionização dos ácidos em meio orgânico (LANÇAS, 2010).

Esta técnica vem sendo empregada para separação de fármacos e metabólitos em diferentes tipos de matriz (DEJAEGER e VANDER HEYDEN, 2010; YUAN *et al.*, 2013; KAHSAY *et al.*, 2014).

Apesar de ser uma excelente técnica de separação, a LC necessita de uma técnica confirmatória, e dentre as várias opções existentes a espectrometria de massas é a que melhor fornece informações qualitativas e quantitativas sobre os compostos que são eluídos a partir de uma coluna, podendo também, distinguir compostos diferentes que apresentam o mesmo tempo de retenção (LANÇAS, 2009a).

O espectrômetro de massas é um instrumento sofisticado constituído de três partes: fonte de ionização, analisador de massas e detector de íons, sendo que, após a injeção da amostra no MS, ocorre a produção de íons pela fonte de ionização (COLLINS *et al.*, 2006; LANÇAS, 2009a). Dentre as fontes de ionização desenvolvidas,

a mais empregada é a ionização por eletrospray (ESI) (NGUYEN e SCHUG, 2008; LANÇAS, 2009a; DA SILVA *et al.*, 2016).

Na ESI, o analito dissolvido na fase móvel, passa através de um capilar, à pressão atmosférica, mantido sob alta voltagem. Na saída do capilar são formadas pequenas gotas altamente carregadas (“spray”) que são dessolvatadas ao se deslocarem em sentido contrário ao posicionamento de um eletrodo em uma região de pressão atmosférica. A dessolvatação é assistida por um fluxo contínuo de gás seco (geralmente N₂) na região do “spray”. À medida que ocorre a dessolvatação, o tamanho das gotas é reduzido até o ponto em que a força de repulsão entre as cargas similares fica maior que as forças de coesão da fase líquida (tensão superficial). Neste momento, ocorre a chamada “explosão coulômbica”, que gera gotas com tamanhos equivalentes a 10% do tamanho das gotas a partir das quais se originaram. Uma série de explosões passa então a ocorrer até que são produzidos íons do analito a partir destas gotas, os quais são transferidos para o interior do MS por uma série de dispositivos de focalização (CHIARADIA *et al.*, 2008; LANÇAS, 2009a).

Após a etapa de ionização, os íons passam para os analisadores de massa, para a sua determinação através da razão massa/carga. Os analisadores podem ser do tipo quadrupolo, *íon trap* e tempo de voo (TOF) (CHIARADIA *et al.*, 2008; LANÇAS, 2009a). No espectrômetro de massas sequencial (MS/MS), o analisador do tipo triploquadrupolo (QqQ), como o nome já diz possui três quadrupolos, onde o primeiro quadrupolo age como um filtro de massas, selecionando o composto de interesse, o segundo quadrupolo é considerado a célula de colisão, onde o íon é fragmentado através da colisão com um gás inerte, geralmente argônio, hélio ou nitrogênio, e por fim, no terceiro quadrupolo, o íon formado é enviado ao detector (CHIARADIA *et al.*, 2008).

LC-MS/MS é uma técnica de determinação altamente seletiva, quando selecionado o modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM), no qual apenas o sinal de interesse é registrado, excluindo a informação sobre a ocorrência de outros compostos (VÉKEY, 2001), portanto recomendada para a determinação de compostos presentes em baixas concentrações (ng L⁻¹ e µg L⁻¹) em amostras complexas, dentre elas lodo de ETE. (BARRON *et al.*, 2008; CHENXI *et al.*, 2008; RADJENOVIĆ *et al.*, 2009; YU *et al.*, 2011; PEYSSON e VULLIET, 2013).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento experimental desse trabalho consistiu no desenvolvimento e validação de métodos para determinação de PPCPs em lodo de ETE.

Para o preparo de amostra foi utilizada a técnica de dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex (VA-MSPD) e para a determinação a técnica de LC-MS/MS.

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais (LACOM), da Escola de Química e Alimentos (EQA), na Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

- Balança Analítica modelo FA2104N, Bioprecisa (Curitiba, Brasil);
- Bomba à vácuo Tecnal TE-058 (Piracicaba, Brasil);
- Micropipetas com capacidade variável (100 – 1000 µL) Labmate (Varsóvia, Polônia);
- pHmetro Hanna pH20pH21 – eletrodo de vidro combinado (São Paulo, Brasil);
- Sistema de filtração em membrana Phenomenex (Torrance, USA);
- Sistema de Purificação de água Milli-Q Direct-Q UV3® Millipore (Millipore, Bedford, USA);
- Ultrassom Quimis modelo Q335D (Diadema, Brasil);
- Vórtex modelo Certomat® MV-B. Braun (Bioteck Internacional, Alemmar - Comercial e Industrial S.A.);
- Centrífuga de tubos microprocessada modelo Quimis® Q222T (QUIMIS aparelhos científicos);
- Destilador de Nitrogênio Tecnal modelo TE-036/1 (Brasil);
- Bloco digestor Gerhardt modelo Kjeldatherm (Alemanha);
- Analisador de carbono total (ShimadzuTOC-L, SSM 50000 A) (Japão);
- Liofilizador (Liotop -L101) (Brasil);
- Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), em modo alto e baixo vácuo, Jeol, JSM -6610LV, com microsonda de EDS (USA).
- Cromatógrafo a líquido Alliance Separations Module 2695 (Waters, EUA) equipado com: Amostrador automático, bomba quaternária, forno para coluna e sistema de

desgaseificação. Detector MS, Micromass® Quatro Micro™ API (Waters, Inglaterra) com fonte API, com ionização por Eletrospray; sistema de aquisição de dados através do *software* MassLynx e QuanLynx 4.0 (Waters, Inglaterra).

- Sistema gerador de nitrogênio Peak Scientifics (Instruments Ltda., Escócia);
- Coluna analítica Kinetex C8 (3,0 mm x 50 mm d.i., 2,6 µm) Phenomenex (Torrance, EUA);
- Coluna analítica Atlantis HILIC Sílica (4,6 mm x 50 mm d.i., 3 µm) Waters (Irlanda)

4.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS

- Acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH), grau HPLC (J.T Baker, Mallinckrodt, USA);
- Água destilada;
- Água Ultrapura, purificada em sistema Direct-Q UV3® Millipore (resistividade 18,2 MΩ cm⁻¹);
- Detergente Extran® neutro (Merck, Brasil);
- Frascos de vidro (*vial*), capacidade de 2,0 mL;
- Filtros Chromafil Xtra PVDF-45/25 (0,45 µm, 25 mm) Macherey-Nagel GmbH&CO (Alemanha);
- Padrões analíticos: ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, amitriptilina, cetoconazol, diclofenaco sódico, medendazol e propranolol foram comprados da farmacopéia americana (*United States Pharmacopeia*, EUA). Albendazol, carbamazepina, cloridrato de diltiazem, cloridrato de flurazepam, gemfibrozil, glibenclâmida, haloperidol, lidocaína, metilparabeno, nifedipino, nimesulida, miconazol, propilparabeno e tiabendazol foram adquiridos da Fiocruz (Fundação Oswaldo Cruz, Brasil). Metilcloroparabeno, 2-hidroxi-ibuprofeno, 4-hidroxi-bezofenona e 4-4 dihidroxi-benzofenona foram provenientes da Sigma Aldrich (Brasil). Ácido clofibrico, triclocarban, triclosan e ibuprofeno foram adquiridos da empresa Dr. Ehrenstofer GmbH (Augsbug, Alemanha).
- Sorventes: alumina ≥ 98% (Sigma-Aldrich, EUA), florisil 100 – 200 mesh (Sigma-Aldrich, Alemanha), C18 Bondesil (Varian, USA); quitina (obtida e caracterizada no Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos da FURG, a partir de resíduos de camarão rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis*) com 72 µm de tamanho de partícula e 3,6 m² g⁻¹ área superficial); quitosana de média massa molar (Sigma-Aldrich, EUA); areia da praia do Bojuru caracterizada por Santos (2017) e

concha de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) caracterizada conforme Rombaldi e colaboradores (2015).

- Tubos de polipropileno, com tampas rosqueáveis, capacidade de 15 mL de capacidade (Sarstedt, Alemanha);
- Vidrarias em geral (balões volumétricos, pipetas volumétricas, béquer, etc).

4.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

As soluções analíticas do tipo estoque, contendo 1000 mg L⁻¹ de cada composto foram preparadas pela dissolução dos padrões sólidos em metanol, considerando o grau de pureza. As soluções foram armazenadas em frascos âmbar e estocadas a -18 °C.

A partir das soluções estoques de 1000 mg L⁻¹ foram preparadas soluções trabalho na concentração de 100 mg L⁻¹ de cada substância em metanol.

Uma solução trabalho contendo a mistura dos analitos na concentração de 10 mg L⁻¹ foi preparada e diluições desta solução trabalho foram preparadas para o estudo e validação dos métodos.

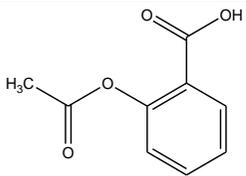
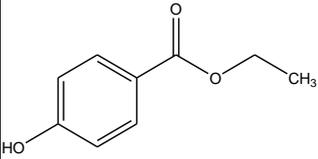
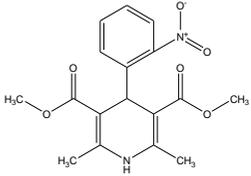
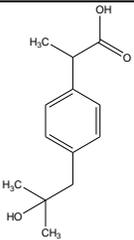
4.4 SELEÇÃO DOS ANALITOS PARA O ESTUDO

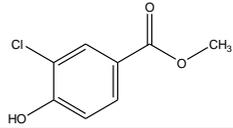
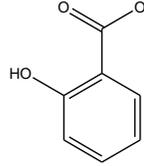
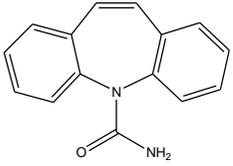
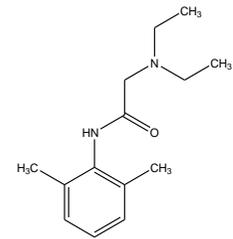
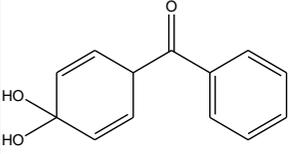
Para a seleção dos analitos foi realizada uma revisão na literatura, onde foi observada a ocorrência dos analitos nas matrizes. Além disso, foram observadas as suas propriedades físico-químicas, como por exemplo, os coeficientes de partição octanol-água (K_{ow}) e de partição de carbono orgânico (K_{oc}).

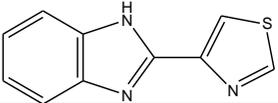
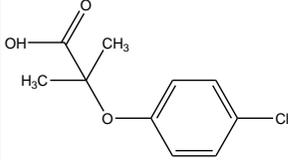
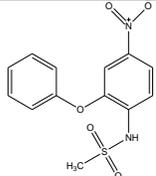
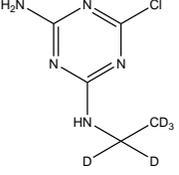
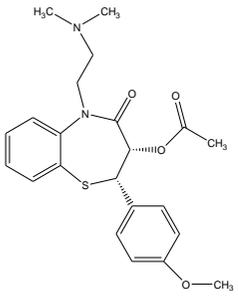
A Tabela 5 apresenta os analitos selecionados para o estudo bem como suas propriedades físico-químicas. Como podemos observar, a maioria dos analitos selecionados são hidrofóbicos ou moderadamente hidrofóbicos (log K_{ow} 2 – 5) (EPA, 2013). Também podemos observar que a maioria dos compostos podem estar fortemente adsorvidos à matéria orgânica (log K_{oc} 3,5 - 4,5) (EPA, 2013).

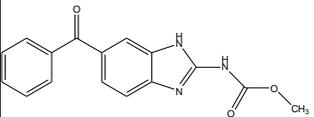
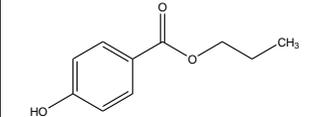
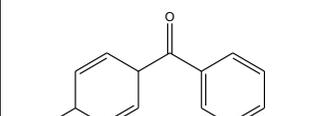
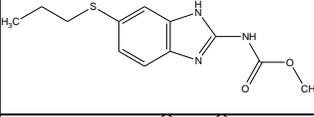
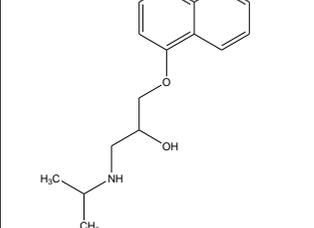
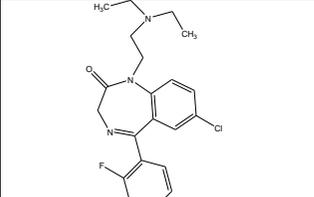
Cabe ressaltar que as tabelas e figuras que serão apresentados na tese foram formatadas de maneira com que os compostos fossem apresentados na ordem crescente de log K_{ow}.

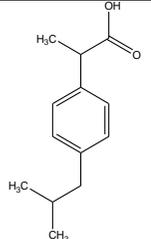
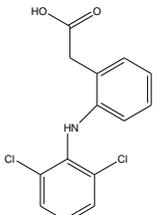
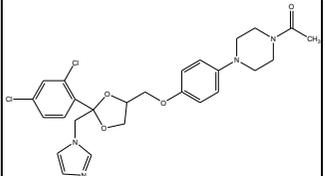
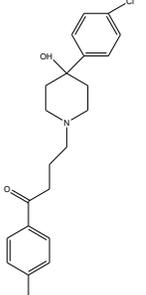
Tabela 5. Estruturas, número CAS, valores de coeficiente de partição octanol-água (Kow), coeficiente de partição de carbono orgânico (Koc), solubilidade em água, pKa, e uso dos PPCPs em estudo

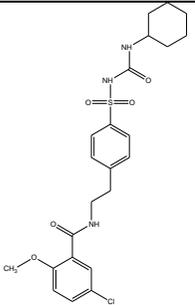
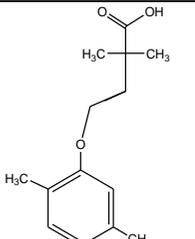
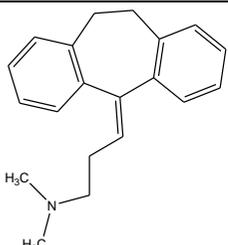
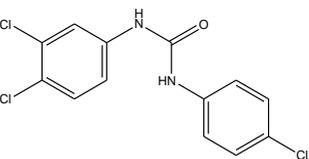
Analito	Estrutura	CAS	Uso	pKa	Log Kow	Log Koc	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) 25°C
ácido acetilsalicílico		50-78-2	anti-inflamatório e atua na prevenção de trombose	3,4	1,2	1,0	5295
metilparabeno		99-76-3	conservante	8,5	1,9	2,1	2500
nifedipino		21829-25-4	vasodilatador	5,3	2,2	3,1	17,7
2-hidróxi-ibuprofeno		51146-55-5	produto de degradação do ibuprofeno	4,6	2,3	1,2	2974

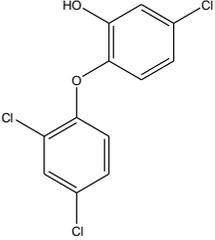
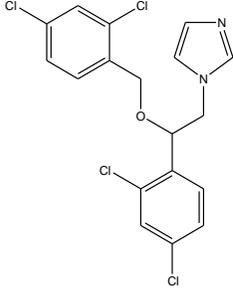
Analito	Estrutura	CAS	Uso	pKa	Log Kow	Log Koc	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) 25°C
metilcloroparabeno		3964-57-6	produto de degradação do metilparabeno	7,0	2,3	2,6	1079
ácido salicílico		69-72-7	analgésico e antifúngico	2,8	2,3	1,4	3808
carbamazepina		298-46-4	anticonvulsivo	7,0	2,4	3,6	17,7
lidocaína		137-58-6	anestésico	8,0	2,4	2,9	4100
4,4-di-hidroxibenzofenona		611-99-4	produto de degradação da benzofenona	11,6	2,5	1,0	272,7

Analito	Estrutura	CAS	Uso	pKa	Log Kow	Log Koc	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) 25°C
tiabendazol		148-78-9	anti-helmíntico	4,6	2,5	3,3	50
ácido clofíbrico		882-09-7	antilipêmico	3,0	2,6	1,6	582,5
nimesulida		51803-78-2	anti-inflamatório	6,9	2,6	2,9	18,2
atrazina d5		163165-75-1	surrogate	-	2,6	2,4	214,1
diltiazem		42399-41-7	anti-hipertensivo	12,9	2,7	4,0	465

Analito	Estrutura	CAS	Uso	pKa	Log Kow	Log Koc	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) 25°C
mebendazol		31431-39-7	antiparasitário	8,4	2,8	3,1	71,3
propilparabeno		94-13-3	conservante	8,5	2,9	2,6	500
4-hidroxibenzofenona		1137-42-4	produto de degradação da benzofenona	7,9	3,1	3,2	405,8
albendazol		54965-21-8	anti-helmíntico	4,3	3,1	3,3	22,8
propranolol		525-66-6	anti-hipertensivo	9,2	3,5	3,1	61,7
flurazepam		17617-23-1	anti-ansiedade	8,7	3,8	5,5	10

Analito	Estrutura	CAS	Uso	pKa	Log Kow	Log Koc	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) 25°C
Ibuprofeno		15687-27-1	anti-inflamatório	4,85	3,9	2,6	57,97
diclofenaco		15307-86-5	anti-inflamatório	4,2	4,0	2,9	2,37
cetoconazol		65277-42-1	antifúngico	6,7	4,3	-	0,086
haloperidol		52-86-8	antipsicótico	8,7	4,3	4,1	17

Analito	Estrutura	CAS	Uso	pKa	Log Kow	Log Koc	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) 25°C
glibenclamida		10238-21-8	antiglicêmico	4,3	4,7	4,4	4
genfibrozila		25812-30-0	hipolipêmico	4,4	4,8	2,7	27,2
amitriptilina		50-48-6	antidepressivo	9,4	4,9	5,7	9,7
triclocarban		101-20-2	antimicrobiano	11,4	4,9	3,7	0,65

Analito	Estrutura	CAS	Uso	pKa	Log Kow	Log Koc	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) 25°C
triclosan		3380-34-5	antimicrobiano	7,9	5,5	4,3	4,6
miconazol		22916-47-8	antifúngico	6,8	6,1	4,8	0,76

Fonte: (CHEMSPIDER; DRUGBANK; PUBCHEM)

4.5 AMOSTRAS DE LODO DE ETE

Para a otimização e validação do método, amostras de lodo de ETE foram coletadas nos leitos de secagem da Estação de Tratamento de Esgoto da CORSAN, localizada no bairro Parque Marinha, no município de Rio Grande, RS (Figuras 3 e 4). Esta ETE trata em média 400 000 m³ de esgoto/mês através do processo empregando lodo ativado e atende cerca de 3500 residências.

A amostragem foi realizada conforme as recomendações da ABNT NBR 10007/2004 empregando uma pá. As amostras foram armazenadas em bandejas de alumínio, acondicionado em caixa de isopor e transportada para o laboratório, em seguida congeladas em ultrafreezer e liofilizadas. Após a liofilização, foram maceradas e peneiradas (peneira de 32 mesh).

Figura 3. Vista superior da ETE – CORSAN Parque Marinha, Rio Grande/RS



Fonte: Google Earth

Figura 4. Leito de secagem do lodo



4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras foram caracterizadas em relação ao teor de carbono orgânico total, através de um analisador de carbono orgânico. O teor de nitrogênio Kjeldahl e de sólidos fixos também foram determinados (BRASIL, 2006).

Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de espectroscopia de energia dispersiva (EDS, do inglês, energy dispersive spectroscopy) foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Zona Sul (CEME-Sul) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

4.7 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS

4.7.1 Preparo da fase móvel

Os solventes empregados na preparação da fase móvel foram filtrados à vácuo, através de membranas de nylon (0,45 μm). A água ultrapura e os solventes foram degaseificados em ultrassom durante 30 min, à temperatura ambiente (21 $^{\circ}\text{C}$).

4.7.2 Escolha da coluna analítica, composição da fase móvel e modo de eluição

A escolha da composição da fase móvel envolveu a comparação entre diferentes proporções de solvente orgânico e formiato de amônio. A escolha da fase móvel adequada foi realizada comparando a resposta do instrumento. Modo de eluição por gradiente foi utilizado durante a avaliação da separação cromatográfica.

4.7.3 Condições do sistema de detecção

A fim de otimizar as condições de fragmentação dos analitos, foram realizadas infusões diretas das soluções analíticas na concentração de 1 mg L^{-1} de cada composto estudado. Para isso foram avaliados os seguintes parâmetros: modo de ionização da fonte (eletrospray positivo ou eletrospray negativo); a voltagem do cone para selecionar o íon precursor; a energia de colisão para fragmentar o íon precursor e gerar íons produtos; a temperatura da fonte; a temperatura e a vazão do gás de dessolvatação para secagem do solvente; a voltagem do capilar e do cone extrator.

4.8 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DA AMOSTRA POR VA-MSPD PARA EXTRAÇÃO DE 27 PPCPS EM LODO DE ETE

Os experimentos realizados durante a escolha das melhores condições para a extração dos PPCPs empregando MSPD seguiram as etapas descritas na Figura 2, onde são ilustradas as principais etapas do procedimento de extração. Todas as etapas da otimização foram realizadas em triplicata e cada replicata foi injetada 3 vezes no LC-MS/MS. Em todos os ensaios, as amostras foram fortificadas em um nível de concentração de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$.

4.8.1 Avaliação do solvente de extração

Foram avaliados como solvente de extração etanol, metanol e acetonitrila. As condições iniciais utilizadas foram baseadas em um trabalho prévio onde 0,5 g de amostra foram macerados com 2,0 g de C18 por 5 minutos (CASADO *et al.*, 2015). Após, a mistura foi transferida para um tubo de centrífuga de 15 mL e adicionado 10 mL de solvente extrator. Foi realizada uma agitação em vórtex por 1 minuto e após uma centrifugação a 8000 rpm por 5 minutos. Uma alíquota de 1 mL do extrato foi retirada para injeção no cromatógrafo.

4.8.2 Avaliação do suporte sólido

Depois de selecionado o solvente extrator, diferentes suportes sólidos foram avaliados, sendo eles C18, areia e florisil. Além disso, foi realizado um experimento sem a utilização do suporte sólido. Para isto, 0,5 g de amostra foram macerados com 2,0 g de suporte sólido por 5 minutos. Após, a mistura foi transferida para um tubo de centrífuga de 15 mL e adicionado 10 mL de solvente extrator. Foi realizada uma agitação em vórtex por 1 minuto e após uma centrifugação a 8000 rpm por 5 minutos. Uma alíquota de 1 mL do extrato foi retirada para injeção no cromatógrafo. No teste sem o suporte sólido, apenas 0,5 g de amostra foi macerada.

4.9 AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE VA-MSPD PARA EXTRAÇÃO DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (AAS) E ÁCIDO SALICÍLICO (AS) EM LODO DE ETE

4.9.1 Avaliação do suporte sólido

Areia, concha de mexilhão, quitina, quitosana e alumina foram avaliadas como suporte sólido, assim como a não utilização de suporte sólido. Água ultrapura foi selecionada previamente como solvente de extração. 0,5 g de amostra foram macerados com 2,0 g de suporte sólido por 5 minutos. Após, a mistura foi transferida para um tubo de centrífuga de 25 mL e adicionado 10 mL de água ultrapura. Foi realizada uma agitação em vórtex por 1 minuto e após uma centrifugação a 8000 rpm por 5 minutos. O extrato foi filtrado em filtro de 0,45 µm e uma alíquota de 1 mL do extrato foi retirada para injeção no cromatógrafo. No teste sem o suporte sólido, apenas 0,5 g de amostra foram maceradas.

4.9.2 Avaliação da massa de suporte sólido

Selecionado o suporte sólido, foi avaliada a massa de suporte sólido utilizada. Foram avaliadas as massas de 0,5; 1,0 e 2,0 g. O procedimento consistiu em macerar 0,5 g de amostra com o suporte sólido por 5 minutos. Após, a mistura foi transferida para um tubo de centrífuga de 15 mL e adicionado 10 mL de água ultrapura. Foi realizada uma agitação em vórtex por 1 minuto e após uma centrifugação a 8000 rpm por 5 minutos. O extrato foi filtrado em filtro de 0,45 µm e uma alíquota de 1 mL do extrato foi retirada para injeção no cromatógrafo.

4.10 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS

Os métodos foram validados avaliando as seguintes figuras de mérito: limite de detecção, limite de quantificação, curvas analíticas (calibração externa no solvente e superposição na matriz), faixa linear, exatidão (recuperação) e precisão (repetibilidade e precisão intermediária). Também foi avaliado o efeito matriz (EM), como sugerido pelo guia de validação para análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos da Comissão Europeia (INMETRO, 2011; SANTE, 2015).

4.10.1 Limites de detecção e de quantificação

Os limites de detecção (LOD) e os limites de quantificação (LOQ) foram estimados pela relação sinal/ruído (s/n) calculada pelo *software* do equipamento e foi estabelecido um $s/n \geq 3$ para o LOD e $s/n \geq 10$ para o LOQ.

Os limites instrumentais foram obtidos através de padronização externa no extrato da matriz. Uma vez estabelecido os limites instrumentais, para a definição dos limites do método, as amostras foram fortificadas nas concentrações equivalentes ao LOQ do instrumento e submetidas ao processo de extração para confirmar experimentalmente estes valores. Os valores obtidos foram confirmados experimentalmente, e foram considerados como verdadeiros, quando a amostra ao ser fortificada nestas concentrações apresentou recuperações entre 70 e 120% com RSD menor ou igual a 20% (SANTE, 2015).

4.10.2 Curva analítica e faixa de trabalho

A faixa de trabalho do instrumento foi avaliada utilizando a curva analítica por padronização externa no solvente e a curva por superposição na matriz. Para a construção das curvas analíticas por padronização externa e por superposição da matriz, foram preparados dois conjuntos de soluções, onde:

- Conjunto 1:

As soluções foram preparadas através de diluições da solução padrão da mistura dos analitos em solvente (metanol ou água) (curva analítica por padronização externa);

- Conjunto 2:

As soluções foram preparadas a partir de diluições da solução padrão da mistura no extrato da matriz, extraído por VA-MSPD (curva por superposição da matriz).

Cada solução foi injetada três vezes, e cada curva teve no mínimo 5 níveis de concentração. Os dados de regressão linear foram obtidos com auxílio do *software* (Masslynx 4.0 Waters) do equipamento. A partir destes dados foi avaliado o coeficiente de correlação linear (r).

A linearidade do método foi verificada a partir da equação da regressão linear, mas antes, foi verificada a ausência de valores discrepantes para cada nível de concentração, antes de fazer a regressão linear.

Esses valores anômalos podem ser identificados estatisticamente através de procedimentos adequados de tratamento de dados. A verificação da ausência de valores discrepantes (anômalos) foi realizada pelo teste de Huber (VALENTE *et al.*, 2006).

O teste é realizado dividindo as áreas dos analitos pelas correspondentes concentrações, para plotar a curva de linearidade; depois calcula-se a mediana das razões A/C e as diferenças absolutas entre as A/C e a mediana; obtendo-se a mediana dessas diferenças absolutas (Med).

Através destes dados, são estabelecidos os limites de confiança superior (LSC) e inferior (LIC) utilizando a fórmula $LIC = LSC = Mediana \pm K * Med$, onde K é um fator que pode variar de 2 a 8, este fator determina a rigidez com que os dados são desprezados. Os valores discrepantes (fora do LIC e LSC) foram removidos para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos. Os pontos que estavam incluídos na região linear foram utilizados para a construção da curva analítica.

4.10.3 Exatidão

Neste estudo, foi utilizado o método de ensaio de recuperação (equação 1).

$$Recuperação(\%) = \left(\frac{C1 - C2}{C3} \right) \times 100 \quad (1)$$

onde:

C1= concentração do analito na amostra fortificada;

C2= concentração do analito na amostra não fortificada;

C3= concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

Para avaliar a exatidão foram adicionadas quantidades conhecidas dos analitos nas amostras de lodo em três níveis: baixo, médio e alto (INMETRO, 2011; SANTE, 2015). As amostras sem adição de padrão e as amostras fortificadas com o padrão foram injetadas no sistema cromatográfico em triplicata (n=9).

4.10.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada em função da repetibilidade e da precisão intermediária. Para a repetibilidade, as amostras foram fortificadas em diferentes níveis

em triplicata, seguindo todo o procedimento de extração, e injetadas em triplicata no mesmo dia, pelo mesmo analista e nas mesmas condições cromatográficas. A partir das nove determinações foi calculado o RSD_r (%). A precisão intermediária RSD_{pi} (%) foi realizada da mesma forma que a repetibilidade, porém as amostras foram fortificadas em dois níveis de concentração e o procedimento foi avaliado em diferentes dias. Para os cálculos dos RSD utilizou-se a equação 2, apresentada a seguir:

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

Onde:

s = estimativa do desvio padrão absoluto;

X_m = média das medidas em replicatas (n=9, 3 replicatas injetadas em triplicata).

4.11 Efeito Matriz

A avaliação do efeito matriz pode ser realizada por meio de comparações das inclinações das curvas analíticas por padronização externa no solvente com a curva por superposição da matriz (ECONOMOU *et al.*, 2009), ou pela comparação de áreas de padrões em uma concentração específica preparadas no solvente e no extrato branco da matriz (MATUSZEWSKI *et al.*, 2003; KRUIVE *et al.*, 2008). O cálculo foi efetuado através da equação 3.

$$EM(\%) = \frac{\text{inclinação}(X1) - \text{inclinação}(X2)}{\text{inclinação}(X2)} \times 100 \quad (3)$$

onde:

X1= inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparada no extrato da matriz;

X2 = inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparada no solvente.

Quando os valores encontrados para o efeito matriz estiverem entre -20 e +20%, considera-se que o efeito matriz é baixo; se estiverem entre -50 e +50% é considerado médio; e se os valores encontrados forem abaixo de -50% ou acima de +50%, o efeito matriz é considerado alto (ECONOMOU *et al.*, 2009).

4.11.1 Controle de qualidade nas determinações

Para assegurar a qualidade dos resultados, alguns procedimentos foram aplicados durante a realização das análises. Foram realizadas, diariamente, análises “branco” da matriz e da vidraria, antes das análises, para verificar e eliminar falsos positivos por contaminação no processo de extração, instrumento, materiais ou reagentes utilizados durante todo o processo. Também foram preparadas curvas analíticas para verificar a sensibilidade e linearidade na faixa de trabalho das concentrações.

Além disso, durante a extração de amostras, foi adicionado padrão de recuperação para acompanhar a eficiência da extração. Assim, os erros de quantificação causados por efeitos matriz, além de possíveis flutuações instrumentais puderam ser monitorados (CITAC, 2002).

Se detectada diminuição na eficiência de extração, contaminação dos brancos, ou diminuição na resposta dos equipamentos, alguns procedimentos foram realizados como a repetição da extração da amostra, limpeza das vidrarias de maneira mais drástica para eliminação da contaminação, manutenções no equipamento para limpeza e melhoria na detectabilidade.

4.12 APLICABILIDADE

Para a aplicabilidade do método, foram coletadas amostras nos meses de fevereiro de 2016, fevereiro e abril de 2017. Para controle da eficiência da extração, atrazina-d5 foi adicionada nas amostras como padrão de recuperação, por possuir propriedades físico-químicas semelhantes às da maioria dos analitos estudados. A fortificação foi realizada no nível de $125 \mu\text{g kg}^{-1}$. A escolha do nível de fortificação foi baseada em uma concentração intermediária da curva analítica para este composto.

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos para os dois métodos desenvolvidos nesta tese: um para determinação simultânea de 27 PPCPs e outro para determinação de ácido acetilsalicílico (AAS) e ácido salicílico (AS).

5.1 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS PARA OS 27 PPCPS

5.1.1 Condições do sistema de detecção

A fonte de ionização à pressão atmosférica (API) com interface por eletrospray (ESI) foi utilizada nesse estudo, uma vez que ela é a mais indicada para compostos neutros ou polares, que podem ser protonados ou desprotonados em condições adequadas de pH. Para a análise de PPCPs, a ESI é geralmente a fonte preferida, por ser uma técnica mais branda que a ionização química a pressão atmosférica, é menos suscetível a degradações térmicas uma vez que a ionização ocorre direto na fase líquida a temperaturas quase ambiente (FERNÁNDEZ-ALBA, 2005; LANÇAS, 2009b).

Para cada composto, quando possível, foram selecionados dois fragmentos característicos, como apresentado na Tabela 6, vantagem fornecida por um analisador de massas em série (MS/MS). O fragmento mais intenso (mais estável) foi escolhido para quantificação do composto e o segundo fragmento mais intenso para confirmação do mesmo.

Devido aos diferentes tempos de retenção e os diferentes modos de ionização (positivo e negativo) os compostos foram monitorados em diferentes funções, totalizando 4 janelas no modo SRM (monitoramento de reações seletivas).

Tabela 6. Parâmetros otimizados para os compostos estudados por LC-MS/MS

PPCPs	Modo ESI	Transição (m/z)	Voltagem do Cone (V)	Energia de Colisão (eV)	t _R (min)
triclocarban	-	313>160,1 ^a	30	25	3,22
		315>125,7	30	15	
nimesulida	-	307>229 ^a	33	20	3,33
		307>198,1	30	25	
triclosan	-	289>35	18	7	3,33
		287>35 ^a	18	9	
propilparabeno	-	179,1>137,1	30	15	3,44
		179,1>91,8 ^a	30	20	
4-hidroxibenzofenona	-	197,01 >91.9 ^a	45	33	3,47
		197,01 > 120	45	25	
metilparabeno	-	151>135,9	35	15	3,50
		151>91,6 ^a	35	20	
4,4-dihidroxibenzofenona	-	213,03 > 92.9 ^a	45	25	3,59
		213,03 > 169	45	23	
metilcloroparabeno	-	186,9 >128 ^a	41	19	3,64
		186,9 > 172,1	41	15	
genfibrozila	-	249>121 ^a	20	30	5,07
ibuprofeno	-	205>161 ^a	20	10	11,06
diclofenaco	-	293,6>250,2 ^a	20	10	12,29
		293,6>214	20	25	
ácido clofíbrico	-	212,87 >127 ^a	25	21	15,09
		212,87 > 84.9	25	13	
2-hidroxi-ibuprofeno	-	221,03 >177,1 ^a	21	7	15,93
		221,03 > 131	21	55	
nifedipino	+	347,4>315,2 ^a	20	8	3,46
		347,4>271,3	20	8	
atrazina-d5	+	220.9>179 ^a	33	17	3,53
		220.9>101	33	21	
glibenclamida	+	494>369	30	18	3,68
		494>169 ^a	30	38	
albendazol	+	266>234 ^a	30	20	3,77
		266>191	33	32	
mebendazol	+	296,2>264,2	35	30	3,82
		296,2>104,9 ^a	35	30	
miconazol	+	417,1>161 ^a	45	25	3,88
		417,1>159	45	30	
carbamazepina	+	236,9>194,1 ^a	26	12	3,99
		236,9>167,4	35	40	
tiabendazol	+	202>175 ^a	47	25	4,95
		202>158	47	25	
lidocaína	+	235>86 ^a	27	19	5,32
		235,5>57,7	27	35	
cetoconazol	+	531,2>120,1 ^a	60	60	12,09
		531,2>489,2	46	10	
ditiazem	+	415>310	35	20	14,64
		415>178 ^a	35	20	
haloperidol	+	376>165 ^a	30	21	15,44
		376>123	35	25	
flurazepam	+	388,4>315,2 ^a	30	25	16,02
		388,4>288,2	30	25	
amitriptilina	+	278,3>233,3 ^a	35	15	17,52
		278,3>116,9	35	15	
propranolol	+	260>116 ^a	30	18	17,67
		260>183	30	20	

5.1.2 Coluna analítica e composição da fase móvel

Neste trabalho foi utilizada uma coluna HILIC com fase estacionária composta por sílica, uma vez que uma grande diversidade de compostos farmacêuticos, pertencentes a diferentes classes terapêuticas tem sido separados com este tipo de fase estacionária (DEJAEGHER e VANDER HEYDEN, 2010).

Acetonitrila e formiato de amônio 100 mM foram selecionados como fase móvel neste trabalho. O modo gradiente foi utilizado devido à melhor separação dos analitos. Apesar de não ser necessária quando utilizado um espectrômetro de massas, a separação se torna importante uma vez que ela reduz as coeluições dos analitos, conseqüentemente diminui a competição durante a etapa de ionização, resultando em menores valores de efeito matriz.

De uma forma resumida, as melhores condições empregadas no sistema cromatográfico para a determinação dos PPCPs em estudo estão na Tabela 7. A Tabela 8 apresenta o programa de gradiente de eluição utilizado. A Figura 5 mostra os cromatogramas dos analitos no modo SRM.

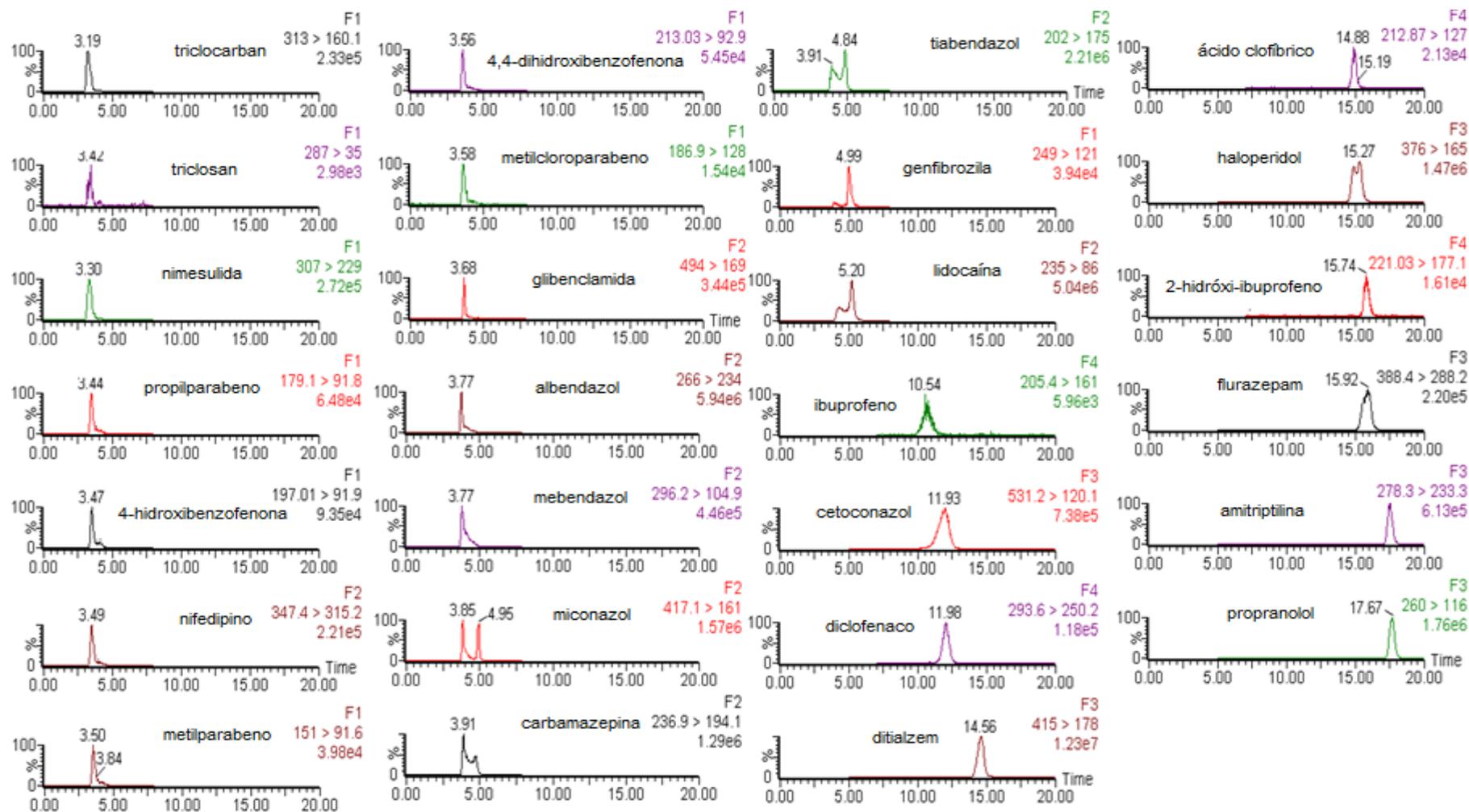
Tabela 7. Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS

Parâmetros	LC-MS/MS
Coluna analítica	Atlantis HILIC Sílica (4,6 mm x 50 mm, 3 µm)
Fase móvel	acetonitrila (A) e formiato de amônio 100 mM (B)
Volume de injeção	10 µL
Vazão	0,2 mL min ⁻¹
Fonte de ionização	ESI
Detector	Espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo

Tabela 8. Condições de eluição empregadas no modo gradiente

Tempo (min)	acetonitrila (%)	formiato de amônio 100 mM (%)
0	97	3
8	85	15
20	85	15
20,5	97	3
25	97	3

Figura 5. Cromatogramas das transições de quantificação dos analitos no modo SRM empregando acetonitrila: formiato de amônio 100 mM conforme condições descritas na Tabela 8. Concentração da mistura de 1000 µg L⁻¹.

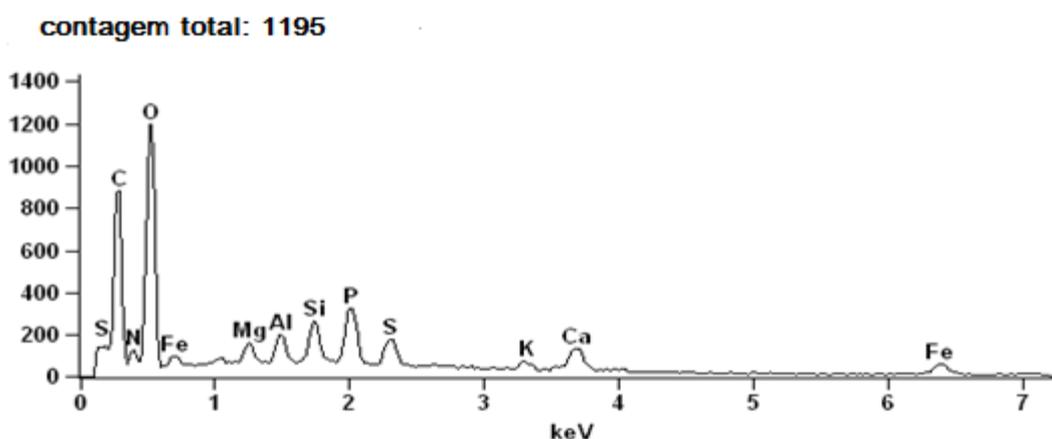


5.2 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra utilizada na otimização e validação do método apresentou um teor de carbono orgânico total de 35%, nitrogênio de 5%, e pH de 7,5. Os resultados são semelhantes aos valores esperados para lodo de ETE (BETTIOL e CAMARGO, 2006), apesar de que esta composição varia de acordo com o efluente que chega às ETEs e o tipo de tratamento empregado.

O teor de sólidos fixos, ou seja, de substâncias inorgânicas, foi de 37%. Através da análise por EDS foi possível observar (Figura 6) a presença de diversos elementos, dentre eles carbono, oxigênio, silício, magnésio, cálcio, ferro e alumínio. A presença destes elementos aliado ao teor de sólidos fixos sugerem que o lodo pode apresentar características abrasivas, podendo atuar como suporte sólido.

Figura 6. Espectro de energia dispersiva da amostra de lodo de ETE



5.3 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DA AMOSTRA POR MSPD PARA EXTRAÇÃO DE PPCPS EM LODO DE ETE

5.3.1 Avaliação do solvente extrator

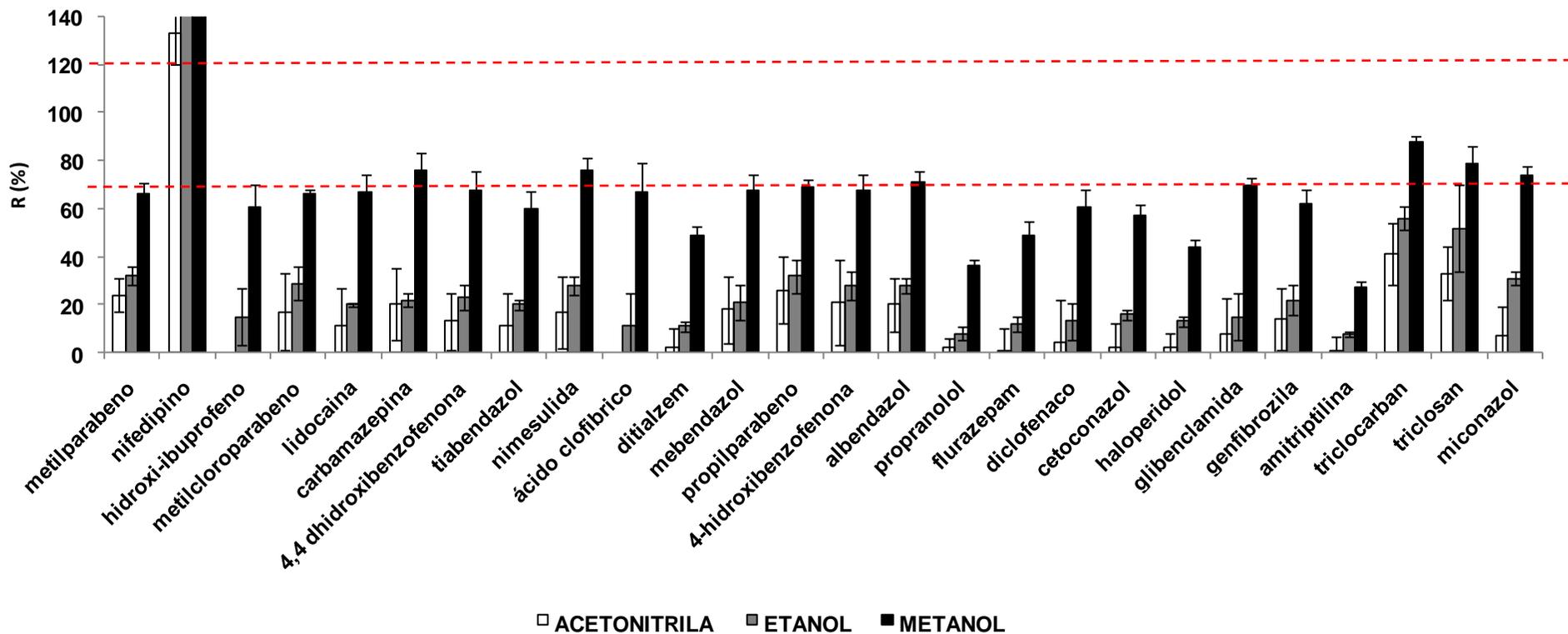
Neste trabalho foram avaliados acetonitrila, etanol e metanol como solventes extratores. Neste teste, foi utilizado como suporte sólido C18 uma vez que na literatura, foi observado que a maioria dos trabalhos utilizava este suporte sólido para a extração de PPCPs em lodo de ETE (ALBERO *et al.*, 2013; CASADO *et al.*, 2015; MONTES *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2016).

Na Figura 7, pode-se observar que empregando acetonitrila, as recuperações dos analitos ficaram entre 1 e 41%, com RSD < 18%. Ácido clofíbrico e hidróxi-ibuprofeno não foram extraídos. Quando etanol foi utilizado, as recuperações dos PPCPs ficaram entre 8 e 56%, com RSD < 18%. Recuperações maiores foram obtidas quando empregado metanol como solvente extrator, com valores entre 27 e 88%, com RSD < 12%.

Em geral, os solventes polares próticos como o metanol (constante dielétrica 33) e o etanol (constante dielétrica 24) apresentaram melhor eficiência de extração do que acetonitrila (solvente polar aprótico constante dielétrica 37,5) (COLLINS *et al.*, 2006). Solventes polares próticos possuem uma maior capacidade de solvatação de ânions do que os solventes apróticos, devido a formação de ligações de hidrogênio. Sendo assim, metanol foi selecionado como solvente de extração.

Metanol tem sido utilizado com eficiência em outros estudos. Casado e colaboradores extraíram antimicóticos em lodo de ETE com recuperações entre 70 e 118% e RSD < 14% (CASADO *et al.*, 2015). Montes e colaboradores extraíram o antiarrítmico amidarona e seu metabólito em lodo de ETE e obtiveram recuperações de 95 e 11% e RSD < 11% (MONTES *et al.*, 2015). Já no trabalho de Li e colaboradores onde foram extraídos 45 PPCPs em lodo de ETE, foram obtidas recuperações entre 50 e 107% e RSD < 15% (LI *et al.*, 2016).

Figura 7. Avaliação do solvente extrator



Condição de extração: 0,5 g de amostra + 2,0 g de C18. Maceração por 5 min. 10 mL do solvente, agitação em vórtex por 1 min. Centrifugação a 8000 rpm por 5 min. Nível de fortificação 0,2 mg kg⁻¹. (os analitos estão em ordem crescente de log kow)

5.3.2 Avaliação dos suportes sólidos

Após selecionar metanol como solvente extrator, foram realizados experimentos a fim de avaliar o suporte sólido empregado na etapa de maceração da MPSD. Para isto foram testados suportes sólidos de diferentes características: C18, florisil, areia e sem suporte sólido.

As recuperações empregando C18 como suporte sólido foram entre 27 e 88% e RSD < 12%. Utilizando florisil, as recuperações foram de 30 a 134% e RSD < 17%. Quando areia foi utilizada, as recuperações dos analitos foram de 57 a 137% com RSD < 23%. Os resultados de recuperação para o experimento sem suporte sólido (ou seja, só a amostra foi macerada) foram de 63 a 119% e RSD < 18%.

Florisil foi utilizado na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de ETE (PENA *et al.*, 2008) e a alumina como suporte sólido na extração de agrotóxicos organoclorados em lodo de ETE (SÁNCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2008).

Conforme a Tabela 9, o uso de C18 resultou em um menor valor de recuperação para a maioria dos analitos. Provavelmente, os analitos estavam aderindo fortemente aos grupos silanóis residuais do C18. Os demais suportes sólidos apresentaram valores de recuperação semelhantes. Assim, foi realizado um teste de Tukey e foi observado que quinze dos 27 analitos não apresentaram diferença significativa empregando areia, florisil e não empregando suporte sólido.

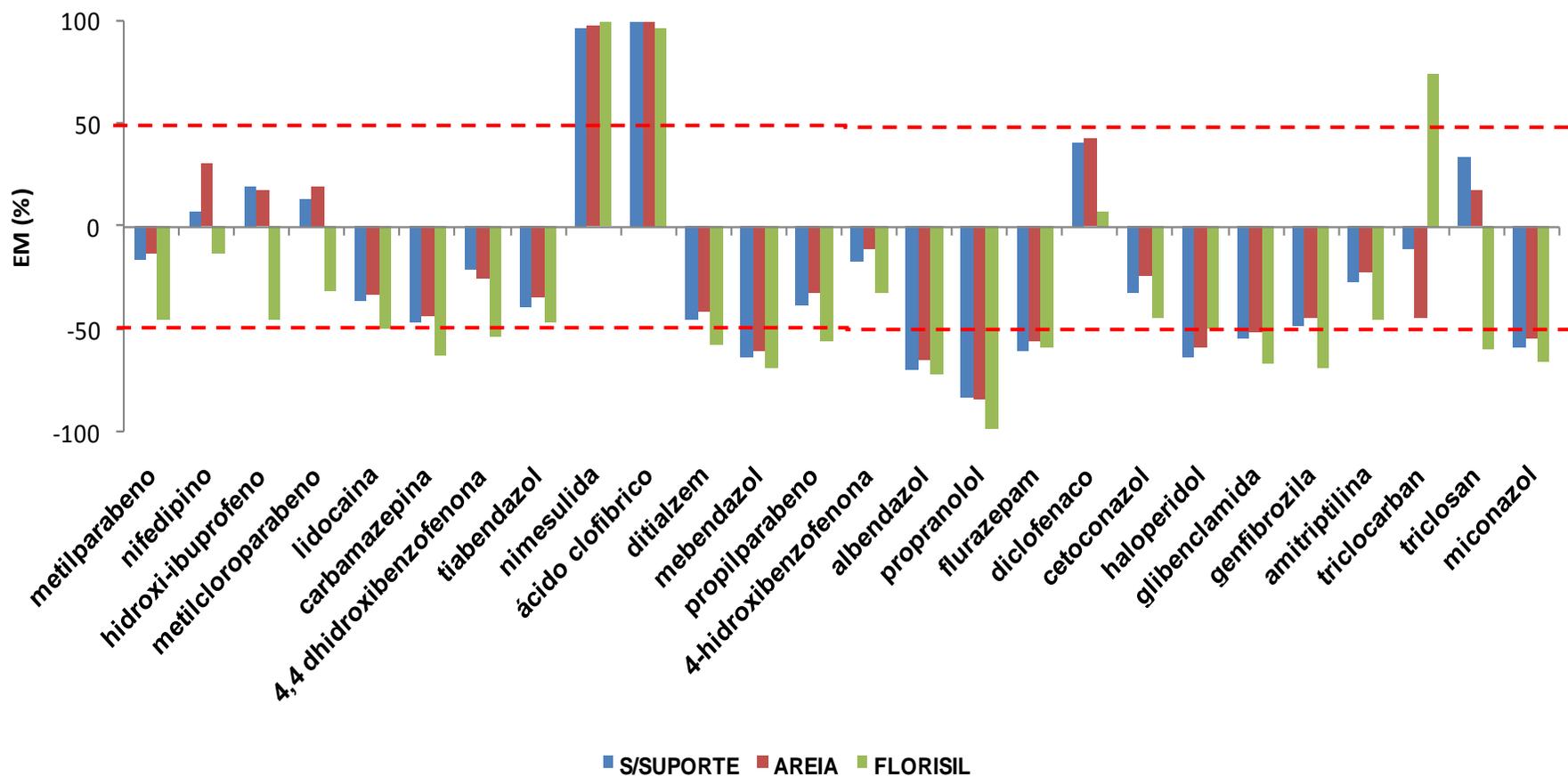
Tabela 9. Avaliação dos suportes sólidos

Analitos	s/suporte		areia		florisil		C18	
	R (%)	RSD	R (%)	RSD	R (%)	RSD	R (%)	RSD
metilparabeno	108 ^a	7	96 ^b	6	133 ^b	16	66 ^c	5
nifedipino	130 ^a	5	203 ^c	4	257 ^d	4	150 ^b	2
hidroxi-ibuprofeno	114 ^a	8	93 ^{a,b}	6	81 ^b	16	61 ^c	9
metilcloroparabeno	108 ^b	3	96 ^c	7	134 ^a	9	66 ^d	2
lidocaina	108 ^b	6	100 ^b	4	124 ^a	6	67 ^c	7
carbamazepina	112 ^a	7	104 ^a	2	112 ^a	0.4	76 ^b	7
4,4 dhidroxi-benzofenona	100 ^{a,b}	12	98 ^{a,b}	9	112 ^a	15	68 ^b	8
tiabendazol	102 ^b	4	93 ^b	2	113 ^a	3	60 ^c	7
nimesulida	114 ^a	8	137 ^a	1	83 ^b	9	76 ^b	5
ácido clofibríco	111 ^a	9	101 ^a	1	95 ^{a,b}	10	67 ^b	12
ditiazem	115 ^a	8	96 ^b	3	106 ^{a,b}	3	49 ^c	4
mebendazol	102 ^a	9	106 ^a	5	108 ^a	5	68	6
propilparabeno	117 ^a	9	103 ^a	6	107 ^a	16	69 ^b	3
4-hidroxi-benzofenona	102 ^{a,b}	11	105 ^a	7	94 ^{a,b}	17	68 ^c	6
albendazol	114 ^a	10	103 ^a	3	108 ^a	11	71 ^b	5
propranolol	119 ^a	18	94 ^a	7	102 ^a	7	36 ^b	3
flurazepam	107 ^a	6	89 ^b	3	98 ^{a,b}	3	49 ^c	6
diclofenaco	114 ^a	8	106 ^a	3	119 ^a	8	61 ^b	7
cetoconazol	117 ^a	10	86 ^b	6	68 ^c	5	57 ^c	5
haloperidol	82 ^a	6	57 ^b	3	30 ^c	4	44 ^d	3
glibenclamida	98 ^b	4	91 ^b	4	108 ^a	7	70 ^c	3
genfibrozila	106 ^a	7	100 ^a	4	105 ^a	5	62 ^b	6
amitriptilina	88 ^a	7	82 ^a	2	64 ^b	4	27 ^c	3
triclocarban	115 ^a	7	102 ^{a,b}	2	71 ^c	13	88 ^b	2
triclosan	95 ^{a,b}	18	107 ^a	23	74 ^b	8	79 ^{a,b}	7
miconazol	117 ^a	10	108 ^a	5	116 ^a	7	74 ^b	4

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

O efeito matriz foi avaliado para verificar se o suporte sólido estaria auxiliando na etapa de limpeza, restando interferentes presentes na amostra. Conforme a Figura 8, os valores de efeito matriz foram semelhantes entre os suportes sólidos testados. Diante dos resultados, onde o uso ou não dos suportes sólidos não apresentou diferença significativa para a maioria dos analitos e os valores de efeito matriz foram semelhantes, optou-se pelo não uso de suporte sólido.

Figura 8. Avaliação do efeito matriz empregando diferentes suportes sólidos



5.3.3 Avaliação da etapa de maceração

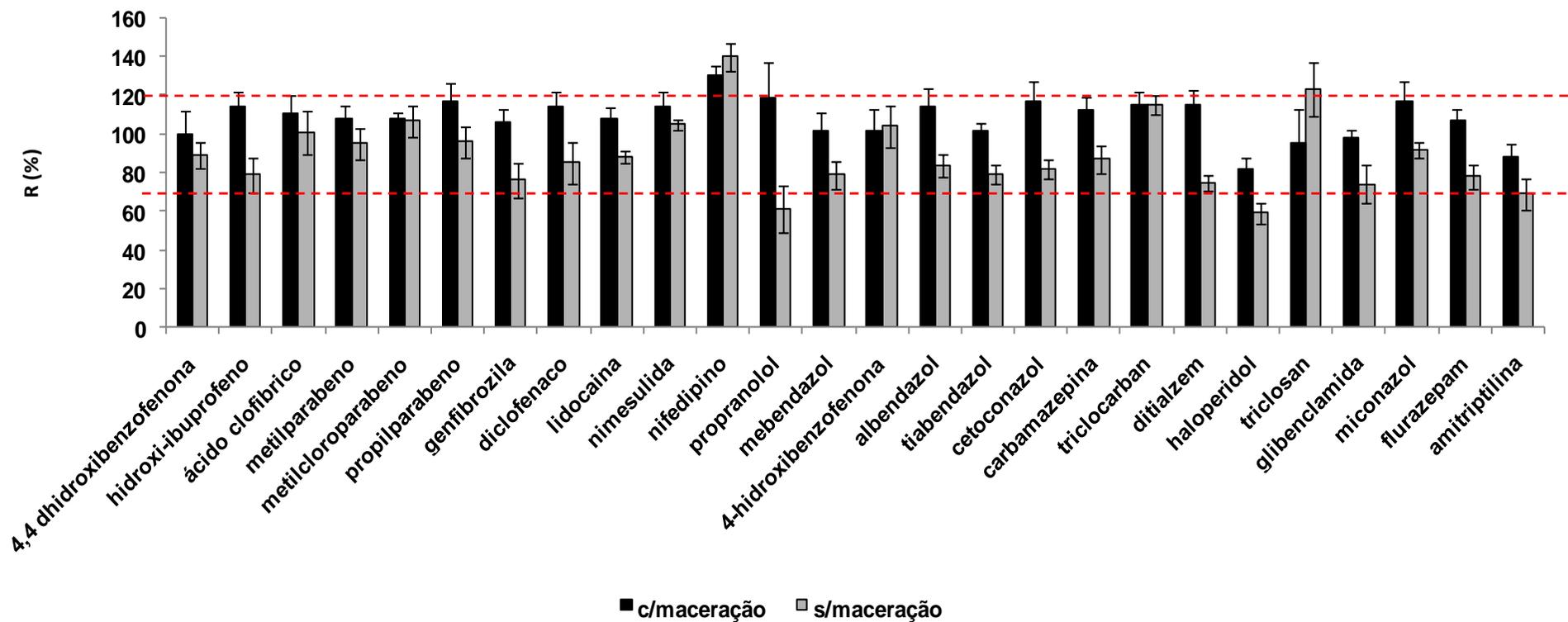
Para confirmar a necessidade da etapa de maceração, uma vez que compostos com elevados valores de log Koc (3,5 – 5) e podem ficar fortemente retidos no lodo, foram realizados experimentos macerando a amostra e outro somente adicionando o solvente e agitando em vórtex. As amostras foram fortificadas e após 30 minutos, passaram pela etapa de extração. Para o experimento em que foi avaliada a etapa de maceração, as amostras foram maceradas durante 5 minutos em um almofariz de vidro, e após a amostra foi transferida para um tubo de centrífuga, onde foi adicionado o solvente seguida da agitação em vórtex por 1 minuto. No outro experimento, foi adicionado o solvente diretamente na amostra e após foi realizada uma etapa de agitação em vórtex por 1 minuto.

Conforme o gráfico da Figura 9, pode-se observar a necessidade da etapa de maceração, uma vez que os analitos que podem ficar fortemente retido no lodo apresentaram maiores valores de recuperação, indicando que a maceração quebra a estrutura da matriz e com isso aumenta a superfície de contato, facilitando a extração dos analitos.

As amostras também foram encaminhadas para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV), onde as imagens podem ser observadas na Figura 10.

A amostra que foi macerada apresentou, visualmente, um maior número de partículas menores, comprovando a quebra promovida pela maceração.

Figura 9. Avaliação da etapa de maceração

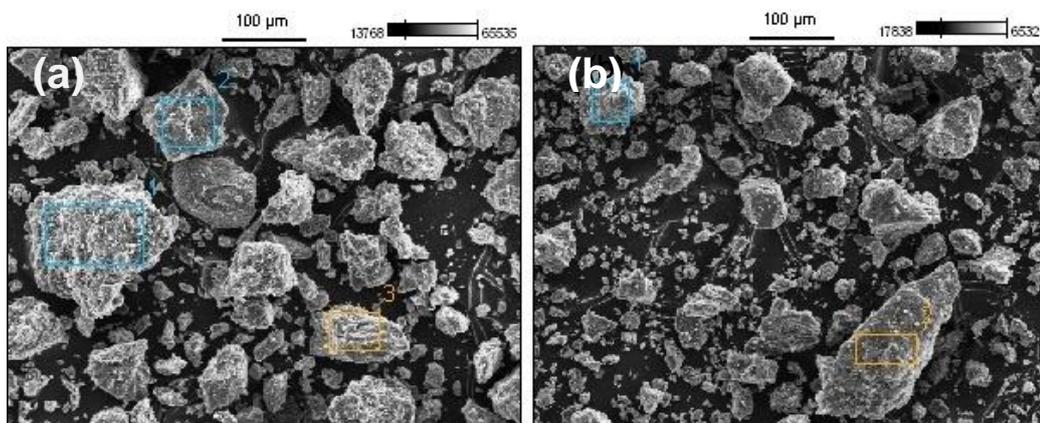


Condições de extração: 0,5 g de amostra + 10 mL de metanol. Agitação em vórtex por 1 min, centrifugação por 5 min a 8000 rpm.

Nível de fortificação 0,2 mg kg⁻¹

*maceração por 5 min. (os analitos estão em ordem crescente de log Koc)

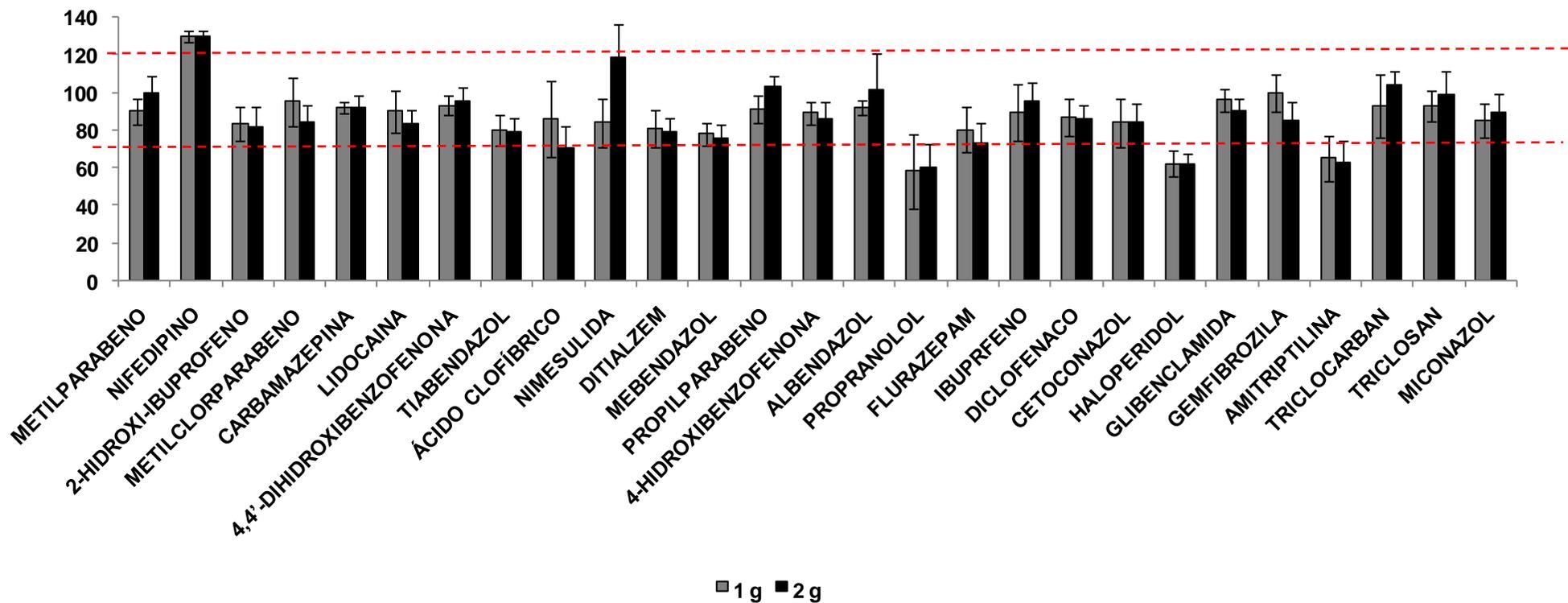
Figura 10. Imagens de MEV para a amostra: (a) sem etapa de maceração e (b) com etapa de maceração



5.3.4 Avaliação da massa de amostra

A fim de obter menores limites de quantificação, foram realizados testes empregando 1,0 e 2,0 g de amostra e 5 mL de metanol. As recuperações quando empregado 1,0 g de amostra e 5 mL de metanol foram entre 58 e 130% com RSD < 18%. Aumentando a massa de amostra para 2,0 g foram obtidas recuperações entre 60 e 130% e RSD < 20%, conforme observado na Figura 11. A partir dos resultados obtidos, foram selecionadas as condições 2,0 g de amostra e 5 mL de metanol.

Figura 11. Avaliação da massa de amostra



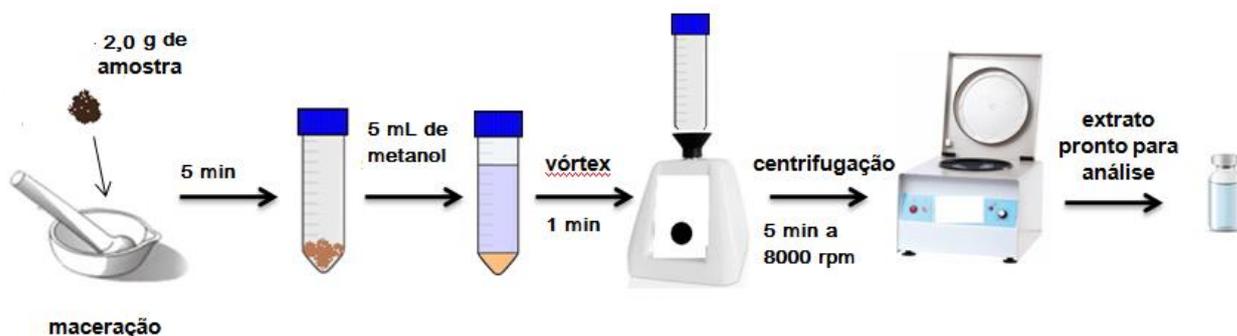
Condições de extração: 1 g ou 2 g de amostra. Maceração 5 min, 5 mL de metanol. Agitação em vórtex por 1 min, centrifugação por 5 min a 8000 rpm.
 Nível de fortificação 0,2 mg kg⁻¹
 (os analitos estão em ordem crescente de log Kow)

5.3.5 VA-MSPD otimizada

A partir dos testes realizados e conforme os resultados apresentados, o procedimento de extração mais adequado para a extração e determinação de 27 PPCPs em lodo, está representado na Figura 12.

O método prevê uma etapa de maceração de 2,0 g de amostra por 5 minutos em almofariz de vidro, seguida da extração dos analitos com metanol, agitação em vórtex por 1 minuto, centrifugação por 5 minutos a 8000 rpm e retirada do extrato para análise por LC-MS/MS.

Figura 12. VA-MSPD otimizada para a determinação de 27 PPCPs



5.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

5.4.1 Limites de detecção e quantificação

Na Tabela 10 são apresentados os limites de detecção (LOD_i) e de quantificação (LOQ_i) do instrumento, em $\mu\text{g L}^{-1}$, bem como os limites de detecção (LOD_m) e de quantificação (LOQ_m) do método, em $\mu\text{g kg}^{-1}$, para os compostos em estudo.

Como não existem limites na legislação brasileira, para os compostos em estudo para o lodo de ETE, os LOQ_m foram comparados com os trabalhos que determinaram esses analitos em lodos, empregando MSPD e LC-MS/MS. Os limites para o método proposto ficaram entre $1,25$ e $1250 \mu\text{g kg}^{-1}$, atendendo aos valores que estão sendo detectados nesta matriz.

Tabela 10. Valores de LOD e LOQ instrumental e do método

Analitos	LOD _i	LOQ _i	LOD _m	LOQ _m	Concentrações detectadas em lodo
	$\mu\text{g L}^{-1}$		$\mu\text{g kg}^{-1}$		$\mu\text{g kg}^{-1}$
metilparabeno	3	10	8	25	31 ^b
nifedipino	2	5	4	12,5	
2-hidroxi-ibuprofeno	20	50	38	125	
metilclorparabeno	3	10	8	25	
carbamazepina	0,2	0,5	0,4	1,25	1,8 ^a ; 2,4 ^b ; 34 ^c ; 39 ^d
lidocaina	0,2	0,5	0,4	1,25	147 ^c
4,4-dihidroxibenzofenona	3	10	8	25	
tiabendazol	0,2	0,5	0,4	1,25	3,5 ^e
ácido clofibrico	20	50	38	125	
nimesulida	0,3	1	0,8	2,5	
ditiazem	0,2	0,5	0,4	1,25	
mebendazol	0,2	0,5	0,4	1,25	
propilparabeno	2	5	4	12,5	9,2 ^b
4-hidroxibenzofenona	2	5	4	12,5	
albendazol	0,2	0,5	0,4	1,25	
propranolol	0,3	1	0,8	2,5	3,1 ^a ; 849 ^c
flurazepam	0,3	1	0,8	2,5	
ibuprofeno	30	100	75	250	
diclofenaco	3	10	8	25	133 ^c
cetoconazol	2	5	4	12,5	417 ^f
haloperidol	0,2	0,5	0,4	1,25	
glibenclamida	2	5	4	12,5	
genfibrozila	30	100	75	250	
amitriptilina	0,3	1	0,8	2,5	94 ^c ;
triclocarban	0,2	0,5	0,4	1,25	1700 ^a ; 3467 ^b ; 486 ^c
triclosan	200	500	379	1250	1187 ^b ; 4230 ^c
miconazol	0,2	0,5	0,4	1,25	120 ^a ; 63 ^c

^a(SUN *et al.*, 2016); ^b(YU *et al.*, 2011); ^c(PEYSSON e VULLIET, 2013); ^d(FERHI *et al.*, 2016); ^e(SUBEDI *et al.*, 2017); ^f(CASADO *et al.*, 2015)

5.4.2 Curva analítica e faixa de trabalho

De acordo com as características de cada analito, as curvas analíticas responderam em diferentes faixas de concentração. Por isso, as curvas analíticas no solvente e por superposição na matriz tiveram como primeiro ponto o valor equivalente ao LOQ e como último ponto a concentração correspondendo no mínimo a 20 vezes o LOQ, sempre garantindo que todas as curvas tivessem no mínimo 5 níveis de concentração.

A Figura 13 apresenta exemplo da curva de linearidade obtida através das médias das áreas sobre a concentração (eixo y), pela concentração (eixo x) para o fármaco flurazepam. Através da aplicação do teste de Huber, foram consideradas as

médias dos fatores de resposta estabelecendo-se um limite inferior e um superior (retas destacadas em vermelho nos gráficos).

Figura 13. Exemplo do gráfico de linearidade para o fármaco flurazepam

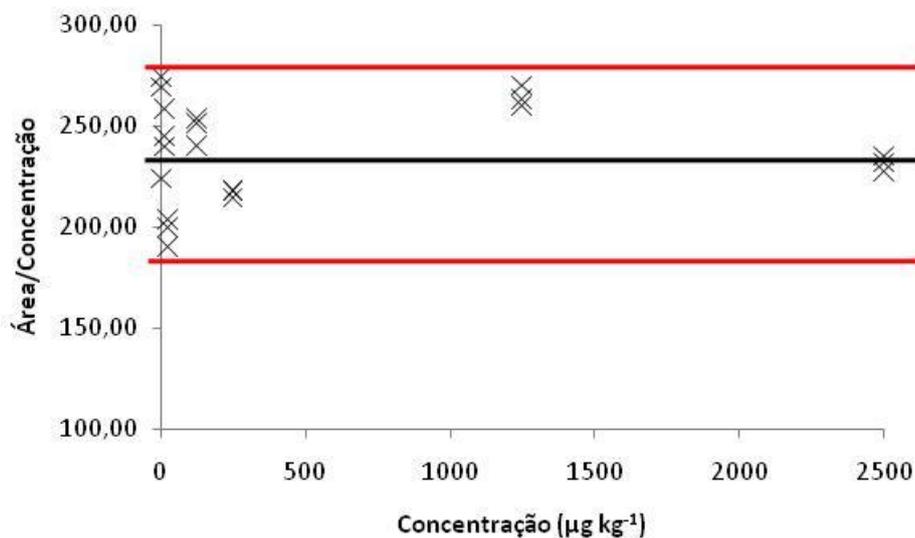


Tabela 11. Resultados obtidos para as curvas analíticas e faixa linear

Analito	Faixa de trabalho ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Curva no solvente	r	Curva no extrato	r
metilparabeno	25 – 500	$y = 7.272,6438x + 26,2028$	0.9957	$y = 5.072,9602x - 60,0720$	0.9978
nifedipino	12,5 – 2500	$y = 310.102,2481x - 2.071,7872$	0.9965	$y = 47.011,0574x - 130,2579$	0.9899
2-hidroxi-ibuprofeno	125 – 2500	$y = 6.746,7818x - 238,7409$	0.9998	$y = 2.617,2569x - 87,0575$	0.9978
metilclorparabeno	25 – 500	$y = 1.908,0689x + 5,0707$	0.9956	$y = 2.324,6034x - 25,6020$	0.9954
carbamazepina	1,25 – 2500	$y = 947.569,9122x + 18.016,7907$	0.9982	$y = 446.668,3209x + 1.404,9748$	0.9999
lidocaina	1,25 – 2500	$y = 3.568.028,1685x + 27.202,4119$	0.9979	$y = 1.963.764,7120x + 14.351,6523$	0.9960
4,4'-dihidroxibenzofenona	25 – 500	$y = 10.977,2545x - 75,6458$	0.9991	$y = 5.145,7357x - 70,7304$	0.9960
tiabendazol	1,25 – 2500	$y = 1.994.645,4146x + 29.214,2240$	0.9948	$y = 756.007,8328x + 4.708,0993$	0.9966
ácido clofíbrico	125 – 2500	$y = 1.325,0148x - 49,6148$	0.9994	$y = 1.921,6805x - 76,8006$	0.9984
nimesulida	2,5 – 2500	$y = 34.025,5773x + 579,4349$	0.9966	$y = 66.079,3733x + 890,6033$	0.9950
ditalzem	1,25 – 2500	$y = 4.057.644,8846x + 23.218,5030$	0.9990	$y = 725.036,5380x - 633,1505$	0.9982
mebendazol	1,25 – 2500	$y = 390.858,6221x + 14.969,7582$	0.9914	$y = 135.578,5258x + 860,8121$	0.9971
propilparabeno	12,5 – 2500	$y = 23.462,2241x + 328,6510$	0.9988	$y = 13.644,7483x + 182,6068$	0.9959
4-hidroxibenzofenona	12,5 – 2500	$y = 26.649,5150x + 307,5658$	0.9993	$y = 16.021,2690x + 205,7071$	0.9964
albendazol	1,25 – 2500	$y = 1.597.936,9902x + 37.259,4763$	0.9969	$y = 593.128,0082x + 3.899,4928$	0.9961
propranolol	2,5 – 2500	$y = 322.309,5298x - 194,1632$	0.9993	$y = 753.387,6381x - 4.244,5991$	0.9913
flurazepam	2,5 – 2500	$y = 992.211,3637x + 1.152,5605$	0.9995	$y = 591.207,6838x + 2.555,1745$	0.9977
ibuprofeno	250 – 5000	$y = 3.701,8068x + 54,8499$	0.9956	$y = 820,5237x - 141,5862$	0.9996
diclofenaco	25 – 500	$y = 97.759,2872x + 1.010,0455$	0.9992	$y = 35.213,7071x + 629,4679$	0.9963
cetoconazol	12,5 – 2500	$y = 172.749,2752x + 1.209,0235$	0.9988	$y = 116.858,4287x + 712,9361$	0.9963
haloperidol	1,25 – 2500	$y = 2.976.813,4084x + 25.252,9900$	0.9974	$y = 650.083,9119x + 1.086,6226$	0.9980
glibenclamida	12,5 – 2500	$y = 61.120,6397x + 2.235,8547$	0.9857	$y = 30.574,9874x + 490,3767$	0.9983
genfibrozila	250 – 5000	$y = 24.541,3716x - 93,2365$	0.9957	$y = 1.634,3833x - 264,9377$	0.9988
amitriptilina	2,5 – 2500	$y = 212.011,3597x + 704,6495$	0.9992	$y = 152.035,4978x + 872,1902$	0.9962
triclocarban	1,25 – 2500	$y = 94.880,3936x - 9,0514$	0.9981	$y = 441.946,7360x + 5.269,3683$	0.9761
triclosan	1250 – 25000	$y = 206,5734x - 43,0668$	0.9951	$y = 117,5079x - 58,6951$	0.9962
miconazol	1,25 – 2500	$y = 778.550,8392x + 13.344,5033$	0.9960	$y = 331.733,0555x + 687,5786$	0.9979

5.4.3 Exatidão e precisão

Para a avaliação da exatidão do método foram realizados ensaios de recuperação em três níveis, nas concentrações correspondentes a 1 LOQ, 5 LOQ e 10 LOQ. A precisão do método foi avaliada em termos de repetibilidade (RSD) e precisão intermediária (RSD_{pi}) em três níveis para cada analito (1LOQ, 5 LOQ e 10 LOQ). Os valores de repetibilidade e de precisão intermediária (RSD_{pi}) estão descritos na Tabela 12.

O método apresentou recuperações percentuais entre 45 e 120%, conforme apresentado na Tabela 12. A precisão do método foi expressa em termos de RSD. O método demonstrou boa precisão uma vez que os valores de RSD foram menores do que 20% para a repetibilidade e precisão intermediária.

Seguindo-se a orientação para validação de métodos cromatográficos, no qual os valores de recuperação devem estar entre 70 e 120% com valores de $RSD \leq 20\%$, os resultados foram considerados satisfatórios. Com relação a precisão, valores menores e iguais a 20% foram obtidos. Cabe salientar, que de acordo com o guia SANTE de validação, uma faixa de recuperações entre 60 e 140 % pode ser aceita para recuperações individuais em análises multirresíduo de rotina (SANTE, 2015).

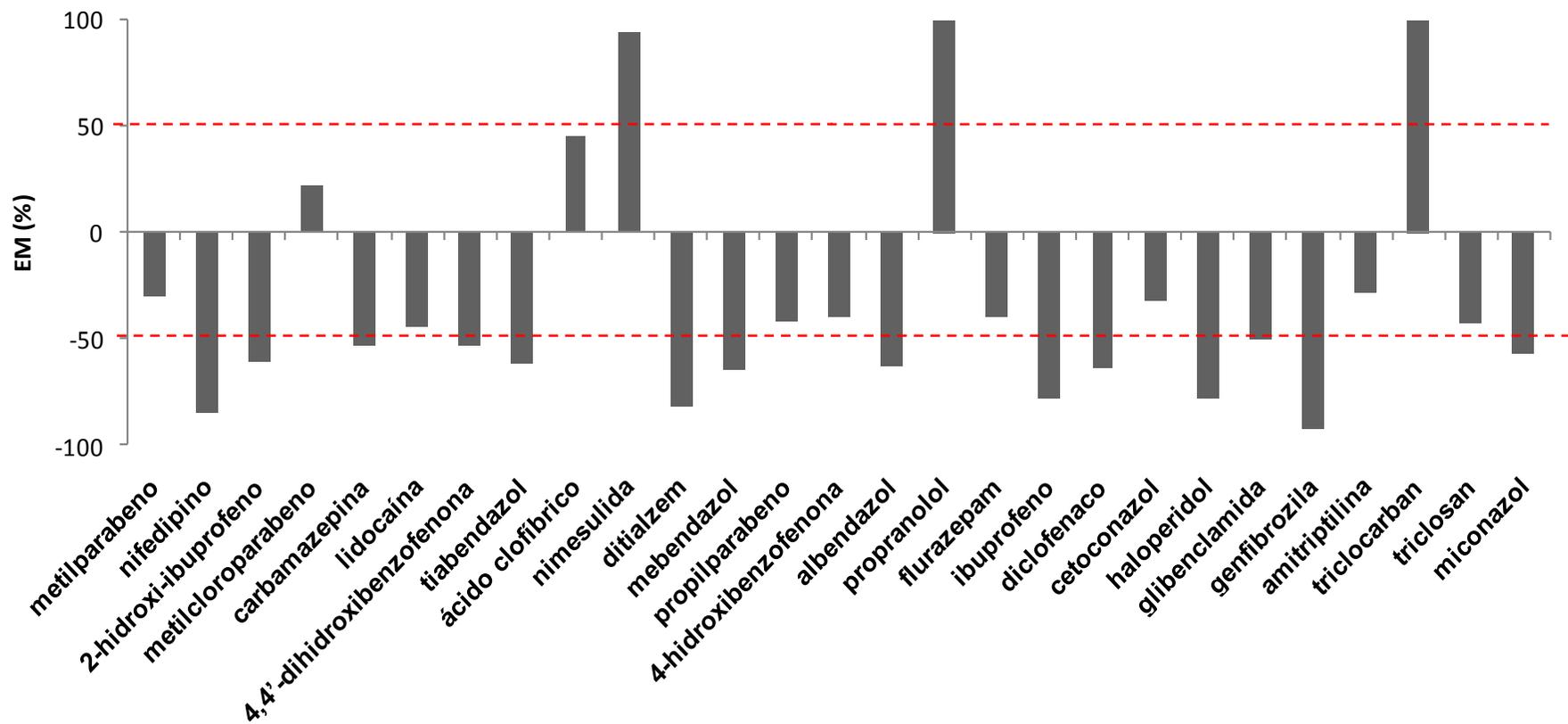
Tabela 12. Recuperação (R%) e precisão em termos de repetibilidade e precisão intermediária (RSD) para os compostos em estudo (n=9)

Analitos	Exatidão e repetibilidade						Precisão intermediária			
	1 LOQ		5 LOQ		10 LOQ		1 LOQ		5 LOQ	
	R(%)	RSD	R(%)	RSD	R(%)	RSD	R(%)	RSD	R(%)	RSD
metilparabeno	97	19	100	11	64	13	75	10	95	8
nifedipino	103	15	106	10	60	13	94	20	88	8
2-hidroxi-ibuprofeno	85	9	81	8	64	16	57	17	82	17
metilcloroparabeno	120	15	101	8	71	4	118	17	104	18
carbamazepina	102	6	102	7	94	7	101	6	102	4
lidocaína	94	10	96	6	90	6	88	11	102	10
4,4-dihidroxibenzofenona	96	14	86	9	62	14	77	14	86	6
tiabendazol	95	7	76	6	48	6	88	9	74	3
ácido clofíbrico	62	14	62	11	55	18	58	10	65	7
nimesulida	70	14	104	9	67	18	94	8	95	15
ditiazem	62	15	64	10	46	10	46	8	58	5
mebendazol	97	9	108	8	119	9	113	8	117	15
propilparabeno	106	11	88	8	65	5	72	14	94	9
4-hidroxibenzofenona	65	9	95	10	58	20	83	14	97	7
albendazol	119	20	89	5	86	3	80	4	115	18
propranolol	101	8	99	2	65	5	72	14	94	9
flurazepam	68	15	66	9	52	10	54	6	60	6
ibuprofeno	71	11	80	17	56	12	50	16	79	10
diclofenaco	81	17	68	6	52	10	68	13	66	9
cetoconazol	94	13	102	5	113	5	92	15	117	5
haloperidol	90	9	76	3	45	7	89	4	68	7
glibenclamida	93	10	96	14	82	13	112	7	93	6
genfibrozila	81	13	85	8	52	6	67	20	77	9
amitriptilina	106	8	102	3	122	6	96	14	115	3
triclocarban	104	4	112	6	98	4	107	4	95	2
triclosan	102	12	95	10	52	19	112	15	95	7
miconazol	105	7	105	5	120	2	102	7	112	3

5.4.4 Efeito matriz

O efeito matriz foi avaliado pela comparação da inclinação das curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato. Os analitos apresentaram efeito matriz distintos, sendo observado tanto supressão como enriquecimento. Conforme a Figura 14, o efeito matriz demonstrou ser médio e alto para os analitos, ou seja, superiores a $\pm 20\%$. Valores semelhantes de efeito matriz foram relatados por Li e colaboradores para diclofenaco, ibuprofeno, miconazol, carbamazepina, metilparabeno, triclosan e tiabendazol (LI *et al.*, 2016).

Figura 14. Efeito matriz



5.5 APLICABILIDADE DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE LODO

Após validado o método foi aplicado em amostras de lodo de ETE coletadas na Estação de Tratamento de Esgoto da CORSAN, localizada no Parque Marinha nos meses de fevereiro de 2016 (amostra 1), fevereiro (amostra 2) e abril de 2017 (amostra 3). Na Tabela 13 estão os resultados dos PPCPs detectados nas amostras. O padrão de recuperação atrazina-d5 foi adicionado nas amostras em uma concentração de 125 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Tabela 13. Resultados da aplicabilidade do método

PPCPs	Amostra 1 ($\mu\text{g kg}^{-1}$)*	Amostra 2 ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Amostra 3 ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
metilparabeno	n.d	n.d	n.d
nifedipino	n.d	n.d	n.d
2-hidroxi-ibuprofeno	n.d	n.d	n.d
metilcloroparabeno	n.d	n.d	n.d
carbamazepina	10,2 \pm 0,08	23,8 \pm 0,05	21,6 \pm 0,06
lidocaína	n.d	n.d	n.d
4,4'-dihidroxibenzofenona	n.d	n.d	n.d
tiabendazol	4,36 \pm 0,08	4,43 \pm 0,13	< 1,25
ácido clofíbrico	n.d	n.d	n.d
nimesulida	n.d	n.d	n.d
Ditiazem	n.d	n.d	n.d
mebendazol	54,8 \pm 0,04	50,8 \pm 0,13	76,3 \pm 0,08
propilparabeno	n.d	n.d	n.d
4-hidroxibenzofenona	n.d	n.d	n.d
albendazol	6,45 \pm 0,04	< 1,25	15 \pm 0,04
propranolol	64,8 \pm 0,08	61,2 \pm 0,03	94,3 \pm 0,03
flurazepam	n.d	n.d	n.d
ibuprofeno	n.d	n.d	n.d
diclofenaco	n.d.	60,6 \pm 0,16	< 25
cetoconazol	148 \pm 0,17	193 \pm 0,10	317 \pm 0,06
haloperidol	8,02 \pm 0,06	7,94 \pm 0,06	2,99 \pm 0,07
glibenclamida	n.d	n.d	n.d
genfibrozila	n.d	n.d	n.d
amitriptilina	< 2,5	< 2,5	< 2,5
triclocarban	1305 \pm 0,02	1604 \pm 0,16	565 \pm 0,06
triclosan	5466 \pm 0,16	3844 \pm 0,07	2086 \pm 0,14
miconazol	313 \pm 0,16	457 \pm 0,08	515 \pm 0,04
atrazina d5	109 \pm 0,16	92,0 \pm 0,06	72,8 \pm 0,06

*resultados expressos como média ($\mu\text{g kg}^{-1}$) \pm desvio padrão

n.d = não detectado

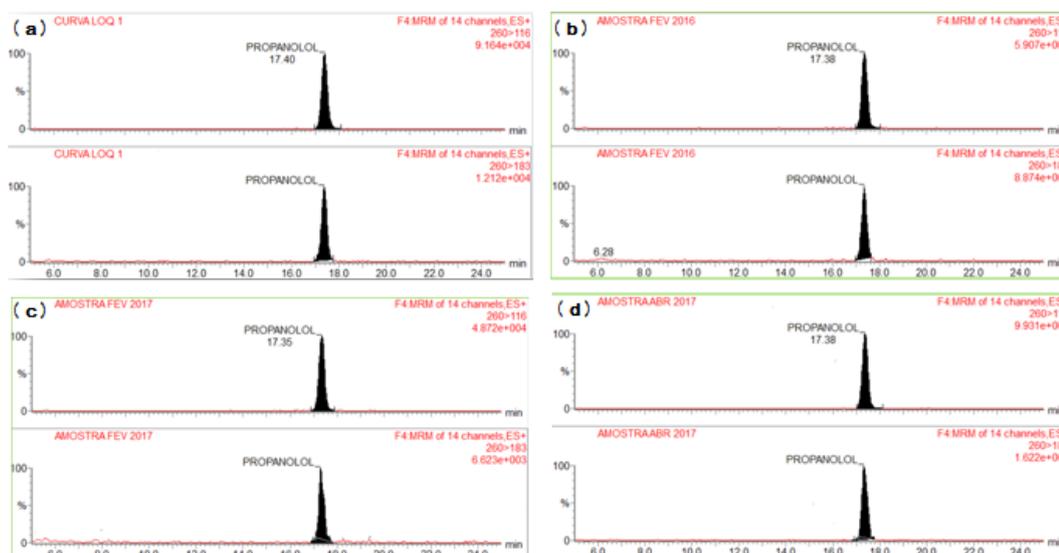
Carbamazepina, indicado para o tratamento de epilepsia, foi encontrada nas três amostras em concentrações entre 10,2 e 23,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Esse fármaco foi detectado na França em concentrações de 34 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (PEYSSON e VULLIET, 2013) e 39 $\mu\text{g kg}^{-1}$

(FERHI *et al.*, 2016). Na China concentrações de $2,4 \mu\text{g kg}^{-1}$ (YU *et al.*, 2011) e $1,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ (SUN *et al.*, 2016) foram encontradas.

Nas amostras foram encontrados os anti-helmínticos albendazol, mebendazol e tiabendazol, em concentrações que variaram de $4,36$ a $76,3 \mu\text{g kg}^{-1}$. Tiabendazol também foi encontrado em lodo de ETE na Índia, em uma concentração média de $3,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ (SUBEDI *et al.*, 2017) e na Espanha $7,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ (GARCÍA-VALCÁRCEL e TADEO, 2011). Estes princípios ativos são bastante consumidos na medicina humana e veterinária para o tratamento de diferentes parasitoses.

O anti-hipertensivo propranolol foi detectado nas três amostras em concentrações que variaram de $61,2$ a $94,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Figura 15). Na França concentrações entre 82 e $849 \mu\text{g kg}^{-1}$ foram detectadas (PEYSSON e VULLIET, 2013) e na Índia 46 e $54 \mu\text{g kg}^{-1}$ foi detectado (SUBEDI *et al.*, 2017).

Figura 15. Cromatogramas do fármaco propranolol: (a) padrão no extrato concentração $2,5 \mu\text{g kg}^{-1}$; (b) amostra 1; (c) amostra 2 e (d) amostra 3

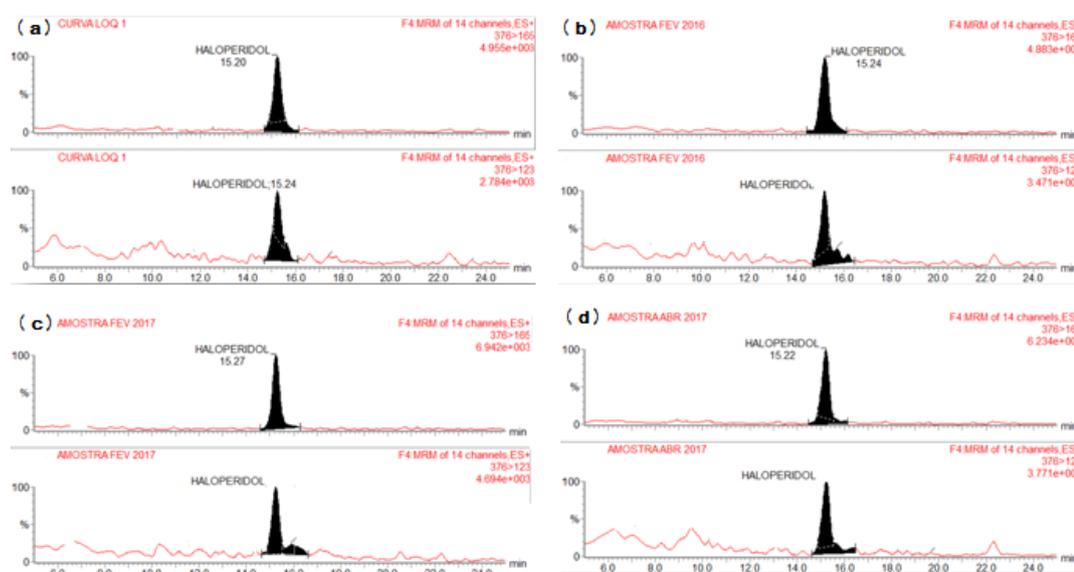


O anti-inflamatório diclofenaco foi encontrado nas amostras 2 e 3 em concentrações de $60,6$ e $25 \mu\text{g kg}^{-1}$. Este princípio ativo também vem sendo encontrados em lodos de ETE em uma concentração média de $140 \mu\text{g kg}^{-1}$ na França (FERHI *et al.*, 2016) e $24 \mu\text{g kg}^{-1}$ (PEYSSON e VULLIET, 2013). Na Espanha $238 \mu\text{g kg}^{-1}$ (ALBERO *et al.*, 2014), $7 \mu\text{g kg}^{-1}$ na China (SUN *et al.*, 2016). Estudos indicam a

toxicidade em peixes em concentrações de $5 \mu\text{g L}^{-1}$, causando lesões renais e alterações nas brânquias (SCHWAIGER *et al.*, 2004)

Haloperidol, um antipsicótico, foi detectado nas três amostras em concentrações que variaram de 2,99 a $8,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Figura 16).

Figura 16. Cromatogramas do fármaco haloperidol: (a) padrão no extrato concentração $1,25 \mu\text{g kg}^{-1}$; (b) amostra 1; (c) amostra 2 e (d) amostra 3



Amitriptilina, esteve presente nas três amostras analisadas em concentrações menores que $2,5 \mu\text{g kg}^{-1}$. Este antidepressivo foi detectado em lodo de ETE na Espanha uma concentração média de $36 \mu\text{g kg}^{-1}$ (ALBERO *et al.*, 2014) e na França $94 \mu\text{g kg}^{-1}$ (PEYSSON e VULLIET, 2013). Este princípio ativo é bastante consumo no Brasil, e esteve entre os cinco mais vendidos entres os anos de 2007 e 2010 (SNGPC, 2011).

Triclosan, um bactericida de largo espectro presente em produtos de cuidado pessoal (sabonetes, desodorantes e pastas dentífricas) e domésticos, utilizados também em produtos têxteis e plásticos, foi detectado nas três amostras. As concentrações variaram de 2086 a $5466 \mu\text{g kg}^{-1}$. Este composto foi encontrado na Espanha em uma concentração média de $1550 \mu\text{g kg}^{-1}$ (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2010) e $1520 \mu\text{g kg}^{-1}$ (SÁNCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2010). Na França foi detectado em uma concentração média de $824 \mu\text{g kg}^{-1}$ (PEYSSON e VULLIET, 2013) e $820 \mu\text{g kg}^{-1}$

(FERHI *et al.*, 2016). Triclosan foi detectado em lodo de ETE na China em uma concentração média de 693 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (YU *et al.*, 2011) e 470 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (SUN *et al.*, 2016) .

Assim como o triclosan, o triclocarban é um bactericida presente em produtos de cuidado pessoal e foi detectado nas três amostras em concentrações que variaram de 565 a 1604 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Na China foi detectado em concentrações de 2700 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (YU *et al.*, 2011) e 1700 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (SUN *et al.*, 2016). Na Índia uma concentração média de 11150 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (SUBEDI *et al.*, 2017).

Os antifúngicos cetoconazol e miconazol foram encontrados nas amostras em concentrações que variaram de 148 a 515 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Cetoconazol foi detectado em lodos de ETE na Espanha, em uma concentração média de 417 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (CASADO *et al.*, 2015) e 917 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (GARCÍA-VALCÁRCEL e TADEO, 2011). Miconazol foi detectado na Índia em uma concentração média de 240 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (SUBEDI *et al.*, 2017). Na China 120 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (SUN *et al.*, 2016), na Espanha 141 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (CASADO *et al.*, 2015) e na França 63 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (PEYSSON e VULLIET, 2013).

Pode-se observar que o elevado consumo destes princípios ativos e as concentrações detectadas são semelhantes às de outros países. Os resultados indicam a contaminação do lodo por PPCPs, deste modo a sua utilização como aditivos de solo deve ser adaptada com cuidado, uma vez que estes compostos podem ser acumulados nos tecidos vegetais das plantas, e podem ser lixiviados alcançando as águas subterrâneas e superficiais. Com isso, estudos a respeito do comportamento ambiental destas substâncias, quando o lodo é aplicado ao solo são importantes.

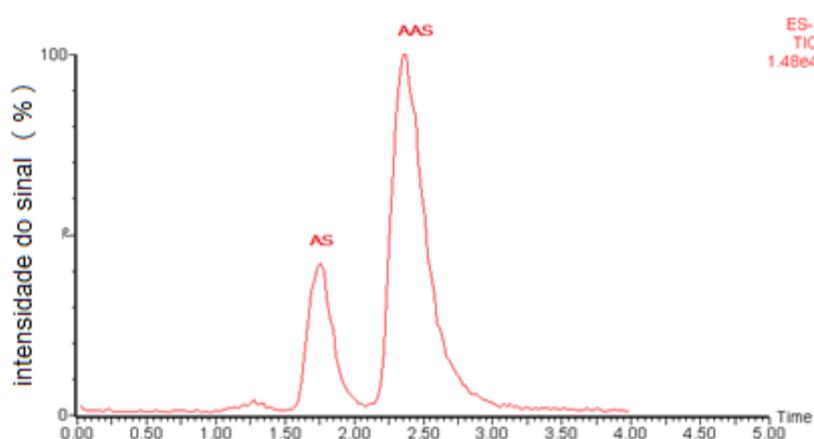
5.6 CONDIÇÕES DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE AAS E AS

Para este trabalho foi utilizada uma coluna analítica com fase estacionária composta por C8 (3,0 mm x 50 mm d.i., 2,6 μm) e testados diferentes composições de fase móvel. Acetonitrila e água ultrapura acidificada com 0,1% de ácido acético (30:70, v/v) foram selecionadas como fase móvel e vazão de 0,2 mL min^{-1} e um tempo total de análise de 4 minutos. Os analitos foram monitorados no modo negativo (ESI-). Na Tabela 14 são apresentados os parâmetros de detecção por LC-MS/MS e na Figura 17 o cromatograma de íons total de AAS e AS.

Tabela 14. Parâmetros otimizados para os compostos estudados por LC-MS/MS

PPCPs	Transição (m/z)	Voltagem do Cone (V)	Energia de Colisão (eV)
ácido acetilsalicílico	178,9>136,9 ^a	12	6
	178,9>92,8	12	20
ácido salicílico	136,9>92,8 ^a	20	20
	136,9>64,8	20	25

^a transição mais intensa, utilizada para quantificação do analito

Figura 17 . Cromatograma de íons total dos compostos em uma concentração de 0,1 mg L⁻¹

5.7 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DA AMOSTRA POR MSPD PARA EXTRAÇÃO DE AAS E AS

Levando em consideração as propriedades físico-químicas dos analitos, principalmente a solubilidade em água, a água foi selecionada previamente como solvente de extração nesta técnica.

Na literatura são encontrados trabalhos que empregaram a MSPD e o uso de água para extração antibióticos em tecidos bovinos (BOGIALLI *et al.*, 2007), leite bovino (BOGIALLI *et al.*, 2008) e ovos (BOGIALLI *et al.*, 2009). Nestes trabalhos os autores utilizaram água quente (100 °C). Métodos que empregaram água a temperatura ambiente como solvente extrator foram desenvolvidos para determinação de agrotóxicos em maçã (MORENO *et al.*, 2008) e para a análise de corantes sintéticos em pimenta em pó (CHEN *et al.*, 2015).

5.7.1 Avaliação do tipo de suporte sólido

Foi avaliado o uso de alumina, quitina, quitosana, areia e concha de mexilhão como suporte sólido, e também o próprio lodo atuando como suporte sólido. Para isso foram macerados, durante 5 minutos, 0,5 g da amostra junto com 2,0 g de suporte sólido. Após, a mistura foi transferida para um tubo de polipropileno de 15 mL onde foram adicionados 10 mL de água ultrapura. Foi realizada uma agitação em vórtex por 1 minuto e após uma etapa de centrifugação a 8000 rpm durante 5 minutos. O extrato foi filtrado em filtro de PVDF de 0,45 µm e 25 mm de diâmetro, e uma alíquota de 1 mL foi retirada para análise cromatográfica por LC-MS/MS.

Na Tabela 15 pode-se observar os resultados de recuperação para os suportes sólidos testados. Alumina neutra, C18, areia e concha de mexilhão apresentaram resultados de recuperação bastante satisfatórios entre 61 e 124% com RSD < 11%. Quitina e quitosana apresentaram valores de recuperação baixos entre 24 e 39% e RSD < 21%. Uma vez que quitosana possui grupamentos NH₂ e OH e os analitos em estudo também possuem grupamentos OH, estes podem interagir eletrostaticamente e através de ligações de hidrogênio com o suporte sólido (PENG *et al.*, 2016), justificando os baixos valores de recuperação obtidos.

Com o surgimento da Química Analítica Verde, novos métodos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de minimizar o consumo de reagentes e visando a utilização de materiais de baixo custo e obtidos a partir de fontes renováveis. Na literatura já são encontrados trabalhos que empregam suportes sólidos alternativos na MSPD, dentre eles pode-se citar quitosana utilizada na extração de compostos fenólicos em azeitonas com recuperações acima de 80% (PENG *et al.*, 2016). Areia foi utilizada como suporte sólido na MSPD para determinação de óleos essenciais em ervas, obtendo recuperações maiores que 95% (DAWIDOWICZ *et al.*, 2011). Casca de arroz para extração de aflatoxinas em cebola (CARVALHO *et al.*, 2012). A concha de mexilhão foi empregada para a determinação de agrotóxicos e PPCPs em tecidos de mexilhão dourado e resultados bastante satisfatórios com recuperações acima de 60% foram obtidos (ROMBALDI *et al.*, 2015).

No entanto, para a determinação de PPCPs em lodo de ETE somente terra diatomácea foi utilizada como suporte sólido alternativo. Casado e colaboradores

extraíram filtros solares (CASADO *et al.*, 2013) e González-Mariño e colaboradores determinaram triclosan e metiltriclosan (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2010).

Foi realizado um teste de Tukey para verificar se havia diferença significativa entre os resultados obtidos, e pode-se observar que para AAS, o emprego de quitina e quitosana apresentaram diferença significativa. Para AS não houve diferença significativa quando utilizado alumina, concha e areia como suporte sólido.

A concha de mexilhão foi selecionado como suporte sólido por apresentar resultados de recuperação satisfatórios e ser um material de baixo custo. Conforme a caracterização realizada por Rombaldi e colaboradores, a concha de mexilhão possui uma área superficial quatro vezes maior do que a areia (ROMBALDI *et al.*, 2015). Por outro lado, é cerca de 100 vezes menor que a área superficial do C18. Espera-se que quanto maior a área superficial, melhor o material, pois aumenta a interação na etapa de dispersão. Apesar disso, o desempenho da concha foi semelhante ao do C18. Vale ressaltar que o método mostrou-se robusto, uma vez que o uso de C18, concha e areia apresentaram resultados de recuperação satisfatórios e valores de efeito matriz semelhantes.

Tabela 15. Avaliação dos suportes sólidos

Suportes sólidos	AAS		AS	
	R(%) ± RSD	EM	R(%) ± RSD	EM
Alumina neutra	124 ^{a,b} ± 6	-71	61 ^b ± 6	29
C18	104 ^{a,b} ± 11	-42	99 ^a ± 16	61
concha	97 ^b ± 4	-53	72 ^b ± 4	23
areia	82 ^b ± 4	-53	70 ^b ± 7	-43
s/ suporte sólido	134 ^a ± 8	-47	103 ^a ± 10	62
quitina	24 ^c ± 21	-88	31 ^c ± 9	-54
quitosana	39 ^c ± 13	-81	27 ^c ± 11	-49

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

5.7.2 Avaliação da massa de suporte sólido

Após a seleção do solvente de extração e o suporte sólido, foram avaliadas diferentes proporções de massas de amostra e suporte sólido. As proporções 1:1, 1:2 e 1:4 foram avaliadas. Na Tabela 16 são apresentados os resultados e pode-se observar que utilizando a proporção 1:1 e 1:4 os valores de recuperação foram satisfatórios e não

apresentaram diferença significativa ($p \geq 0,05$), deste modo, com o objetivo de diminuir o consumo de reagentes e consequentemente a geração de resíduos, a proporção 1:1 foi a escolhida.

Tabela 16. Avaliação da proporção massa de amostra:suporte sólido

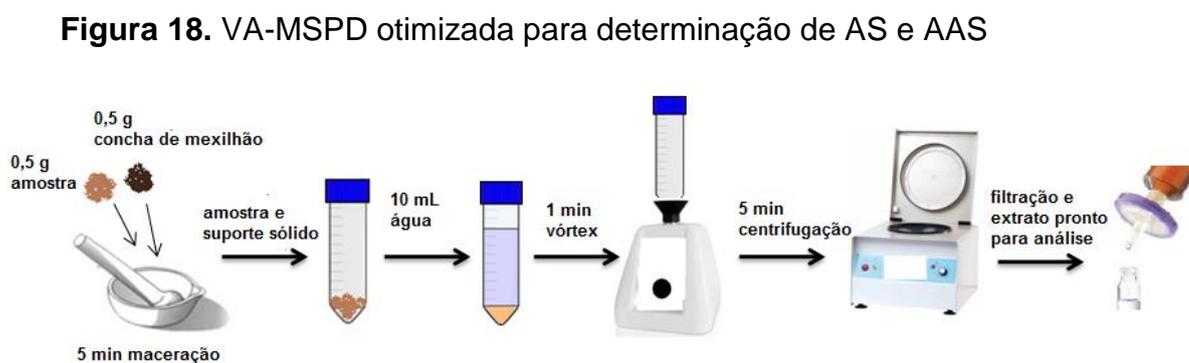
Proporção massa de amostra: suporte sólido (g)	AAS	AS
	R(%) \pm RSD	R(%) \pm RSD
1:1	104 ^b \pm 6	76 ^a \pm 4
1:2	132 ^a \pm 5	73 ^a \pm 2
1:4	96 ^b \pm 4	72 ^a \pm 4

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

5.7.3 VA-MSPD otimizada

A partir dos testes realizados e conforme os resultados apresentados, o procedimento de extração mais adequado para a extração e determinação de AAS e AS em lodo, está representado na Figura 18.

O método prevê uma etapa de maceração de 0,5 g de amostra e 0,5 g de concha de mexilhão, por 5 minutos em almofariz de vidro, seguida da extração dos analitos com 10 mL de água ultrapura seguida da agitação em vórtex por 1 minuto, e posterior etapa de centrifugação por 5 min a 8000 rpm. Após filtração, retirada do extrato para análise por LC-MS/MS.



5.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

5.8.1 Limites de detecção e quantificação

Os analitos apresentaram limites de detecção do instrumento (LOD_i) de 2 µg L⁻¹, limites de quantificação do instrumento (LOQ_i) de 5 µg L⁻¹, limites de detecção do método (LOD_m) de 40 µg kg⁻¹ e limites de quantificação do método (LOQ_m) de 100 µg kg⁻¹.

5.8.2 Curva analítica e linearidade

Os parâmetros de linearidade obtidos através de calibração por padronização externa e superposição da matriz para o método proposto estão apresentados na Tabela 17. Os coeficientes de correlação (r) foram maiores que 0,99, estando dentro da faixa recomendada pelo INMETRO (r >0,90) para todos os analitos na faixa de trabalho.

Tabela 17. Resultados obtidos para as curvas analíticas e faixa linear

	AS	AAS
Faixa linear (µg kg⁻¹)	100 - 20000	
Curva no solvente	y = 40868,9x + 49,9406	y = 18852,1x + 43,8303
r	0,9989	0,9959
Curva no extrato	y = 58734,2x + 542,449	y = 8388,93x + 43,3012
r	0,9959	0,9950

5.8.3 Exatidão e precisão

Assim como no método para determinação dos 27 PPCPs, a exatidão foi avaliada através de ensaios de recuperação em três níveis, nas concentrações correspondentes a 1 LOQ, 5 LOQ e 10 LOQ. A precisão do método foi avaliada em termos de repetibilidade (RSD) e precisão intermediária (RSD_{pi}) em três níveis para cada analito (1LOQ, 5 LOQ e 10 LOQ). Os valores de repetibilidade e de precisão intermediária (RSD_{pi}) estão apresentados na Tabela 18.

O método apresentou recuperações percentuais entre 68 e 120%, conforme apresentado na Tabela 18. A precisão do método foi expressa em RSD. O método demonstrou boa precisão uma vez que os valores de RSD foram menores do que 20% para a repetibilidade e precisão intermediária.

Seguindo-se a orientação para validação de métodos cromatográficos, no qual os valores de recuperação devem estar entre 70 e 120% com valores de RSD \leq 20% (SANTE, 2015) os resultados foram considerados satisfatórios. Com relação a precisão, valores menores e iguais a 20% foram obtidos.

Tabela 18. Recuperação (R%) e precisão em termos de repetibilidade (RSD) e precisão intermediária

	EXATIDÃO E REPETIBILIDADE						PRECISÃO INTERMEDIÁRIA					
	1 LOQ		5 LOQ		10 LOQ		1 LOQ		5 LOQ		10 LOQ	
	R(%)	RSD	R(%)	RSD	R(%)	RSD	R(%)	RSD	R(%)	RSD	R(%)	RSD
AS	99	20	89	16	97	8	96	11	97	4	111	5
AAS	92	15	119	20	69	6	68	20	120	2	120	6

5.8.4 Efeito matriz

O efeito matriz foi avaliado pela comparação da inclinação das curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato. O AS apresentou um efeito de matriz de 44%, já para o AAS, o efeito matriz foi -55%, que foi corrigido através do uso da curva por superposição da matriz.

5.9 APLICABILIDADE

Após validado o método foi aplicado em amostras de lodo de ETE coletadas na Estação de Tratamento de Esgoto da CORSAN, localizada no Parque Marinha nos meses de fevereiro de 2016 (amostra 1), fevereiro (amostra 2) e abril de 2017 (amostra 3). O AS foi detectado somente na amostra de fevereiro de 2016 em uma concentração menor do que $100 \mu\text{g kg}^{-1}$. No trabalho de Rossini e colaboradores (2016), este composto foi detectado em amostras de lodo de ETE em concentrações variando de 12 a $57 \mu\text{g kg}^{-1}$. No trabalho de Albero e colaboradores, o AS foi detectado em lodo de ETE em concentrações que variaram de 126 a $1111 \mu\text{g kg}^{-1}$ (ALBERO *et al.*, 2014).

5.10 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PROPOSTOS COM OUTROS MÉTODOS EMPREGADOS PARA EXTRAÇÃO DE PPCPS EM LODO DE ETE

Na Tabela 19, os métodos propostos neste trabalho são comparados com outras técnicas que vem sendo empregadas para extração de PPCPs de amostras de lodo com determinação por LC-MS/MS.

Pode-se observar que as técnicas propostas apresentam as vantagens de serem mais rápidas, com baixo custo, apresentando exatidão, precisão e efeito matriz semelhante ao que vem sendo encontrado quando se utiliza outras técnicas. Além disso, muitas destas outras técnicas têm no final da extração uma etapa de evaporação (não é apresentado na tabela) o que aumenta em mais uma etapa a extração e introduz erros, enquanto que as técnicas propostas ao final de sua extração, podem ser injetadas diretamente no sistema cromatográfico.

Tabela 19. Comparação dos métodos propostos com outros métodos

Técnica de extração	Analitos	massa de amostra	Solvente extrator (volume total)	Procedimento	Exatidão (%)	Precisão (%)	Faixa de LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	EM (%)	Referências
Ultrassom	20 PPCPs	0,1 g	acetoneitrila:água (5:3, v/v) 8 mL	Adição do solvente à amostra e agitação em vórtex por 2 min, e ultrassom por 15 min, centrifugação por 5 min. Retirada do solvente. Repetir a extração mais 2x. O extrato foi concentrado e diluído para posterior limpeza por SPE	63 - 119	<15	0,1 - 3	-21 a 76	(YU et al., 2011)
Ultrassom	16 azoles	1 g	Metanol 10 mL (2 alíquotas de 5 mL)	Adição do solvente à amostra em um cartucho e levado ao banho ultrassônico por 15 min. Após o solvente foi eluído em uma manifold e a realizado mais uma extração. Os extratos foram combinados e concentrados em um volume de 2 mL e adicionado 0,1 g de C18. Agitação por 1 min e separação das fases por 10 min	72 - 116	<20	2 - 16,5	-	(GARCÍA-VALCÁRCEL e TADEO, 2011)
QuEChERS	136 fármacos	2 g	EDTA 10 mM (10 mL) Acetonitrila + ácido acético (1%, v/v) (10 mL)	Adição dos solventes à amostra, entre cada adição foi realizada uma agitação em vórtex por 30 s. Adição dos sais 1,5 g NaOAc e 6 g MgSO ₄ , agitação manual por 15 s e em vórtex por 45 s. Centrifugação por 5 min, retirada de 9,5 mL do extrato para limpeza com 0,15 g PSA e 0,9 g MgSO ₄ , agitação manual por 10 s e em vórtex por 50 s. Centrifugação por 5 min, retirada de 8 mL do extrato e adição de 200 μL de DMSO.	4 - 135	<74	3 - 15000	-90 a 251	(PEYSSON e VULLIET, 2013)
MSPD	8 antimicóticos	0,5 g	Metanol:NH ₃ (5%,v/v) 10 mL	Amostra macerada com 2,0 g de C18 por 5 min, após empacotada em um cartucho contendo 1 g PSA. O cartucho foi conectado em outro cartucho de SPE contendo 0,5 g de SCX e os analitos eluídos	70 - 118	<14	5 - 8	9 -20	(CASADO et al., 2015)
VA-MSPD	27 PPCPs	2 g	Metanol 5 mL	Maceração da amostra por 5 min. Adição do solvente e agitação em vórtex por 1 min. Centrifugação por 5 min.	45 - 120	≤ 20	1,25 - 1250	-98 a 100	Método proposto
VA-MSPD	Ácido acetilsalicílico e salicílico	0,5 g	Água 10 mL	Maceração da amostra com 0,5 g de concha de mexilhão por 5 min. Adição do solvente e agitação em vórtex por 1 min. Centrifugação por 5 min e filtração do extrato	68 -120	≤ 20	100	-55 e 44	Método proposto

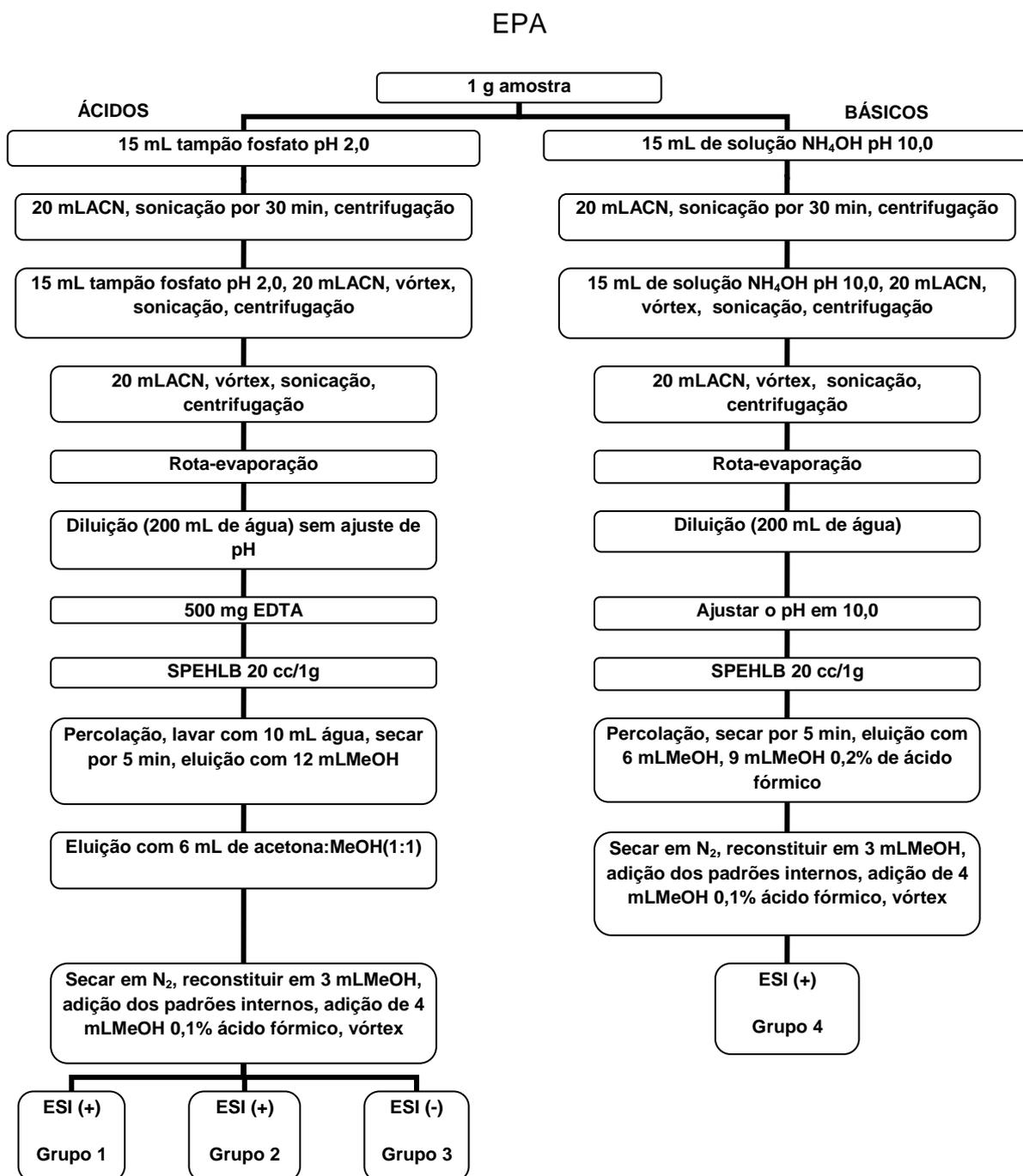
5.11 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PROPOSTOS COM O MÉTODO OFICIAL PARA EXTRAÇÃO DE PPCPS EM LODO DE ETE

O método oficial 1694, proposto pela US-EPA para extração de 60 PPCPs em solos, sedimentos e biosólidos, indica a separação da amostra em duas alíquotas, uma ácida e outra básica. A fração ácida é acidificada com HCl a pH 2 e a fração básica a pH 10 com NH₄OH. A técnica de preparo de amostra utilizada é a extração assistida por ultrassom, e as etapas de extração podem ser observadas no fluxograma da Figura 20 (ENGLERT, 2007).

No método 1694, os valores de recuperação dos PPCPs variaram de 23 a 360%, com RSD \leq 139%. Dos 60 analitos determinados no método oficial, oito são em comum com o método proposto, sendo eles carbamazepina, ditalzem, genfibrozila, ibuprofeno, miconazol, tiabendazol, triclocarban e triclosan.

Traçando uma comparação entre o método de referência e os propostos neste trabalho, verifica-se que é possível com a VA-MSPD a extração de classes semelhantes de PPCPs aos propostos pelo método de referência com as vantagens de utilizar um menor volume de solvente, menor tempo de extração, menor custo e menor número de etapas, menor gasto de energia, mantendo a eficiência de extração dentro dos valores aceitáveis.

Figura 20. Comparação das etapas com o método oficial 1694 proposto pela US-



Adaptado de (ENGLERT, 2007)

6. CONCLUSÕES

Os métodos propostos, empregando a VA-MSPD para a extração de PPCPs em lodo de ETE apresentaram valores dentro dos sugeridos pelos guias de validação para todas as figuras de mérito avaliadas, demonstrando exatidão (70-120%) e precisão (RSD<20%) aceitáveis e LOQs na faixa de $\mu\text{g kg}^{-1}$, de acordo com os limites encontrados na literatura. O estudo do efeito matriz indicou a necessidade da correção do mesmo, que neste caso foi realizado através da superposição da matriz.

O trabalho desenvolvido apresenta caráter inovador, uma vez que não foram relatados na literatura trabalhos que estudassem a técnica de VA-MSPD, baseada nos princípios da Química Analítica Verde, para extração de PPCPs em lodo de ETE.

Os métodos propõem modificações importantes como o não uso do suporte sólido, uma vez que a matriz lodo é rica em compostos inorgânicos e pode ser apenas macerada seguida de extração com solvente.

O fato da não utilização do suporte sólido, se torna uma vantagem, uma vez que um reagente foi eliminado, diminuindo custo e geração de resíduos. Outra grande vantagem na técnica empregando a VA-MSPD para a determinação dos ácidos acetilsalicílico e salicílico é a utilização da água, um solvente verde, barato e atóxico, como solvente de extração e o emprego de concha de mexilhão como suporte sólido. Além disso, o método apresentou robustez frente a diferentes suportes sólidos, demonstrando que tanto suportes sólidos clássicos como o C18, como alternativos como concha e areia podem ser empregados atingindo exatidão dentro da faixa aceitável.

Pela comparação com os métodos que empregam outras técnicas de preparo de amostra, a VA-MSPD demonstrou algumas vantagens, como facilidade, rapidez e baixo custo.

Durante a aplicabilidade dos métodos, foram detectados compostos em concentrações de $\mu\text{g kg}^{-1}$ que podem ser tóxicos ao meio ambiente, indicando que este lodo for descartado no ambiente sem nenhum tratamento prévio pode acarretar riscos à biota.

Enfim, os resultados comprovaram a hipótese de que a VA-MSPD considerando os preceitos da Química Analítica Verde, empregando solventes com menor toxicidade,

materiais de fontes alternativas e diminuição do consumo de reagentes pode ser utilizada para a extração de PPCPs em lodo de ETE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERO, B.; PÉREZ, R. A.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; TADEO, J. L. Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). **Journal of Hazardous Materials**, v. 239, p. 48-55, 2012. ISSN 0304-3894.

ALBERO, B.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I.; PÉREZ, R. A.; TADEO, J. L. Ultrasound-assisted extraction of emerging contaminants from environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 110-118, 2015. ISSN 0165-9936.

ALBERO, B.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; AZNAR, R.; TADEO, J. L. Determination of selected pharmaceutical compounds in biosolids by supported liquid extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1336, p. 52-58, 2014. ISSN 0021-9673.

ALBERO, B.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; PÉREZ, R. A.; TADEO, J. L. Analysis of natural-occurring and synthetic sexual hormones in sludge-amended soils by matrix solid-phase dispersion and isotope dilution gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1283, p. 39-45, 2013. ISSN 0021-9673.

ALPERT, A. J. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 499, p. 177-196, 1990. ISSN 0021-9673.

BARKER, S. A. Matrix solid-phase dispersion. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1, p. 115-127, 2000. ISSN 0021-9673.

BARKER, S. A.; LONG, A. R.; SHORT, C. R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. **Journal of Chromatography A**, v. 475, n. 2, p. 353-361, 1989. ISSN 0021-9673.

BARRON, L.; TOBIN, J.; PAULL, B. Multi-residue determination of pharmaceuticals in sludge and sludge enriched soils using pressurized liquid extraction, solid phase

extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 3, p. 353-361, 2008.

BESTER, K. Triclosan in a sewage treatment process—balances and monitoring data. **Water Research**, v. 37, n. 16, p. 3891-3896, 2003. ISSN 0043-1354.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. D. **Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura**. Embrapa Meio Ambiente Jaguariúna, Brazil, 2006. ISBN 8585771372.

BOGIALLI, S.; D'ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; INNOCENTI, G.; LAGANÀ, A.; PACCHIAROTTA, T. Monitoring quinolone antibacterial residues in bovine tissues: extraction with hot water and liquid chromatography coupled to a single-or triple-quadrupole mass spectrometer. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, n. 17, p. 2833-2842, 2007. ISSN 1097-0231.

BOGIALLI, S.; D'ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; LAGANÀ, A.; NICOLARDI, S. A simple and rapid assay based on hot water extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry for monitoring quinolone residues in bovine milk. **Food Chemistry**, v. 108, n. 1, p. 354-360, 2008. ISSN 0308-8146.

BOGIALLI, S.; D'ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; LAGANÀ, A.; TRAMONTANA, G. Simple assay for monitoring seven quinolone antibacterials in eggs: Extraction with hot water and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry: Laboratory validation in line with the European Union Commission Decision 657/2002/EC. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 5, p. 794-800, 2009. ISSN 0021-9673.

BOYD, G. R.; REEMTSMA, H.; GRIMM, D. A.; MITRA, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. **Science of the Total Environment**, v. 311, n. 1, p. 135-149, 2003. ISSN 0048-9697.

BRASIL. RESOLUÇÃO No 375 , DE 29 DE AGOSTO DE 2006 2006. Disponível em: < www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf >.

CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; DE MENEZES, E. J.; ESCARRONE, A. L. V.; MARTINS, C. D. M. G.; BIANCHINI, A.; PRIMEL, E. G. A vortex-assisted MSPD method for the extraction of pesticide residues from fish liver and crab hepatopancreas with determination by GC–MS. **Talanta**, v. 112, p. 63-68, 2013a. ISSN 0039-9140.

CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; GUILHERME, J. R.; SILVEIRA, M. A. K.; ESCARRONE, A. L. V.; PRIMEL, E. G. Determination of pharmaceuticals, personal

care products, and pesticides in surface and treated waters: method development and survey. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 8, p. 5855-5863, 2013b. ISSN 0944-1344.

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C.; CERQUEIRA, M. B. R.; SOARES, B. M.; PRIMEL, E. G. Avanços recentes da MSPD para extração de resíduos de agrotóxicos, PPCPs, compostos inorgânicos e organometálicos. **Scientia Chromatographica**, v. 5, p. 190-213, 2013c.

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C.; DE OLIVEIRA ARIAS, J. L.; MARUBE, L. C.; PRIMEL, E. G. Multi-residue method for determination of 58 pesticides, pharmaceuticals and personal care products in water using solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 146, p. 676-688, 2016. ISSN 0039-9140.

CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, C.; LAGANÀ, A.; PIOVESANA, S.; SAMPERI, R. Recent trends in matrix solid-phase dispersion. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 53-66, 2013. ISSN 0165-9936.

CARVALHO, M. G.; PAULA, A.; DOS SANTOS HACKBART, H. C.; MORAES DE SOUZA, M.; BADIALE-FURLONG, E. Emprego de casca de arroz como adsorvente para execução de técnica de MSPD para determinar aflatoxinas em cebolas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 4, p. 630-637, 2012. ISSN 0073-9855.

CASADO, J.; CASTRO, G.; RODRÍGUEZ, I.; RAMIL, M.; CELA, R. Selective extraction of antimycotic drugs from sludge samples using matrix solid-phase dispersion followed by on-line clean-up. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 3, p. 907-917, 2015. ISSN 1618-2642.

CASADO, J.; RODRÍGUEZ, I.; CARPINTEIRO, I.; RAMIL, M.; CELA, R. Gas chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry determination of benzotriazole ultraviolet stabilizers in sludge samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1293, p. 126-132, 2013. ISSN 0021-9673.

CELANO, R.; PICCINELLI, A. L.; CAMPONE, L.; RASTRELLI, L. Ultra-preconcentration and determination of selected pharmaceutical and personal care products in different water matrices by solid-phase extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction prior to ultra high pressure liquid chromatography tandem mass

spectrometry analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1355, p. 26-35, 2014. ISSN 0021-9673.

CERQUEIRA, M. B.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. New sorbent in the dispersive solid phase extraction step of quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe for the extraction of organic contaminants in drinking water treatment sludge. **Journal of Chromatography A**, v. 1336, p. 10-22, 2014a. ISSN 0021-9673.

CERQUEIRA, M. B.; GUILHERME, J. R.; CALDAS, S. S.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E. G. Evaluation of the QuEChERS method for the extraction of pharmaceuticals and personal care products from drinking-water treatment sludge with determination by UPLC-ESI-MS/MS. **Chemosphere**, v. 107, p. 74-82, 2014b. ISSN 0045-6535.

CHEMSPIDER. Disponível em: < www.chemspider.com/ >.

CHEN, J.-H.; ZHOU, G.-M.; QIN, H.-Y.; GAO, Y.; PENG, G.-L. Organic solvent-free matrix solid phase dispersion (MSPD) for determination of synthetic colorants in chilli powder by high-performance liquid chromatography (HPLC-UV). **Analytical Methods**, v. 7, n. 16, p. 6537-6544, 2015.

CHENXI, W.; SPONGBERG, A. L.; WITTER, J. D. Determination of the persistence of pharmaceuticals in biosolids using liquid-chromatography tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 73, n. 4, p. 511-518, 2008. ISSN 0045-6535.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, 2008. ISSN 0100-4042.

CITAC. **Guide to Quality in Analytical Chemistry: An aid to accreditation** 2002.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de cromatografia. In: (Ed.). **Fundamentos de cromatografia**: Unicamp, 2006.

DA SILVA, C. G. A.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H. CROMATOLOGRAFIA POR INTERAÇÕES HIDROFILICAS (HILIC): ESTADO DA ARTE E APLICAÇÕES. **Química Nova**, v. 39, n. 2, p. 210-220, 2016.

DAUGHTON, C. Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) as Environmental Pollutants: Pollution from Personal Actions. Presentation at California Bay-Delta Authority Contaminant Stressors Workshop, US Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV, 2004.

DAWIDOWICZ, A. L.; WIANOWSKA, D.; RADO, E. Matrix solid-phase dispersion with sand in chromatographic analysis of essential oils in herbs. **Phytochemical Analysis**, v. 22, n. 1, p. 51-58, 2011. ISSN 1099-1565.

DEJAEGHER, B.; VANDER HEYDEN, Y. HILIC methods in pharmaceutical analysis. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 6-7, p. 698-715, 2010. ISSN 1615-9314.

DORIVAL-GARCÍA, N.; ZAFRA-GÓMEZ, A.; CAMINO-SÁNCHEZ, F.; NAVALÓN, A.; VÍLCHEZ, J. Analysis of quinolone antibiotic derivatives in sewage sludge samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: Comparison of the efficiency of three extraction techniques. **Talanta**, v. 106, p. 104-118, 2013. ISSN 0039-9140.

DRUGBANK. Disponível em: < <https://www.drugbank.ca/> >.

DUARTE, F. A.; SOARES, B. M.; VIEIRA, A. A.; PEREIRA, E. R.; MACIEL, J. V.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Assessment of modified matrix solid-phase dispersion as sample preparation for the determination of CH₃Hg⁺ and Hg₂⁺ in fish. **Analytical Chemistry**, v. 85, n. 10, p. 5015-5022, 2013. ISSN 0003-2700.

ECONOMOU, A.; BOTITSI, H.; ANTONIOU, S.; TSIPI, D. Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 31, p. 5856-5867, 2009. ISSN 0021-9673.

ENGLERT, B. Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS. **US Environmental Protection Agency (EPA)**, p. 1-72, 2007.

EPA. Interpretive Assistance Document for Assessment of Discrete Organic Chemicals. 2013. Disponível em: < https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-05/documents/05-iad_discretes_june2013.pdf >.

ESCARRONE, A. L. V.; CALDAS, S. S.; SOARES, B. M.; MARTINS, S. E.; PRIMEL, E. G.; NERY, L. E. M. A vortex-assisted MSPD method for triclosan extraction from fish tissues with determination by LC-MS/MS. **Analytical Methods**, v. 6, n. 20, p. 8306-8313, 2014.

FENOLL, J.; HELLÍN, P.; MARTÍNEZ, C. M.; FLORES, P.; NAVARRO, S. Determination of 48 pesticides and their main metabolites in water samples by employing sonication and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 85, n. 2, p. 975-982, 2011. ISSN 0039-9140.

- FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, v. 76, n. 2, p. 122-159, 2006. ISSN 0166-445X.
- FERHI, S.; BOURDAT-DESCHAMPS, M.; DAUDIN, J.-J.; HOUOT, S.; NÉLIEU, S. Factors influencing the extraction of pharmaceuticals from sewage sludge and soil: an experimental design approach. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 22, p. 6153-6168, 2016. ISSN 1618-2642.
- FERNÁNDEZ-ALBA, A. **Chromatographic-mass spectrometric food analysis for trace determination of pesticide residues**. Amsterdam: Elsevier, 2005. ISBN 0444509437.
- FYTILI, D.; ZABANIOTOU, A. Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods—a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 12, n. 1, p. 116-140, 2008. ISSN 1364-0321.
- GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78-84, 2013. ISSN 0165-9936.
- GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I.; TADEO, J. L. Determination of azoles in sewage sludge from Spanish wastewater treatment plants by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v. 34, n. 11, p. 1228-1235, 2011. ISSN 1615-9314.
- GONZÁLEZ-MARIÑO, I.; RODRÍGUEZ, I.; QUINTANA, J.; CELA, R. Matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography-mass spectrometry for the determination of triclosan and methyl triclosan in sludge and sediments. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n. 5, p. 2289-2297, 2010. ISSN 1618-2642.
- HALLING-SØRENSEN, B.; NIELSEN, S. N.; LANZKY, P.; INGERSLEV, F.; LÜTZHØFT, H. H.; JØRGENSEN, S. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998. ISSN 0045-6535.
- HERTZOG, G. I.; SOARES, K. L.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Study of vortex-assisted MSPD and LC-MS/MS using alternative solid supports for pharmaceutical extraction from marketed fish. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 16, p. 4793-4803, 2015. ISSN 1618-2642.

INMETRO. **Orientação sobre Validação de métodos analíticos** Disponível em: < http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_04.pdf >.

Acesso em: 28 set. 2015. DOQ-CGCRE-008-Revisão 03–Fev. 2011

JØRGENSEN, S. E.; HALLING-SØRENSEN, B. **Drugs in the environment**: Pergamon 2000.

KAHSAY, G.; SONG, H.; VAN SCHEPDAEL, A.; CABOOTER, D.; ADAMS, E. Hydrophilic interaction chromatography (HILIC) in the analysis of antibiotics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 142-154, 2014. ISSN 0731-7085.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography a**, v. 1161, n. 1, p. 132-145, 2007. ISSN 0021-9673.

KŘESINOVÁ, Z.; LINHARTOVÁ, L.; PETRŮ, K.; KREJČOVÁ, L.; ŠRÉDLOVÁ, K.; LHOTSKÝ, O.; KAMENÍK, Z.; CAJTHAML, T. Method for analysis of psychopharmaceuticals in real industrial wastewater and groundwater with suspended organic particulate matter using solid phase extraction disks extraction and ultra-high performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1440, p. 15-22, 2016. ISSN 0021-9673.

KRISTENSON, E. M.; UDO, A. T.; RAMOS, L. Recent advances in matrix solid-phase dispersion. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 96-111, 2006. ISSN 0165-9936.

KRUBE, A.; KUNNAPAS, A.; HERODES, K.; LEITO, I. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1187, n. 1-2, p. 58-66, 2008. ISSN 0021-9673.

LANÇAS, F. M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009a.

_____. **Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE**. Campinas: Editora Átomo, 2009b. ISBN 978-85-7670-123-1.

LANÇAS, F. M. Cromatografia Líquida com Interação Hidrofílica (HILIC). **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 49-57, 2010.

- LI, M.; SUN, Q.; LI, Y.; LV, M.; LIN, L.; WU, Y.; ASHFAQ, M.; YU, C.-P. Simultaneous analysis of 45 pharmaceuticals and personal care products in sludge by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 18, p. 4953-4964, 2016. ISSN 1618-2642.
- MANDARIC, L.; DIAMANTINI, E.; STELLA, E.; CANO-PAOLI, K.; VALLE-SISTAC, J.; MOLINS-DELGADO, D.; BELLIN, A.; CHIOGNA, G.; MAJONE, B.; DIAZ-CRUZ, M. S. Contamination sources and distribution patterns of pharmaceuticals and personal care products in Alpine rivers strongly affected by tourism. **Science of The Total Environment**, v. 590, p. 484-494, 2017. ISSN 0048-9697.
- MARUBE, L. C.; CALDAS, S. S.; SOARES, K. L.; PRIMEL, E. G. Dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of floating organic droplets for simultaneous extraction of pesticides, pharmaceuticals and personal care products. **Microchimica Acta**, v. 182, n. 9-10, p. 1765-1774, 2015. ISSN 0026-3672.
- MATUSZEWSKI, B.; CONSTANZER, M.; CHAVEZ-ENG, C. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 13, p. 3019-3030, 2003. ISSN 0003-2700.
- MOHAMED, H. M. Green, environment-friendly, analytical tools give insights in pharmaceuticals and cosmetics analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 66, p. 176-192, 2015. ISSN 0165-9936.
- MONTES, R.; RODRÍGUEZ, I.; CASADO, J.; LÓPEZ-SABATER, M.; CELA, R. Determination of the cardiac drug amiodarone and its N-desethyl metabolite in sludge samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1394, p. 62-70, 2015. ISSN 0021-9673.
- MORENO, M.; BERMEJO, E.; SÁNCHEZ, A.; CHICHARRO, M.; ZAPARDIEL, A. Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of amitrole and urazole residues in apples by capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 391, n. 3, p. 867-872, 2008. ISSN 1618-2642.
- NGUYEN, H. P.; SCHUG, K. A. The advantages of ESI-MS detection in conjunction with HILIC mode separations: Fundamentals and applications. **Journal of Separation Science**, v. 31, n. 9, p. 1465-1480, 2008. ISSN 1615-9314.
- PAMREDDY, A.; HIDALGO, M.; HAVEL, J.; SALVADÓ, V. Determination of antibiotics (tetracyclines and sulfonamides) in biosolids by pressurized liquid extraction and liquid

chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1298, p. 68-75, 2013. ISSN 0021-9673.

PENA, M. T.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C.; CELA, R. Development of a matrix solid-phase dispersion method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 626, n. 2, p. 155-165, 2008. ISSN 0003-2670.

PENG, L.-Q.; LI, Q.; CHANG, Y.-X.; AN, M.; YANG, R.; TAN, Z.; HAO, J.; CAO, J.; XU, J.-J.; HU, S.-S. Determination of natural phenols in olive fruits by chitosan assisted matrix solid-phase dispersion microextraction and ultrahigh performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1456, p. 68-76, 2016. ISSN 0021-9673.

PERS-RS. PLANO ESTADUAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS DO RIO GRANDE DO SUL 2015 - 2034. 2015. Disponível em: < www.pers.rs.gov.br/noticias/arq/ENGB-SEMA-PERS-RS-40-Final.pdf >.

PETRIE, B.; YODAN, J.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Multi-residue analysis of 90 emerging contaminants in liquid and solid environmental matrices by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1431, p. 64-78, 2016. ISSN 0021-9673.

PEYSSON, W.; VULLIET, E. Determination of 136 pharmaceuticals and hormones in sewage sludge using quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction followed by analysis with liquid chromatography–time-of-flight-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1290, p. 46-61, 2013. ISSN 0021-9673.

PNSB. Pesquisa nacional de saneamento básico : 2008 / IBGE, Coordenação de População e Indicadores Sociais. 2008. Disponível em: < <http://biblioteca.ibge.gov.br/pt/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=245351> >.

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS–Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620-1634, 2009.

PUBCHEM. Disponível em: < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi> >.

RADJENOVIĆ, J.; JELIĆ, A.; PETROVIĆ, M.; BARCELÓ, D. Determination of pharmaceuticals in sewage sludge by pressurized liquid extraction (PLE) coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 6-7, p. 1685-1695, 2009. ISSN 1618-2642.

RODRIGUES, S. A.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. A simple; efficient and environmentally friendly method for the extraction of pesticides from onion by matrix solid-phase dispersion with liquid chromatography-tandem mass spectrometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 678, n. 1, p. 82-89, 2010. ISSN 0003-2670.

ROMBALDI, C.; DE OLIVEIRA ARIAS, J. L.; HERTZOG, G. I.; CALDAS, S. S.; VIEIRA, J. P.; PRIMEL, E. G. New environmentally friendly MSPD solid support based on golden mussel shell: characterization and application for extraction of organic contaminants from mussel tissue. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 16, p. 4805-4814, 2015. ISSN 1618-2642.

ROSSINI, D.; CIOFI, L.; ANCILLOTTI, C.; CHECCHINI, L.; BRUZZONITI, M.; RIVOIRA, L.; FIBBI, D.; ORLANDINI, S.; DEL BUBBA, M. Innovative combination of QuEChERS extraction with on-line solid-phase extract purification and pre-concentration, followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs and their metabolites in sewage sludge. **Analytica Chimica Acta**, v. 935, p. 269-281, 2016. ISSN 0003-2670.

SALVIA, M.-V.; FIEU, M.; VULLIET, E. Determination of tetracycline and fluoroquinolone antibiotics at trace levels in sludge and soil. **Applied and Environmental Soil Science**, v. 2015, 2015. ISSN 1687-7667.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; TADEO, J. L. Determination of organochlorine pesticides in sewage sludge by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1211-1217, 2008. ISSN 0039-9140.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; ALBERO, B.; TADEO, J. L. Determination of triclosan and methyl triclosan in environmental solid samples by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 17-18, p. 2768-2775, 2010. ISSN 1615-9314.

SANTE. **Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed.** Disponível em

<http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf>.

SCHWAIGER, J.; FERLING, H.; MALLOW, U.; WINTERMAYR, H.; NEGELE, R. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v. 68, n. 2, p. 141-150, 2004. ISSN 0166-445X.

SILVEIRA, M. A. K.; CALDAS, S. S.; GUILHERME, J. R.; COSTA, F. P.; GUIMARÃES, B. D. S.; CERQUEIRA, M. B.; SOARES, B. M.; PRIMEL, E. G. Quantification of pharmaceuticals and personal care product residues in surface and drinking water samples by SPE and LC-ESI-MS/MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 9, p. 1385-1395, 2013. ISSN 0103-5053.

SNGPC. PANORAMA DOS DADOS DO SISTEMA NACIONAL DE GERENCIAMENTO DE PRODUTOS CONTROLADOS: UM SISTEMA PARA O MONITORAMENTO DE MEDICAMENTOS NO BRASIL. 2011. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/sngpc/boletins/2011/boletim_sngpc_2edatualizada.pdf>.

SOARES, K. L.; CERQUEIRA, M. R. B.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Evaluation of alternative environmentally friendly matrix solid phase dispersion solid supports for the simultaneous extraction of 15 pesticides of different chemical classes from drinking water treatment sludge. **Chemosphere**, 2017. ISSN 0045-6535.

SODRÉ, F.; MONTAGNER, C.; LOCATELLI, M.; JARDIM, W. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology** v. 2, n. 2, p. 187-196, 2007.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R.-D.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1, p. 135-141, 1999. ISSN 0048-9697.

SUBEDI, B.; BALAKRISHNA, K.; JOSHUA, D. I.; KANNAN, K. Mass loading and removal of pharmaceuticals and personal care products including psychoactives, antihypertensives, and antibiotics in two sewage treatment plants in southern India. **Chemosphere**, v. 167, p. 429-437, 2017. ISSN 0045-6535.

SUN, Q.; LI, M.; MA, C.; CHEN, X.; XIE, X.; YU, C.-P. Seasonal and spatial variations of PPCP occurrence, removal and mass loading in three wastewater treatment plants

located in different urbanization areas in Xiamen, China. **Environmental Pollution**, v. 208, p. 371-381, 2016. ISSN 0269-7491.

TOBISZEWSKI, M.; MECHLIŃSKA, A.; ZYGMUNT, B.; NAMIEŚNIK, J. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 8, p. 943-951, 2009. ISSN 0165-9936.

TRAN, N. H.; HU, J.; ONG, S. L. Simultaneous determination of PPCPs, EDCs, and artificial sweeteners in environmental water samples using a single-step SPE coupled with HPLC–MS/MS and isotope dilution. **Talanta**, v. 113, p. 82-92, 2013a. ISSN 0039-9140.

TRIÑANES, S.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C.; CELA, R. Matrix solid-phase dispersion followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of selective cicloxygenase-2 inhibitors in sewage sludge samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1462, p. 35-43, 2016. ISSN 0021-9673.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F.; RIEDO, C. R. F. Análise quantitativa por cromatografia. 2006. Disponível em: <
http://www.chemkeys.com/bra/md/mds_11/aqpc_5/extras/ancrom-vf.pdf >.

VAZQUEZ-ROIG, P.; BLASCO, C.; PICÓ, Y. Advances in the analysis of legal and illegal drugs in the aquatic environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 65-77, 2013. ISSN 0165-9936.

VÉKEY, K. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 921, n. 2, p. 227-236, 2001. ISSN 0021-9673.

VOSOUGH, M.; ONILGHI, M. N.; SALEMI, A. Optimization of matrix solid-phase dispersion coupled with high performance liquid chromatography for determination of selected antibiotics in municipal sewage sludge. **Analytical Methods**, v. 8, n. 24, p. 4853-4860, 2016.

WU, S.-F.; DING, W.-H. Fast determination of synthetic polycyclic musks in sewage sludge and sediments by microwave-assisted headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 17, p. 2776-2781, 2010. ISSN 0021-9673.

YU, Y.; HUANG, Q.; CUI, J.; ZHANG, K.; TANG, C.; PENG, X. Determination of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in sewage sludge by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass

spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 2, p. 891-902, 2011. ISSN 1618-2642.

YU, Y.; WU, L. Analysis of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, v. 89, p. 258-263, 2012. ISSN 0039-9140.

YUAN, Q.; LIAO, Z.; WANG, F.; ZHANG, H.; GUO, Y.; LI, R. A Rapid HILIC Method for Analysis of Diazepam and Estazolam in Human Plasma. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 36, n. 7, p. 958-967, 2013. ISSN 1082-6076.